

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

INFLUÊNCIA DAS ALTERAÇÕES TESTICULARES
DIAGNOSTICADAS PELA HISTOPATOLOGIA SOBRE AS
CARACTERÍSTICAS BIOMÉTRICAS, MORFOMÉTRICAS E
SEMINAIS EM TOUROS DA RAÇA NELORE

PAULO FELIPE IZIQUE GOIOZO

Botucatu – SP

2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

INFLUÊNCIA DAS ALTERAÇÕES TESTICULARES
DIAGNOSTICADAS PELA HISTOPATOLOGIA SOBRE AS
CARACTERÍSTICAS BIOMÉTRICAS, MORFOMÉTRICAS E
SEMINAIS EM TOUROS DA RAÇA NELORE

PAULO FELIPE IZIQUE GOIOZO

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para obtenção do
título de MESTRE em Patologia
Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Enio Pedone
Bandarra

Co-Orientador: Dr. Pedro Paulo Pires

BOTUCATU - SP

2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Goiozo, Paulo Felipe Izique.

Influência das alterações testiculares diagnosticadas pela histopatologia sobre as características biométricas, morfométricas e seminais em touros da raça nelore / Paulo Felipe Izique Goiozo. – Botucatu : [s.n.], 2008.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2008.

Orientador: Prof. Dr. Enio Pedone Bandarra

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Paulo Pires

Assunto CAPES: 50503006

1. Patologia animal. 2. Nelore (Zebu). 3. Biometria.

CDD 636.089607

Palavras chave: Alterações histopatológicas; Biometria; Bovino; Morfometria; Nelore; Perfil seminal.

PAULO FELIPE IZIQUE GOIOZO

**INFLUENCIA DAS ALTERAÇÕES TESTICULARES
DIAGNOSTICADAS PELA HISTOPATOLOGIA SOBRE AS
CARACTERÍSTICAS BIOMÉTRICAS, MORFOMÉTRICAS E
SEMINAIS EM TOUROS DA RAÇA NELORE**

Banca Examinadora:

Dr. Pedro Paulo Pires

(Embrapa Gado de Corte – Campo Grande - MS)

Prof. Dr. Raimundo Souza Lopes

(FMVZ – UNESP Campus de Botucatu – SP)

Prof. Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes

(ULMS – Campo Grande - MS)

Botucatu, 22 de junho de 2008

Aos meus pais

José Paulo Goiozo e Sagramor de Fátima Izique Goiozo,

Pelo amor, atenção, dedicação, amizade, compreensão, exemplo de vida, apoio e incentivo que concederam a mim, sem esperar nada em troca.

À minha esposa

Ângela da Silva Freitas Goiozo

Pela compreensão, amor, carinho, amizade e companheirismo.

Aos meus Filhos

Isabella da Silva Freitas e Paulo Felipe Izique Goiozo Filho

Vocês mostram o verdadeiro sentido da vida.

Aos meus irmãos

Guilherme Izique Goiozo, Leonardo Izique Goiozo e Luiz Eduardo Izique Goiozo

Pela amizade e cumplicidade

Aos Grandes e verdadeiros mestres

Dr. Enio Pedone Bandarra e Dr. Pedro Paulo Pires

Pelo exemplo de vida, caráter, amizade e apoio inquestionável dedicado a mim.

DEDICO ESTE TRABALHO

Agradecimentos

A **Deus**, pois tudo posso naquele que me fortalece;

Aos meus pais **José Paulo Goiozo e Sagramor de Fátima Izique Goiozo**, por todo carinho, dedicação, incentivo e apoio na minha formação;

Aos grandes mestres **Dr. Enio Pedone Bandarra e Dr. Pedro Paulo Pires**, pela intensa contribuição na minha formação, exemplo de profissionalismo, amizade e oportunidades que concederam a mim.

À **Embrapa Gado de Corte**, por ter cedido os animais e as condições para execução deste trabalho, em especial aos Chefes **Dr. Kepler Euclides Filho, Dr. Geraldo Ramos de Figueiredo e Dr. Cleber Oliveira Soares**.

À **Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul** pelo suporte financeiro (Processo número: 41/100.116/2005).

À **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ – UNESP, campus de Botucatu – SP**, por possibilitar minha formação.

Aos grandes amigos **Dr. Alberto Gomes e Adalizia Gomes (Dudinha)**, por terem me acolhido quando cheguei à Embrapa Gado de Corte e pelo imensurável apoio neste trabalho.

Aos funcionários da Embrapa Gado de Corte **Ary da Silva Charrão, Saturnino de Assunção Pinto e Sebastião de Almeida da Fonseca**, pelo apoio nas coletas de material.

Ao **Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes** e a pesquisadora **Thaís Basso do Amaral**, pela ajuda na execução em todas as partes deste trabalho.

Aos amigos que de certa forma me ajudaram na execução deste trabalho, **Alexandra Oliveira (Álex), Marcelo Fontes Pereira (Mineiro), Silvia Cieslak, Mauro Tenório Gliglio, Leonardo Fontes Pereira (Leléo), Leizinara Gonçalves Lopes (Nara) e Marcel Lekevicius Costardi**.

À **Dra. Helena Metifogo**, pelo auxílio no exame bacteriológico.

À seção de Pós-Graduação da FMVZ – UNESP – campus de Botucatu – SP, em especial, as funcionárias **Denise A. Fioravante e Maria A. Manuel**, pela atenção.

***“Eu quase nada sei, mas
desconfio de muita coisa”
João Guimarães Rosa***

LISTA DE TABELAS

TABELA 1:	Classificação touros jovens (NELORE) criados a pasto, baseado no perímetro escrotal.	08
TABELA 2.	Freqüência das alterações testiculares observadas por análises histopatológicas em touros da raça Nelore (n=56)	29
TABELA 3.	Freqüência dos agentes microbianos isolados em Agar sangue ovino 5% a partir de amostras de testículos de touros da raça Nelore (n=15)	29
TABELA 4.	Médias (\pm erro padrão) das características seminais nos diferentes grupos (Norm = testículos normais; Hip = hipoplasia testicular; Deg = degeneração testicular; Orq = orquite inespecífica e OrqBac = orquite bacteriana) na primeira coleta.	34
TABELA 5.	Médias (\pm erro padrão) das características seminais nos diferentes grupos (Norm = testículos normais; Hip = hipoplasia testicular; Deg = degeneração testicular; Orq = orquite inespecífica e OrqBac = orquite bacteriana) na segunda coleta.	35
TABELA 6.	Médias (\pm erro padrão) das características seminais nos diferentes grupos (Norm = testículos normais; Hip = hipoplasia testicular; Deg = degeneração testicular; Orq = orquite inespecífica e OrqBac = orquite bacteriana) na terceira coleta.	35
TABELA 7.	Freqüências (N/%) de animais classificados como aptos e inaptos para reprodução.	36

TABELA 8.	Médias ordenadas (\pm erro padrão) da classificação dos animais em aptos ou inaptos para reprodução.	36
TABELA 9.	Médias (\pm desvio padrão) das mensurações testiculares nos diferentes grupos (Norm = testículos normais; Hip = hipoplasia testicular; Deg = degeneração testicular; Orq = orquite inespecífica e OrqBac = orquite bacteriana).	37
TABELA 10.	Médias (\pm erro padrão) dos percentuais dos componentes teciduais dos testículos diferentes grupos (Norm = testículos normais; Hip = hipoplasia testicular; Deg = degeneração testicular; Orq = orquite inespecífica e OrqBac = orquite bacteriana).	38

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1:	Mensuração do perímetro escrotal com auxílio de fita métrica	22
FIGURA 2:	(A). Mensuração do comprimento testicular (CP); (B) Mensuração da largura testicular (LG).	23
FIGURA 3:	Semeadura em Agar sangue ovino 5%.	24
FIGURA 4:	Cultura em Agar sangue ovino 5%, nota-se crescimento bacteriano em três quadrantes. Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.	30
FIGURA 5:	Fotomicrografia testicular. Túbulo seminífero normal com espermatozoides na luz tubular, HE, 400 x. Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.	30
FIGURA 6.	Fotomicrografia testicular. Orquite bacteriana. Notam-se infiltrado inflamatório mononuclear intratubular. (HE, 400 x). Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.	31
FIGURA 7.	Representação gráfica (% n) da orquite bacteriana em relação ao testículo acometido. Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.	31
FIGURA 8.	Fotomicrografia testicular. Degeneração Testicular. Notam-se irregularidade no contorno tubular, diminuição do epitélio germinativo e ausência de espermatozoides. (HE, 200 x). Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.	32

- FIGURA 9:** Fotomicrografia testicular. Orquite inespecífica. Notam-se a presença de células mononucleares e edema intersticial, além de processo degenerativo das espermatogônias. (HE, 400 x). Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006. 32
- FIGURA 10.** Fotomicrografia testicular. Hipoplasia testicular discreta. Nota-se o espessamento da membrana basal, predominância de células de Sertoli e raras espermatogônias. (HE 400 x). Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006. 33
- FIGURA 11.** Fotomicrografia de esfregaço de sêmen. (a) Fragmentação nuclear; (b) Defeito de cabeça com base estreita (piriforme) e gota citoplasmática proximal; (c) Defeito de acrossomo, contorno anormal. (Coloração de *Feulgen* 1000x). 36

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	01
ABSTRACT	02
1. INTRODUÇÃO	03
2. REVISÃO DE LITERATURA	05
2.1 Morfologia Testicular	05
2.2 Biometria Testicular	07
2.3 Morfometria Testicular	09
2.4 Características Seminais	10
2.5 Alterações Testiculares.....	11
3. OBJETIVOS	19
4. MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 Animais	20
4.2 Exame Andrológico.....	21
4.3 Avaliação Biométrica	22
4.4 Coleta e Processamento do Material para Análises	23
4.4.1 Exame Bacteriológico	23
4.4.2 Confeção de Laminas Histológicas.....	24
4.5 Critérios de Classificação das Alterações.....	25
4.5.1 Hipoplasia Testicular	25
4.5.2 Degeneração Testicular.....	25
4.5.3 Orquite.....	25
4.6 Avaliação Morfométrica	26
4.7 Análises Estatísticas	26
5. RESULTADOS	28
5.1 Alterações Testiculares.....	28
5.2 Características Seminais	33
5.3 Avaliação Biométrica	37
5.4 Avaliação Morfométrica	37
6. DISCUSSÃO	39
5.1 Alterações Testiculares.....	39

5.2 Características Seminais	41
5.3 Avaliação Biométrica	44
5.4 Avaliação Morfométrica	45
7. CONCLUSÕES	47
8. BIBLIOGRAFIA	48
TRABALHO CIENTÍFICO	57

GOIOZO, P.F.I. **Influencia das alterações testiculares diagnosticadas pela histopatologia sobre as características biométricas, morfométricas e seminais em touros da raça Nelore**. Botucatu, 2008. 67p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

RESUMO:

O presente estudo objetivou avaliar a influencia de afecções testiculares sobre as características biométricas, morfométricas e seminais em touros. Utilizou-se 56 touros da raça Nelore, pesando entre 420 e 600 kg e com idade entre 30 e 40 meses. A mensuração do perímetro escrotal e amostras de sêmen foram coletadas em três períodos com intervalos de 15 dias, e o espermograma foi realizado por métodos convencionais e coloração de *Feulgen* para estimativa dos percentuais de fragmentação nuclear. Os animais foram orquiectomizados e fragmentos de testículos foram submetidos a análises bacteriológicas, histopatológicas e morfométricas. Dentre os animais avaliados, 14 não apresentaram alterações testiculares, 15 orquite bacteriana, 10 degeneração, 10 orquite inespecífica e 7 hipoplasia testicular. As médias do perímetro escrotal não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Os resultados das análises seminais mostraram que a motilidade em animais normais é superior aos animais com orquite inespecífica e estatisticamente semelhante aos demais grupos. Quanto ao percentual de espermatozóides normais, animais normais e animais com hipoplasia testicular, apresentaram percentuais superiores aos demais grupos. Os defeitos de cabeça espermática e fragmentação nuclear de animais com orquite inespecífica foram superiores aos animais com testículos normais e hipoplásicos, e semelhantes os outros grupos. Animais com orquite inespecífica apresentaram área de epitélio seminífero inferior aos demais grupos e área de células de Leydig superior aos animais com testículos normais. Os touros avaliados mostraram um alto índice de alterações testiculares e um alto percentual de animais inaptos para reprodução. A biometria testicular não permitiu o diagnóstico das afecções testiculares.

GOIOZO, P.F.I. **Influence of the testis changes diagnosed by histopathology about biometrics, morphometrics and seminal characteristics in Nelore Bulls.** Botucatu, 2008. 67p. Dissertation (Master Science) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

ABSTRACT:

The present study aimed at to evaluate the testis changes influences about biometrics, morphometrics and seminal characteristics in bulls. Fifty six Nelore bulls, weighing between 420 and 600 kg and with age between 30 and 40 months were used. The scrotal perimeter measurement and semen samples were collected in three periods with intervals of 15 days, and the spermogrammes were evaluated by conventional methods and by Fielgen stain for nuclear fragmentation evaluate. The animals were orchiectomized and testis fragments were submitted to bacteriological, histopathologicals and morphometrical analyses. Among the evaluated animals, 14 don't showed testis changes, 15 bacterial orchitis, 10 testicular degeneration, 10 unspecific orchitis and e 7 testicular hipoplasia. The scrotal perimeter averages didn't showed significant differences between groups. The results of the seminal analyses showed that the mobility in normal animals, it is superior to the animals with unspecific orchitis and statistically similar to the other groups. The percentage of the normal sperms in normal animals and animals with testicular hipoplasia was greater that others groups. The sperm head defects and nuclear fragmentation in animals with unspecific orchitis was greater that animals with normal and hipoplastic testis, and similar to others groups. Animals with unspecific orchitis showed somniferous epithelium area lower to others groups and Leydig cells area higher to animals with normal testicles. The bulls evaluated showed a high index of the testicular changes and a high percentage of the inapt animals to reproduction. The testicular biometric analysis don't allowed testicular diseases diagnose.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil atualmente destaca-se no cenário mundial como o maior produtor de carne bovina e detentor do maior rebanho comercial do planeta. De acordo com dados divulgados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2007) o plantel brasileiro é de aproximadamente 207,157 milhões de cabeças. As exportações de carne bovina no primeiro trimestre de 2004 totalizaram US\$ 483 milhões, representando um aumento de 51% quando comparado com o mesmo período de 2003 (CNA, 2004).

A posição de destaque do Brasil no comércio mundial de carne é inversamente proporcional com a produtividade da cadeia produtiva nacional. É consenso entre técnicos e pesquisadores que os índices de produtividade do rebanho brasileiro é inaceitável na atual conjuntura (CORREIA, et al. 2001). Um dos fatores responsáveis pelos baixos índices é a fertilidade dos animais envolvidos no processo produtivo. Como no Brasil predomina o sistema de criação extensiva, a produção está altamente correlacionada com a reprodução, neste contexto a fertilidade irá determinar o sucesso ou fracasso da atividade (SILVA et al, 1993).

Um dos principais fatores que afeta a fertilidade dos touros são as afecções testiculares (CAMP, 1997). Dentre as alterações mais freqüentes, destacam-se a degeneração, hipoplasia, atrofia, orquite, distúrbios circulatórios e neoplasias (LADDS, 1993; CAMP, 1997; ACLAND, 1998; JONES et al. 2000; NASCIMENTO e SANTOS, 2003).

Estudos envolvendo as mensurações testiculares e a qualidade do sêmen, são realizados com grande frequência no Brasil (ALENCAR et al. 1993; GABALDI et al. 1999; UNANIAM et al. 2000; NOGUEIRA et al. 2001; ORTIZ PEÑA et al. 2001; SILVA et al. 2002). Entretanto, pouco se sabe sobre o comportamento tecidual nas diferentes afecções que afetam os testículos, touros que não apresentam medidas satisfatórias, são descartados, com isto a etiologia e a frequência destas afecções são desconhecidas. É com base neste contexto que o presente estudo foi embasado, almejando determinar a frequência das patologias testiculares, bem como averiguar o comportamento tecidual e sua correlação com as características seminais dos animais, desta forma, os resultados obtidos irão contribuir para casuística nacional e fornecer subsídios para futuras pesquisas nesta área.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. MORFOLOGIA TESTICULAR

Os testículos são órgãos que possuem duas funções distintas: a produção de espermatozoides via espermatogênese, realizada nos túbulos seminíferos (porção exócrina) e a síntese e liberação de hormônios como testosterona e estrógeno produzidos nas células intersticiais ou células de Leydig, e nas células de Sertoli, respectivamente (porção endócrina). Estes órgãos estão contidos em uma bolsa especial derivada da pele, o escroto (Banks, 1992). São elipsóides e sólidos, não havendo relação fixa entre volume testicular e o tamanho do animal. Apresentam consistência macia e coloração amarelada ou acastanhada (Dyce et al., 1997). Nos bovinos seu tamanho varia conforme a idade, raça e genética, medindo de oito a 16 cm no seu eixo longitudinal e de cinco a 10 cm de largura (Hosken, 1997).

Os testículos estão envoltos por uma cápsula rica em fibras colágenas e tecido conjuntivo denso, denominada túnica albugínea, que emite septos para o interior do órgão (mediastino testicular) e o subdivide em lóbulos. Cada lóbulo contém diversos túbulos seminíferos imersos em tecido conjuntivo frouxo contendo vasos, nervos e as células de Leydig (Junqueira e Carneiro, 1999). Externamente, a túnica albugínea é revestida por um tecido conjuntivo frouxo

(túnica vaginal) derivado do peritônio que se mescla imperceptivelmente com o tecido conjuntivo denso da túnica albugínea (Banks, 1992; Hosken, 1997).

Histologicamente compõem-se de glândulas tubulares enoveladas, denominadas túbulos seminíferos, e tecido intersticial, no qual encontram-se as células de Leydig, dispostas em pequenos grupos e sustentadas por delicado arcabouço de tecido conjuntivo, onde se situam pequenos vasos sanguíneos e linfáticos, além de nervos (Dyce et al., 1997).

As células de Leydig são poliédricas com um grande núcleo esférico, nucléolos evidentes e citoplasma acidófilo contendo inúmeros grânulos e gotículas de gordura (Banks, 1992). Os túbulos seminíferos se irradiam do mediastino na forma de adenômeros tubulares enovelados. São revestidos por epitélio estratificado da zona basal intermediária e superficial. Embora o epitélio seja estratificado, não é um epitélio estratificado típico.

As células tubulares formam a linhagem espermatogênica, composta de espermatogônias, espermatócitos primários e secundários, espermátides e espermatozóides (Bacha e Woods, 1990; Banks, 1992). Além das células da linhagem germinativa, estão presentes também as células de Sertoli, sendo que estas se encontram em número reduzido comparado às células germinativas. São distintas histologicamente por possuir um núcleo claro e de forma oval ou triangular. Possuem formato colunar, se apóiam na membrana basal e podem chegar até a luz tubular (Bacha e Woods, 1990). Banks (1992) acrescenta que o núcleo tem cromatina finamente dispersa e nucléolo distinto, o citoplasma é claro, tem contorno mal delineado e forma irregular.

Os túbulos seminíferos são contínuos com os túbulos retos e posteriormente com a rede testicular. Essas regiões são revestidas por epitélio pavimentoso, cúbico ou cilíndrico, sendo semelhantes e melhor identificadas pelas suas posições nos testículos. Nos touros, a rede testicular pode ser revestida por epitélio cúbico biestratificado. Diferentemente dos túbulos retos, a rede testicular é formada por túbulos anastomosados ao acaso (Banks, 1992).

2.2 BIOMETRIA TESTICULAR

Na criação e exploração de bovinos de corte no Brasil predomina o sistema extensivo ou a pasto, em que o sucesso da produção depende quase que exclusivamente da reprodução. A capacidade reprodutiva do touro é uma das mais importantes características no rebanho de corte. A fertilidade do touro é avaliada pela taxa de prenhez/ano e quase que exclusivamente pela capacidade funcional do touro bem como pela qualidade do sêmen produzido (Love e Kenney, 1998).

Para avaliar o perfil reprodutivo de um touro, diversos parâmetros envolvendo as mensurações testiculares e a qualidade do sêmen têm sido propostos (Silva et al., 1993). Entre estes, o mais utilizado é a mensuração do perímetro escrotal, devido à facilidade de realização e onde o tamanho testicular foi relacionado com o volume de esperma produzido (Lunstra et al., 1978). O perímetro escrotal (P.E.), também chamado de circunferência escrotal (C.E) é um excelente indicador do tamanho testicular, da capacidade de produção espermática, das características físico-químicas, da idade à puberdade e também da capacidade de fertilização de touros jovens (Coulter e Keller, 1982; Toelle e Robison, 1985; Alencar et al., 1993; Silva et al., 1993; Arias e Slobodzian, 1998 e Gressler et al., 1998). Além de ser de fácil mensuração Cyrillo et al. (2001) citam que o P.E. apresenta herdabilidade de 0,54 e 0,44, e alta repetibilidade, indicando o potencial do P.E. na seleção de touros. Bergmann et al., (1996) acrescentam que o coeficiente de correlação entre perímetro escrotal e características de crescimento é alto.

Ortiz Peña et al., (2001) comparando os critérios de seleção de precocidade associados ao desenvolvimento de bovinos da raça Nelore, concluíram que a utilização do P.E. associado ao peso e idade do animal resultará na seleção de indivíduos com potencial diferenciado, melhorando o perfil genético do plantel.

Por outro lado Silva et al., (2002) estudando o P.E. e a qualidade do sêmen em touros da raça Nelore, afirmaram que o tamanho da circunferência escrotal em touros jovens até 18 meses de idade é um dos mais importantes critérios para seleção de reprodutores, e pode indicar a qualidade do sêmen representada pela motilidade progressiva dos espermatozóides. O tamanho da

circunferência escrotal, independentemente da idade, não influenciou a taxa de patologias espermáticas.

Para touros da raça Nelore o Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998) estabelece os padrões do perímetro escrotal de acordo com a idade, conforme descrito na Tabela - 1

TABELA 1: Classificação touros jovens (NELORE) criados a pasto, baseado no perímetro escrotal.

IDADE (meses)	MÉDIA (cm)	MUITO BOM (cm)	BOM (cm)	QUESTIONÁVEL (cm)
11 -13	19,5	> 23,5	21 – 23,5	< 21
14 -16	22,8	> 28,0	24,5 – 28	< 24,5
17 – 19	25,9	> 31,5	28 – 31,5	< 28
20 – 22	28,2	> 33,5	30 – 33,5	< 30
23 – 25	29,8	> 35,0	31,5 – 35	< 31,5
26 – 28	31,1	> 36,0	32,5 – 36	< 32,5
29 – 31	32,2	> 36,5	33,5 – 36,5	< 33,5
> 31	35,2	> 40,5	37 – 40,5	< 37

Programa de melhoramento genético de NELORE – CBRA (1998).

Além do PE, outras mensurações testiculares vêm sendo avaliadas, como o formato e o volume testicular. Nogueira et al., (2001) avaliaram as características seminais de touros jovens da raça Nelore de acordo com a biometria testicular e concluíram que o índice testicular é de grande valia para avaliação de animais pré-púbere. Bailey et al., (1998) averiguaram que o perímetro escrotal isoladamente não é um bom parâmetro para escolher um reprodutor, tornando-se necessária a inclusão de outras mensurações, como o volume testicular. Unanian et al., (2000) citam que ao avaliar um touro jovem, o volume testicular aliado ao perímetro escrotal tornam a seleção mais precisa.

Fields et al., (1979) avaliaram testículos *in vitro* por deslocamento de líquido e compararam com a seguinte expressão matemática:

$$Vol = 2[(r^2) \times \pi \times C] \text{ onde:}$$

r = raio de largura testicular ($L/2$);

π = constante matemática (3,14);

C = comprimento testicular.

A partir desta equação, chegaram a valores que não diferiram daqueles avaliados pelo deslocamento de líquido.

2.3 MORFOMETRIA TESTICULAR

No que concerne á morfometria testicular, escassos são os dados referentes a estas medidas em bovinos da raça Nelore. Castro et al., (1997) descreveram a importância do ciclo do epitélio seminífero (CES) nos estudos sobre a espermatogênese. Estes autores acrescentam que a análise qualitativa do CES, além de ser essencial no estabelecimento do padrão de divisão e renovação das espermatogônias, permite estimativas da eficiência do processo espermatogênico. Sousa et al. (2004), estudaram o diâmetro tubular de testículos de touros da raça "Pé-duro", e ressaltam a importância de novos estudos envolvendo a morfometria testicular em bovinos.

O ciclo do epitélio seminífero foi descrito em coelhos (Berndtson e Foote, 1997), caprinos (Franca et al., 1999), búfalos (Guraya e Bilaspuri, 1976), varrões (Garcia-Gil et al., 2002), e em touros Nelore (Cardoso e Godinho, 1983). Rao Veeramachaneni et al., (1986), descreveram que túbulos seminíferos de animais com degeneração testicular, apresentaram diferença de acordo com a severidade do processo degenerativo. Estes autores acrescentam que o tamanho dos túbulos possuem alta correlação com o tamanho testicular, com as características físicas e morfológicas do sêmen.

No que concerne ao uso da morfometria nas alterações testiculares, França et al., (2000) utilizaram este método para avaliar o efeito de Cimetidine no epitélio seminífero de ratos e, averiguaram que a porcentagem de epitélio seminífero decresce a medida em que aumenta o processo degenerativo das espermatogônias. Ladds (1993) cita que alterações na espessura da membrana basal dos túbulos seminíferos podem ser constatadas em testículos com hipoplasia ou degeneração. Este autor acrescenta que nos casos de hipoplasia os túbulos diminuem o diâmetro, porem, as células de Leydig entram em hiperplasia, podendo mascarar o tamanho testicular.

2.4 CARACTERÍSTICAS SEMINAIS

Outro método clássico e amplamente utilizado para avaliar a fertilidade de um touro é o exame andrológico, este, constitui-se das seguintes avaliações: exame clínico com ênfase nos aparelhos locomotor e reprodutor; avaliação do interesse sexual do touro ou teste da libido e espermograma (Johnson, 1997).

No espermograma são avaliadas as características físicas do ejaculado e as características morfológicas dos espermatozóides. Nos aspectos físicos examina-se principalmente a motilidade, o vigor, o turbilhonamento e a concentração (Johnson, 1997; CBRA, 1998; Parkinson 2004).

A motilidade é uma análise subjetiva que expressa os percentuais de espermatozóides vivos e mortos. O vigor representa a força do movimento dos espermatozóides e, o turbilhonamento, também chamado de movimento em massa, caracteriza-se por movimentos em ondas observadas em uma gota de ejaculado. A intensidade do movimento é resultante da motilidade, vigor e concentração espermática (Hafez, 1988).

No que diz respeito às alterações morfológicas dos espermatozóides, Johnson (1997) e Parkinson (2004) explicam que as alterações podem ser classificadas de acordo com a região dos espermatozóides (cabeça, peça intermediária, cauda e gotas citoplasmáticas) ou de acordo com o lugar de origem (testículos = defeitos primários, epidídimos = defeitos secundários e glândulas acessórias = defeitos terciários ou pós-ejaculado). Além destas classificações, Barth e Oko (1989) descreveram um método simples e funcional, neste método são quantificados os percentuais de espermatozóides normais, defeitos de cabeça (subdesenvolvidos, piriformes, crateras, delgados na base, vacúolos e defeitos de contorno), acrossomo (vesiculoso, ausente, granular e dobrado), peça intermediária (fraturada, hipoplásica dupla e enrolada), gota citoplasmática proximal, cauda (fortemente dobrada, retro-axial e fortemente enrolada) e cabeça isolada normal.

Animais com degeneração testicular severa apresentam oligospermia ou azospermia, dependendo da gravidade, aumento no número de anormalidades espermáticas, especialmente de cabeça e peça intermediária. Quanto à cinética espermática, o percentual de motilidade progressiva dos espermatozóides diminui concomitantemente ao aumento das anormalidades

(Brito et al. 2003; Kastelic et al., 1997; Vogler et al., 1993; Fonseca e Chow, 1995; Parkinson, 2004; Camp, 1997; Rote et al. 1995).

No Brasil, todas as classificações supracitadas são aceitas pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998). De acordo com este órgão, um touro será considerado apto para reprodução quando apresentar 70% de motilidade, 3 de vigor, 3 de turbilhonamento e menos de 30% de espermatozoides anormais.

2.5 ALTERAÇÕES TESTICULARES

No que concerne à degeneração testicular, esta afecção caracteriza-se por processos degenerativos e necróticos das células germinativas (Santos, 1979), e é uma lesão relativamente comum (Acland, 1998). Pode apresentar-se de maneira uni ou bilateral, a depender da causa (localizada ou sistêmica), temporária ou permanente e podendo variar de discreta a severa sob o ponto de vista patológico (Blanchard et al., 1991; Camp, 1997; Nascimento e Santos, 2003).

Este processo constitui a principal fonte de infertilidade do macho (Nascimento e Santos, 2003). Estudos envolvendo análises histológicas dos testículos indicam que a degeneração testicular é a alteração encontrada com maior frequência em touros.

Maia (1979) e Goiozo et al. (2005) avaliaram microscopicamente os testículos de touros e a degeneração testicular foi a afecção mais freqüente em ambos os estudos, representando 42,66% e 54,10% respectivamente.

A degeneração testicular é uma afecção de origem multi-fatorial sendo, a injúria térmica ou condições que resultam no aumento da temperatura testicular, as causas mais comuns (Blanchard, 1991; Kastelic, et al., 1997) . Além destas, distúrbios hormonais, deficiências nutricionais, orquites, dermatites escrotais, queda acentuada da temperatura ambiente, obstruções epididimárias, estresse, lesões no plexo pampiniforme e atrofia testicular senil, culminam com a degeneração testicular (Blanchard, 1991; Ladds, 1993, Camp, 1997; Hafez, 2004).

Macroscopicamente, os testículos degenerados são tumefeitos, de coloração pálida e em casos iniciais podem estar discretamente diminuídos de tamanho. Já nos casos mais avançados apresentam-se significativamente diminuídos, firmes e resistentes ao corte, em razão da proliferação de tecido conjuntivo (Camp, 1997, Acland, 1998; Nascimento e Santos, 2003)

No que refere aos aspectos histopatológicos, os túbulos seminíferos estão diminuídos de tamanho, ocorrendo o espessamento da membrana basal, descamação do epitélio seminífero e com a presença de células gigantes. O aspecto morfológico é de fundamental importância na diferenciação entre hipoplasia e degeneração, pois na degeneração há maior número de espermatogônias com citoplasma vacuolizado e, apesar de existir o espessamento e hialinação da membrana basal, na degeneração estas possuem um contorno irregular (Blanchard, 1991; Ladds, 1993; Acland, 1998; Nascimento e Santos, 2003). Rao Veeramachaneni et al. (1995) acrescentam que animais com degeneração testicular severa apresentam atrofia das células de Leydig.

No que diz respeito aos impactos da degeneração testicular sobre a qualidade seminal do touro, é consenso entre pesquisadores que animais com degeneração testicular severa apresentam oligospermia ou azospermia, dependendo da gravidade, aumento no número de anormalidades espermáticas, especialmente de cabeça e peça intermediária. Quanto à cinética espermática, o percentual de motilidade progressiva dos espermatozoides diminui concomitantemente ao aumento das anormalidades (Brito et al. 2003; Kastelic et al. 1997; Vogler et al. 1993; Fonseca e Chow, 1995; Parkinson, 2004; Camp, 1997; Rote et al. 1995).

A hipoplasia testicular particulariza-se pelo não desenvolvimento das células germinativas dos túbulos seminíferos. Esta alteração ocorre em associação com diversos fatores, tais como: distúrbios no desenvolvimento, genéticos e cromossômicos (Jones et al., 2000). Nascimento e Santos (2003) citam que a hipótese aceita para esta anomalia nos bovinos é a presença de um gene autossômico de penetrância incompleta.

De acordo com Steffen (1997), a hipoplasia testicular em touros é a afecção genética descrita com maior freqüência. Quanto à incidência, Ladds (1993) cita que aproximadamente 0,5% dos diagnósticos das lesões

testiculares são de hipoplasia. Oashi et al., (1988) encontraram um caso (1,1%) da referida afecção em 95 touros Nelore criados em clima amazônico. Maia (1979) avaliou histologicamente os testículos de 150 touros abatidos no município de Belo Horizonte-MG e diagnosticou um caso de hipoplasia, representando 1,33% de todas afecções encontradas. Goiozo et al., (2005) estudaram os testículos de 80 touros da raça Nelore criados no centro-oeste brasileiro e observaram hipoplasia testicular em 15% (12) dos animais avaliados.

Sob o ponto de vista anátomo-patológico, a hipoplasia pode ser dividida em discreta (leve), moderada (intermediária) e severa (total). Pode ser uni ou bilateral, sendo o testículo esquerdo afetado com maior frequência (Ladds, 1993; Steffen, 1997; Acland, 1998; Nascimento e Santos, 2003).

Segundo Ladds (1993), a medida da circunferência escrotal, quando usada sistematicamente, torna-se uma técnica útil para o julgamento de testículos hipoplásicos, o perímetro escrotal (PE) começa a reduzir com o aumento dos túbulos hipoplásicos. Steffen (1997) acrescenta que a hipoplasia, quando completa (ou severa) é nitidamente evidente e facilmente palpável. Em contra partida, Goiozo et al. (2003) comparam o perímetro escrotal de touros com hipoplasia testicular discreta e moderada com animais com testículos normais e constataram que não há diferença significativa, evidenciando a incapacidade de diagnosticar esta afecção em graus discreto e moderado, por avaliações biométricas.

Histologicamente, os túbulos hipoplásicos podem ser confundidos com túbulos normais. Em casos de hipoplasia severa, os túbulos ficam com o diâmetro menor e lineado por células de Sertoli, talvez pela lâmina basal ou espermatogônias que não mostram atividade mitótica. A membrana basal é espessada e hialinizada com um aumento do tecido conjuntivo peritubular. As células de Leydig ficam em número aumentado comparado com o testículo normal (Ladds, 1993; Acland, 1998; Jones et al., 2000).

Na hipoplasia moderada, 50% ou mais dos túbulos estão envolvidos, enquanto nos túbulos remanescentes há graus variados de atividade espermatogênica e, ocasionalmente, espermatozóides. Na maioria dos túbulos, a atividade de diferenciação ocorre somente até o estágio de espermatócitos. A subsequente degeneração resulta em vacuolização do epitélio germinativo.

Além disso, à vacuolização, estão presentes células gigantes multinucleadas em número variável, evoluindo para divisão, mas não para separação das células germinativas. Na hipoplasia discreta, ocasionalmente os túbulos são tomados somente por células de Sertoli, mas na maioria dos túbulos há atividade mitogênica além do estágio de espermatócitos. Embora haja infiltração de células inflamatórias (linfócitos), esta não é uma característica da hipoplasia (Ladds, 1993).

O diagnóstico de hipoplasia moderada e principalmente discreta é difícil, uma vez que os testículos estão clínica e macroscopicamente inalterados e a fertilidade do touro está praticamente normal (Nascimento e Santos, 2003). Steffen (1997) afirma que o diagnóstico definitivo de hipoplasia testicular é feito por exames histopatológicos, uma vez que, macroscopicamente, a hipoplasia testicular pode ser confundida com degeneração ou atrofia testicular.

Touros com hipoplasia testicular severa, são facilmente identificados por exames andrológicos de rotina e eliminados do rebanho. Animais com hipoplasia moderada são considerados férteis na primeira avaliação, entretanto, evidencia-se uma diminuição acentuada na concentração espermática e no volume do ejaculado em uma segunda avaliação, características estas que sugerem a presença desta afecção no touro. Já animais com hipoplasia testicular discreta, possuem medidas testiculares e características seminais dentro dos padrões normais (Steffen, 1997; Nascimento e Santos 2003).

O uso do método de coloração pelo Ácido Periódico de Schiff (PAS) auxilia na diferenciação entre hipoplasia e degeneração, visto que esta técnica, cora acentuadamente a membrana basal, que nos casos de hipoplasia apresenta-se espessada, com aproximadamente 1 μ m de espessura e com o contorno inalterado (Ladds, 1993).

As alterações circulatórias, exceto a trombose, normalmente são secundárias a outras lesões. Dentre estas, as mais comuns são: hemorragia, edema, hiperemia e congestão. A hemorragia ocorre após processos tóxicos e/ou infecciosos, nos quais petéquias estão presentes no interstício testicular. Edema e hiperemia comumente estão associados a traumas e processos inflamatórios. Microscopicamente, nos casos de edema, são evidenciadas separações de túbulos, repleção de vasos linfáticos e presença de conteúdo

proteínáceo no interstício celular. Quanto à hiperemia observam-se veias e artérias dilatadas e repletas de hemácias (Santos, 1979; Ladds, 1993).

No que refere à trombose, esta é relativamente comum nos testículos de touros, possui origem idiopática, está presente no parênquima ou nas túnicas e freqüentemente ocorre a mineralização dos trombos oclusivos (Ladds, 1993).

No que diz respeito a orquite, esta afecção possui origem traumática ou infecciosa e pode ser intersticial (intertubular), intratubular ou necrosante, dependendo da localização e característica da lesão (Santos, 1979; Ladds, 1993; Acland, 1999).

A orquite traumática não é comum nos bovinos, ocorrendo com maior freqüência no carneiro e no cão. Nos bovinos, a orquite traumática é resultante de feridas situadas no escroto, onde, em casos graves, a progressão da lesão afeta os testículos (Santos, 1979).

No que concerne à orquite infecciosa, diversos agentes podem acometer o macho bovino, tais como: *Brucella abortus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Actinomyces pyogenes*, *Nocardia farcinica*, herpesvírus bovino tipo III (RBI-VPI), entre outros. Estes agentes podem chegar aos testículos por via hematógica ou ascendente (Smith, 1994; Camp 1997; Acland, 1999; Jones et al., 2000; Nascimento e Santos; 2003).

Dos agentes citados, o que merece destaque é a *Brucella abortus*. Nos bovinos este microrganismo causa inicialmente uma orquite intratubular que posteriormente progride para orquite necrosante (Ladds, 1993; Smith, 1994; Acland, 1999; Jones et al., 2000; Nascimento e Santos; 2003). Os sinais clínicos são os característicos da resposta inflamatória; rubor, calor tumor, dor e perda da função (Smith, 1994). Pode ocorrer de maneira uni ou bilateral. Em ambas, o animal sofre subfertilidade ou infertilidade. Quando apenas um testículo é acometido, a infertilidade ou subfertilidade deve-se ao aumento da temperatura do testículo afetado, que induz o contra-lateral a um quadro de degeneração severa (Aguiar et al. 2001; Nascimento e Santos, 2003).

Ao exame macroscópico do testículo, após a necropsia ou orquiectomia, observam-se presença de conteúdo fibrino-purulento ou hemorrágico, áreas de necrose de coagulação e nos casos crônicos, pode haver proliferação de tecido conjuntivo (fibrose) ou a presença de abscessos (Nascimento e Santos, 2003).

Microscopicamente, nota-se necrose de caseificação, envolvida por macrófagos, linfócitos e cápsula conjuntiva. Debris celulares das células tubulares também podem ser observados (Jones et al., 2000; Nascimento e Santos, 2003).

Infecção por *Mycobacterium tuberculosis* também é uma causa comum de orquite nos bovinos. Frequentemente, a manifestação de tuberculose nos testículos está associada a focos primários da doença em outros órgãos, que disseminaram por via hematogena até atingir o testículo (Santos, 1979).

Adeniran et al. (1992) descreveram um caso de tuberculose generalizada com orquite em um touro, o animal tinha nódulos caseosos em linfonodos da cabeça, tórax e abdômen; diafragma, pleura, fígado, rins e baço continham nódulos fibrosados e/ou calcificados, de coloração amarelada e firmes ao corte. Quanto aos testículos, os autores relataram que o órgão direito era aproximadamente cinco vezes maior que o esquerdo, possuía nódulos caseosos de vários tamanhos e de coloração amarelada. O testículo esquerdo continha nódulos, mas não estava completamente destruído. Havia conteúdo purulento na cabeça do epidídimo e túnica albugínea, que se apresentava espessada e fibrosada. Neste caso, o diagnóstico foi confirmado pelo isolamento de *Mycobacterium* nos granulomas testiculares.

Além da orquite brucélica, Acland (1999) cita um outro tipo comum nos bovinos, a orquite inespecífica. Esta se caracteriza por uma inflamação leve, multifocal, subaguda, intersticial e de origem desconhecida. Não há lesões macroscópicas evidentes, sendo portanto um diagnóstico microscópico, onde são observados focos linfocitários ao redor dos túbulos seminíferos e vasos. Goiozo et al. (2005) diagnosticaram orquite inespecífica em 47 de 159 testículos avaliados, em que o predomínio celular era de mononucleares, principalmente linfócitos.

Segundo Camp (1997), touros com orquite têm invariavelmente quadros de degeneração testicular resultante do aumento da temperatura testicular devido ao processo inflamatório, desta forma, as características seminais de touros com orquite são semelhantes às aquelas descritas em animais com degeneração testicular, ou seja, diminuição na motilidade progressiva e defeitos de cabeça e peça intermediária.

Goiozo et al., (2005b) avaliaram o perfil seminal de touros com orquite bacteriana e relataram que a média de defeitos espermáticos nestes animais foi de 35,1%, sendo a fragmentação nuclear o defeito com maior percentual (média de 11,6%).

Quanto as neoplasias testiculares, estas são comuns em touros idosos. Os tumores testiculares são derivados dos componentes especializados dos testículos, sendo eles: tumor das células intersticiais ou de Leydig ou leydigocitoma; tumor das células de Sertoli ou sertolioma; tumor das células germinativas ou seminoma. Estes três tipos de neoplasias podem ocorrer de maneira isolada ou combinada. Na maioria dos casos de tumores testiculares, a espermatogênese fica comprometida no testículo afetado, enquanto o contralateral mantém o processo de gametogênese normal (Acland, 1999; Nascimento e Santos, 2003).

Dentre as neoplasias testiculares, o leydigocitoma é a mais comum nos bovinos. Pode ser uni ou bilateral, múltiplo ou sólido, com diâmetro que varia de milímetros a poucos centímetros. Somente em casos especiais leva a um aumento de volume evidente do órgão. Macroscopicamente, este tumor é facilmente identificado devido a sua coloração bronzeada ou alaranjada. É uma neoplasia esférica, bastante vascularizada e macia à palpação (Ladds, 1993; Acland, 1999; Jones et al., 2000; Nascimento e Santos, 2003).

Ao exame histológico, caracteriza-se pela presença de células arredondadas com citoplasma granuloso, vascularização intensa e, em alguns casos pode haver pigmentos citoplasmáticos e áreas focais de hemorragia e necrose. Além destas características, cápsula conjuntiva e atrofia tubular adjacente podem ser observados (Nascimento e Santos, 2003).

De acordo com Acland (1999), a diferenciação entre leydigocitoma e hiperplasia das células de Leydig é problemática. Nascimento e Santos (2003) citam que devido a esta dificuldade, existe a tendência de classificar os nódulos com menos de 2mm de diâmetro como hiperplasia e nódulos com diâmetro superior, como neoplásicos.

No que diz respeito ao sertolioma, esta é a neoplasia menos comum no touro. Macroscopicamente apresenta grandes formações nodulares envoltas por espessa cápsula conjuntiva, consistência firme, coloração esbranquiçada ou acinzentada e aspecto lobular ao corte. Ao exame histopatológico é

composto por abundante estroma conjuntivo, células alongadas com disposição em forma de feixes perpendiculares à membrana basal e citoplasma acidófilo assim como núcleo basal e hipercromático (Ladds, 1993; Acland, 1999; Jones et al., 2000; Nascimento e Santos, 2003).

Os seminomas são habitualmente tumores solitários e unilaterais. Sua ocorrência é mais freqüente em testículos criptorquídicos. A origem multicêntrica e a capacidade invasiva são sinais característicos deste tumor.

Macroscopicamente, apresenta-se como uma massa branca ou cinza-rósea, firme, protrui ao corte, deixa fluir um líquido viscoso e possui finas trabéculas fibrosas. Microscopicamente, os seminomas podem ser encontrados em arranjos intratubulares ou difusos de células grandes, poliédricas, com contornos bem demarcados. A cromatina mostra-se vesiculosa e os nucléolos proeminentes. São vistas áreas de necrose, e infiltrado de células inflamatórias linfocíticas (Ladds, 1993; Acland, 1999; Jones et al., 2000; Nascimento e Santos, 2003).

3. OBJETIVOS

Dada a relevância do touro na cadeia produtiva da carne e considerando os impactos econômicos ocasionados pelas lesões testiculares, aliado à escassez de informações detalhadas sobre o comportamento biométrico, tecidual e seminal em diferentes alterações que podem acometer os testículos, os objetivos do presente estudo foram:

- Quantificar e qualificar alterações testiculares de bovinos da raça nelore;
- Determinar os padrões dos componentes teciduais de testículos de bovino por análises morfométricas;
- Verificar a existência de diferenças morfométricas em diferentes afecções testiculares;
- Verificar o comportamento biométrico e seminal nas afecções testiculares diagnosticadas pela histopatologia;
- Determinar a eficácia dos métodos tradicionais de avaliação na detecção de lesões testiculares microscópicas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. ANIMAIS

Para a realização do estudo que se apresenta, foram utilizados 56 touros da raça Nelore, puros de origem, com idade entre 30 e 45 meses, pesando entre 420 e 600 kg, clinicamente sadios, provenientes de criação extensiva, cedidos pelo Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (CNPGC – EMBRAPA), localizado no município de Campo Grande – MS. Os touros eram sorologicamente negativos para brucelose (Soroaglutinação rápida com Antígeno Acidificado Tamponado) e não reagentes para tuberculose bovina (Teste intra-dérmico caudal com PPD – Bovina). Os animais permaneceram em pastagens de *Brachiaria brizanta*, com lotação de 1 UA/ha, da desmama até o último dia de coleta de dados e materiais biológicos. Neste período, os animais recebiam suplementação mineral, eram vacinados contra febre aftosa e, clostridioses, vermifugados e banhados com ectoparasiticidas de acordo com o calendário sanitário da referida Instituição.

4.2. EXAME ANDROLÓGICO

No presente estudo, foram realizados três exames andrológicos em intervalos de 15 dias entre um e outro. Antes de cada exame, os animais foram submetidos a exames clínicos, dando ênfase ao sistema genital, em seguida, o sêmen foi coletado por meio de eletro-ejaculação. Imediatamente após a coleta, os ejaculados foram avaliados quanto ao aspecto (cremoso, leitoso, opalescente e aquoso) e com o auxílio de um microscópio de luz, a cinética espermática foi estimada subjetivamente pelo turbilhonamento (TURB, 0 – 4), motilidade (MOT, %) e vigor (VIG, 0 – 5). O percentual de espermatozóides normais e com defeitos foi estimado em microscopia de contraste de fase (1000x/200 células). Para esta análise, consideraram-se as seguintes anormalidades: defeitos de cabeça (subdesenvolvidas, piriformes, crateras, delgadas na base e defeitos de contorno), acrossomo (vesiculoso, ausente, granular e dobrado), peça intermediária (fraturada, hipoplásica, dupla e enrolada) gota citoplasmática proximal, cauda (fortemente dobrada, retro-axial e fortemente enrolada). Todos os critérios de avaliação seminal supracitadas seguiram os critérios de Barth e Oko (1989).

Além das anormalidades descritas acima, avaliou-se também a fragmentação nuclear, em esfregaços seminais corados pelo método de Feulgen, descrito por Miller et al. (1982), Barth e Oko (1989) e modificado por Fernandes (2005). A fragmentação foi considerada em núcleos espermáticos com halos ou vacúolos visíveis ou não, células com coloração rarefeitas (fantasmas), células com presença de vesículas (*pouch formation*), e células com características granulares (*clumpy*), conforme descreve Fernandes (2005).

Com base nas avaliações supracitadas, os animais foram classificados em aptos ou inaptos, conforme descreve o Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998). O touro considerado apto para reprodução apresentou no mínimo 70% de motilidade, 3 de vigor, 2 de turbilhonamento e menos de 30% de espermatozóides anormais.

4.3. AVALIAÇÃO BIOMÉTRICA

A avaliação biométrica dos testículos dos animais em estudo constituiu-se nas seguintes mensurações: perímetro escrotal (PE); larguras dos testículos direito e esquerdo (LTD e LTE) e comprimentos dos testículos direito e esquerdo (CTD e CTE).

O perímetro escrotal foi determinado na região mediana do escroto com o auxílio de uma fita métrica (Figura 1), o comprimento e a largura foram obtidos com auxílio de um paquímetro, sendo que a mensuração foi realizada após a orquiectomia (Figura 2).



FIGURA 1: Mensuração do perímetro escrotal com auxílio de fita métrica

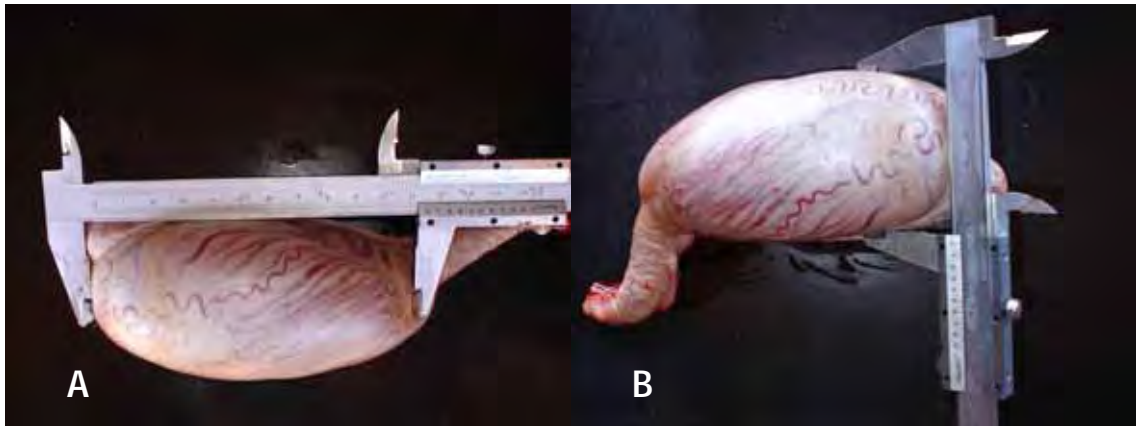


FIGURA 2: (A). Mensuração do comprimento testicular (CP); (B) Mensuração da largura testicular (LG)

4.4. COLETA E PROCESSAMENTO DO MATERIAL PARA ANÁLISES

Os testículos foram obtidos por meio de orquiectomia seguindo a técnica descrita por Turner e McIlwraith (1987). Após a retirada e a mensuração, metade de cada testículo foi acondicionada em frasco estéril para análise microbiológica e das metades remanescentes foram coletados fragmentos representativos para análises histológicas e morfométricas.

4.4.1. EXAME BACTERIOLÓGICO

Para a realização do exame microbiológico, utilizou-se cultura em agar sangue ovino 5% (Figura 3). As colônias bacterianas foram submetidas aos métodos de identificação pela coloração de Gram e provas bioquímicas para identificação do gênero, segundo o Manual Bergey de Bacteriologia (1999).

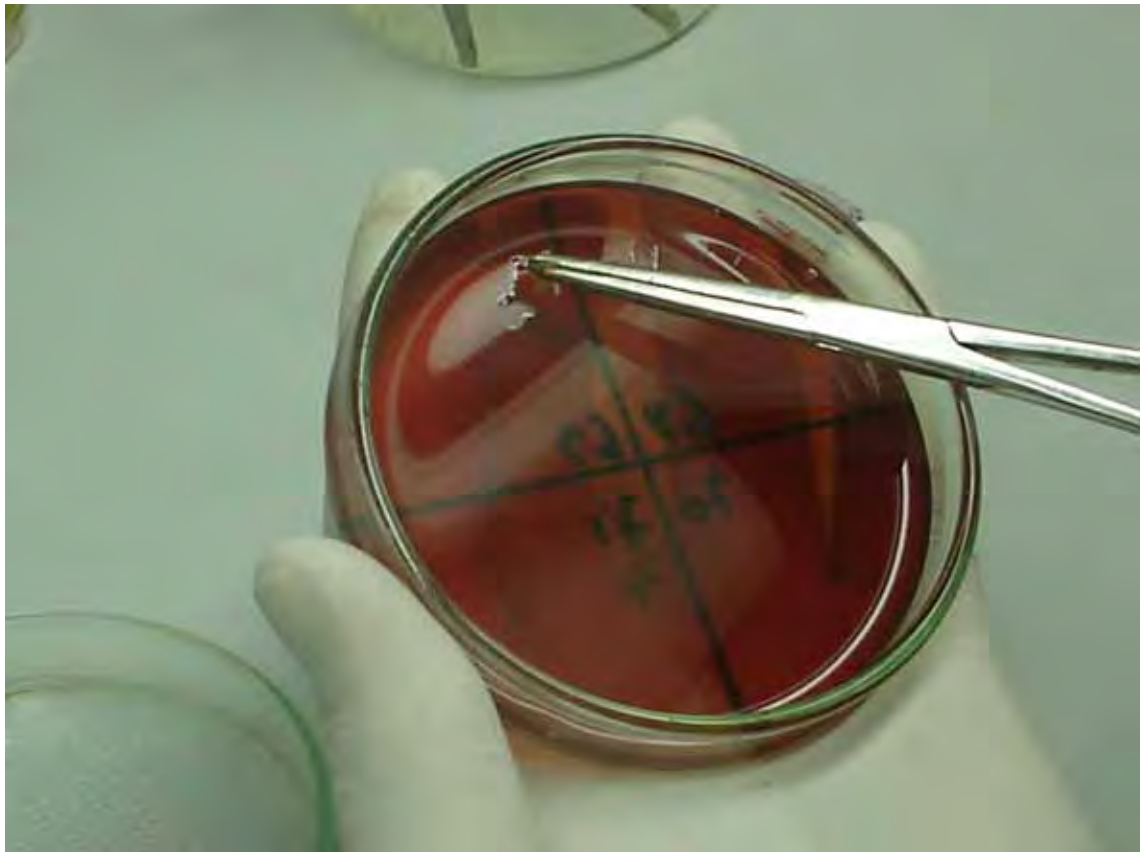


FIGURA 3: Semeadura em Agar sangue ovino 5%.

4.4.2. CONFECÇÃO DE LÂMINAS HISTOLÓGICAS

Para a confecção das lâminas histológicas, inicialmente procedeu-se a fixação dos fragmentos em solução de Bouin por 24 horas (Ladds, 1993), posteriormente, os fragmentos foram processados com auxílio de um histotécnico, emblocados em parafina histológica e cortados em micrótomo rotativo com 4 μ m de espessura. Para a detecção das lesões em microscópio óptico, as lâminas foram coradas pelo método de Hematoxilina e Eosina (HE) (Behmer, 1976).

4.5 CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO DAS ALTERAÇÕES

As alterações foram classificadas de acordo com as descrições de Ladds, (1993); Camp, (1997); Acland, (1998); Jones et al., (2000) e Nascimento e Santos, (2003).

4.5.1 Hipoplasia Testicular

Para o diagnóstico de hipoplasia testicular foram analisados o conteúdo celular dos túbulos seminíferos (túbulos somente com células de Sertoli, tecido conjuntivo e raras células germinativas sem atividade mitótica), a espessura da membrana basal e o comportamento das células de Leydig, que nos casos de hipoplasia podem estar hiperplásicas. A hipoplasia foi classificada quanto ao percentual estimado de túbulos acometidos por análise em microscopia óptica semiquantitativa: discreta, moderada e severa.

4.5.2 Degeneração Testicular

A degeneração testicular foi classificada em discreta, moderada ou severa. Para tal foram considerados os seguintes itens: presença de mitose nas células germinativas; integridade dos túbulos; contorno e espessura da membrana basal; descolamento dos túbulos; vacuolização citoplasmática das células germinativas; número de células por túbulo; presença de espermatozoides na luz tubular.

4.5.3 Orquite

O processo inflamatório foi classificado em orquite inespecífica e orquite bacteriana.

No que refere a orquite inespecífica a classificação baseou-se nas características histológicas descritas por Acland (1998), que incluem a presença de células mononucleares com predominância de linfócitos dispostos no tecido intersticial adjacente ao túbulo seminífero. Quanto à orquite bacteriana, a classificação baseou-se nos resultados dos exames microbiológicos e foram confirmados em análises histológicas, nas quais foram observados infiltrados inflamatórios (mononucleares e polimorfonucleares) dispostos tanto no tecido intersticial quanto no interior dos túbulos e também classificado quanto ao órgão acometido (direito, esquerdo ou ambos).

4.6. AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA

A avaliação do comportamento dos componentes teciduais dos testículos, tais como: área de lúmen (LM), área de epitélio germinativo (EP = área do túbulo – área do lúmen), área de células de Leydig (CL) e área de estroma (ES), foi realizada por meio de um sistema computadorizado de análise de imagens, em que as imagens foram obtidas dos cortes histológicos de cada órgão (direito e esquerdo) em microscopia de luz, com objetiva de 20 x e mensuradas pelo software KS-400. Os resultados obtidos em μm^2 da área de cada componente tecidual foram transformados e analisados em percentual, conforme descrito em seguida.

4.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Antecipadamente aos testes estatísticos, avaliou-se a homogeneidade da variância dos resultados obtidos nas avaliações biométricas, seminais e morfométricas nas diferentes alterações testiculares, estimando o coeficiente de variação (CV = desvio padrão/média x 100) e aqueles que apresentaram C.V. superior a 30% foram submetidas a transformação angular pelo modelo matemático: $\text{ASEN}[\text{RAIZ}(\text{variável}/100)]$ segundo Sampaio (2002).

Para avaliar o comportamento das características biométricas (PE, CPD, LGD, CPE e LGE), características seminais (motilidade e morfologia espermática) e características morfométricas frente às alterações testiculares, utilizou-se o procedimento “PROC GLM” do programa “Statistical Analysis System” (SAS) versão 8.2 (2001). A análise de variância deu-se pelo teste de Duncan ($p < 0,05$), pelo seguinte modelo matemático:

$$dms_{(Duncan)} = q_i \sqrt{\frac{S_e^2}{2} \left(\frac{1}{r_A} + \frac{1}{r_B} \right)}$$

onde :

$dms_{(Duncan)}$ = Diferença Mínima Significativa;

q_i = valor tabelado por Duncan;

S_e^2 = valor estimado do quadrado médio do resíduo;

r = número comum de observações por tratamento.

Para verificar a diferença do turbilhonamento (0 – 4), do Vigor (0 – 5) na cinética espermática e na classificação dos animais (aptos ou inaptos) nas diferentes afecções, utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal – Walis por meio do procedimento “PROC RANK” do programa computacional supracitado através do modelo matemático descrito abaixo:

$$T = \frac{1}{S^2} \left[\sum_{i=1}^k X \frac{R_i^2}{n_i} - \frac{N(N+1)^2}{4} \right]$$

onde:

n_i = número de observações para o i -jésimo grupo;

$N = \sum_{i=1}^k n_i$ (total de observações);

R_i = soma das ordenações para o i -jésimo grupo;

$$s^2 = \frac{1}{N-1} \left[\sum X_{ij}^2 - \frac{N(N+1)^2}{4} \right]$$

X_{ij} = ordenação de cada j -ésima observação de cada i -jésimo grupo.

Quando verificada a significância pelo teste supracitado, utilizou-se o procedimento PRO GLM do software citado acima, para averiguar a diferença entre as médias ordenadas pelo Teste T de Student ($p < 0,05$) com $n - k$ graus de liberdade, de acordo com o modelo abaixo.

$$t = \frac{\bar{R}_i - \bar{R}_j}{\sqrt{S^2 \left(\frac{N-1-T}{N-k} \right) \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}}$$

Onde:

$\bar{R}_i = R_i / n_i$ (Ordenação média do i -jésimo grupo).

5. RESULTADOS

5.1 ALTERAÇÕES TESTICULARES

As freqüências das alterações testiculares obtidas na avaliação histopatológica estão expressas na Tabela 2. No que diz respeito a cultura microbiológica, em 15 animais constatou-se crescimento de colônias (Figura 4) e as freqüências dos agentes bacterianos isolados estão elucidadas na Tabela 3. Nos 56 touros avaliados, 14 (25,00%) não apresentaram alterações nos testículos (Figura 5). Quanto às alterações, a orquite bacteriana (Figura 6) foi a afecção mais freqüente observada em 15 (26,86%) animais, sendo 10 no testículo direito, 4 no testículo esquerdo e 1 em ambos (Figura 7), seguida pela degeneração testicular (Figura 8), orquite inespecífica (Figura 9), e hipoplasia testicular discreta (Figura 10), observadas em 10 (17,86%), 10 (17,86%) e 7 (12,50%), respectivamente.

No que concerne aos agentes microbianos detectados em 15 touros, foram isolados *Staphylococcus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Streptococcus spp.*, e *Cândida spp.* em 10 (67,00%), 2 (13,00%), 1 (7,00%), 1 (7,00%) e 1 (7,00%), respectivamente.

TABELA 2. Freqüência das alterações testiculares observadas por análises histopatológicas em touros da raça Nelore (n=56). Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.

Grupos	Freqüência (n)	Freqüência (%)
Normais	14,00	25,00%
Hipoplasia	7,00	12,50%
Degeneração	10,00	17,86%
Orquite Inespecífica	10,00	17,86%
Orquite Bacteriana	15,00	26,86%

TABELA 3. Freqüência dos agentes microbianos isolados em Agar sangue ovino 5% a partir de amostras de testículos de touros da raça Nelore (n=15). Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.

Agentes	Freqüência (n)	Freqüência (%)
<i>Actinomycetos spp.</i>	2	13,00%
<i>Cândida spp.</i>	1	7,00%
<i>Pseudomonas spp.</i>	1	7,00%
<i>Staphylococcus spp.</i>	10	67,00%
<i>Streptococcus spp.</i>	1	7,00%



FIGURA 4: Cultura em Agar sangue ovino 5%, nota-se crescimento bacteriano em três quadrantes. Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.

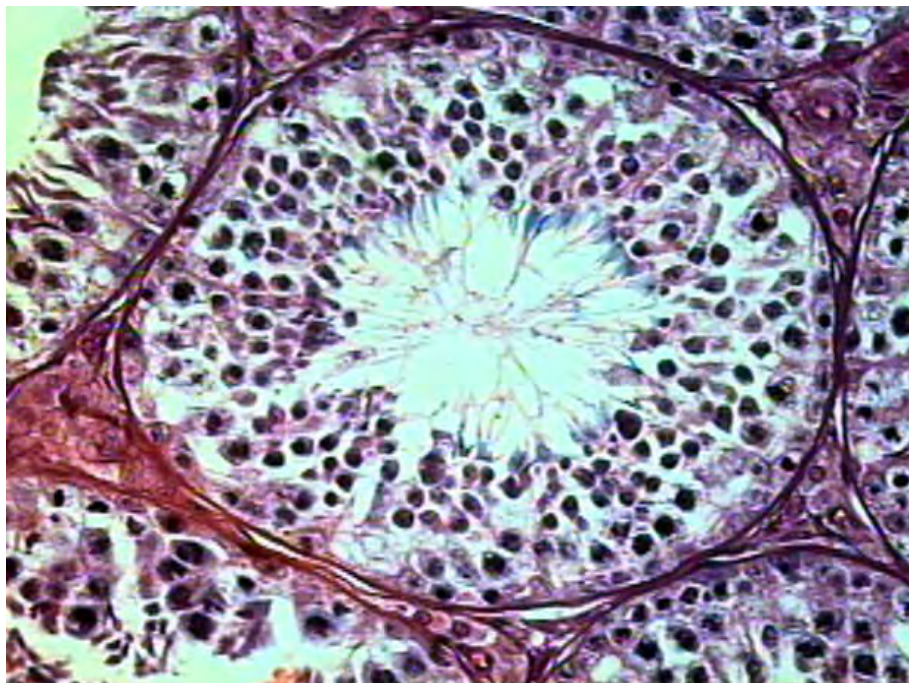


FIGURA 5: Fotomicrografia testicular. Túbulo seminífero normal com espermatozoides na luz tubular, HE, 400 x. Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.

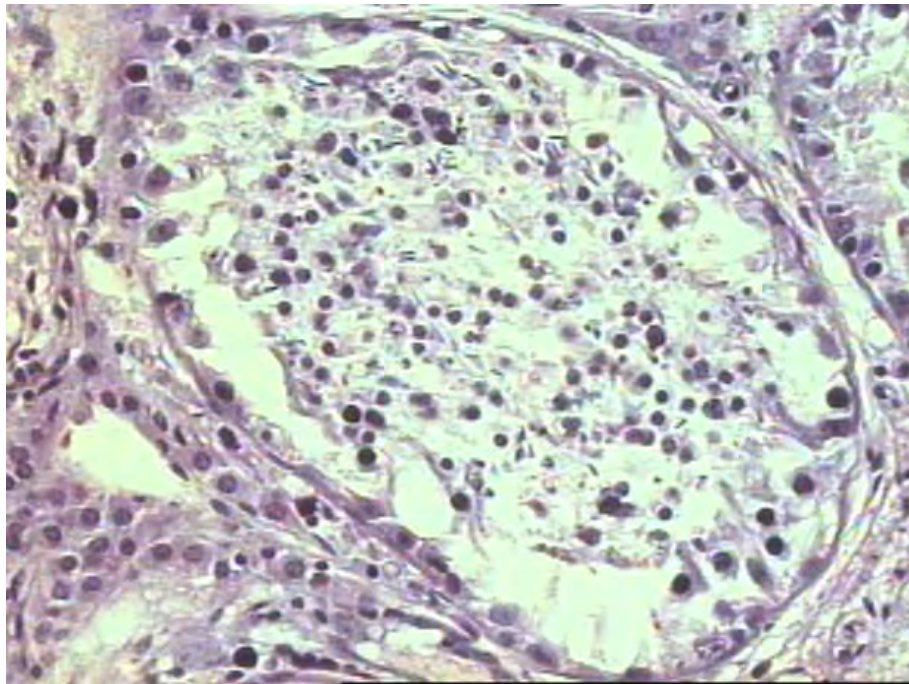


FIGURA 6. Fotomicrografia testicular. Orquite bacteriana. Notam-se infiltrado inflamatório mononuclear intratubular. (HE, 400 x). Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.

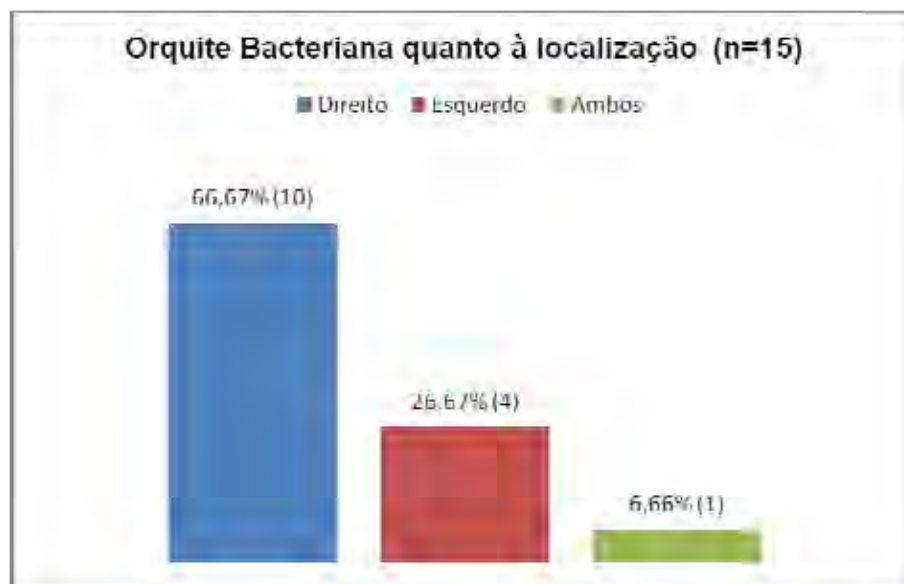


FIGURA 7. Representação gráfica (% n) da orquite bacteriana em relação ao testículo acometido. Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.

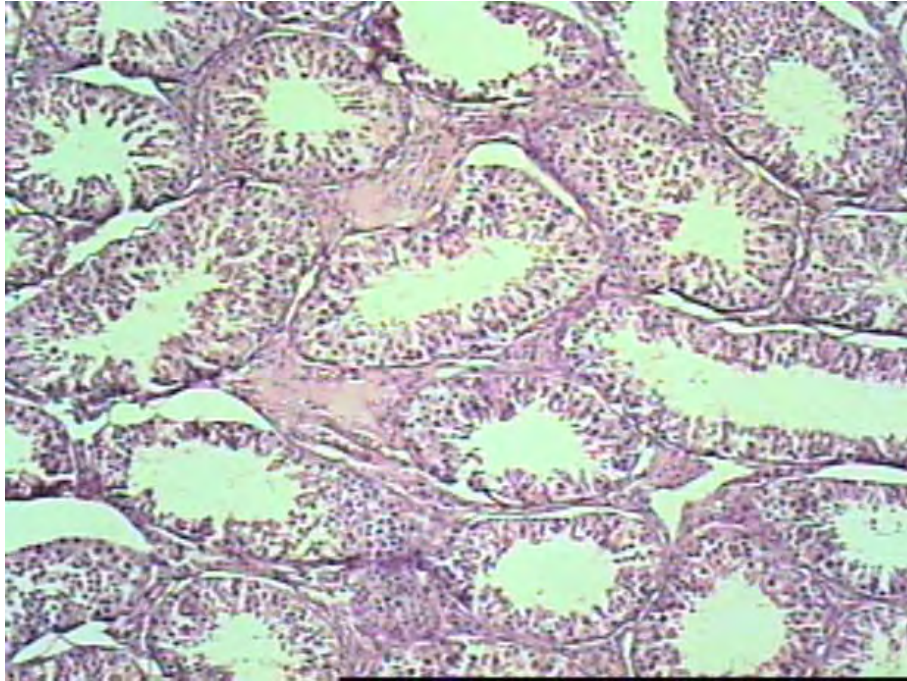


FIGURA 8: Fotomicrografia testicular. Degeneração Testicular. Notam-se irregularidade no contorno tubular, diminuição do epitélio germinativo e ausência de espermatozoides. (HE, 200 x). Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.

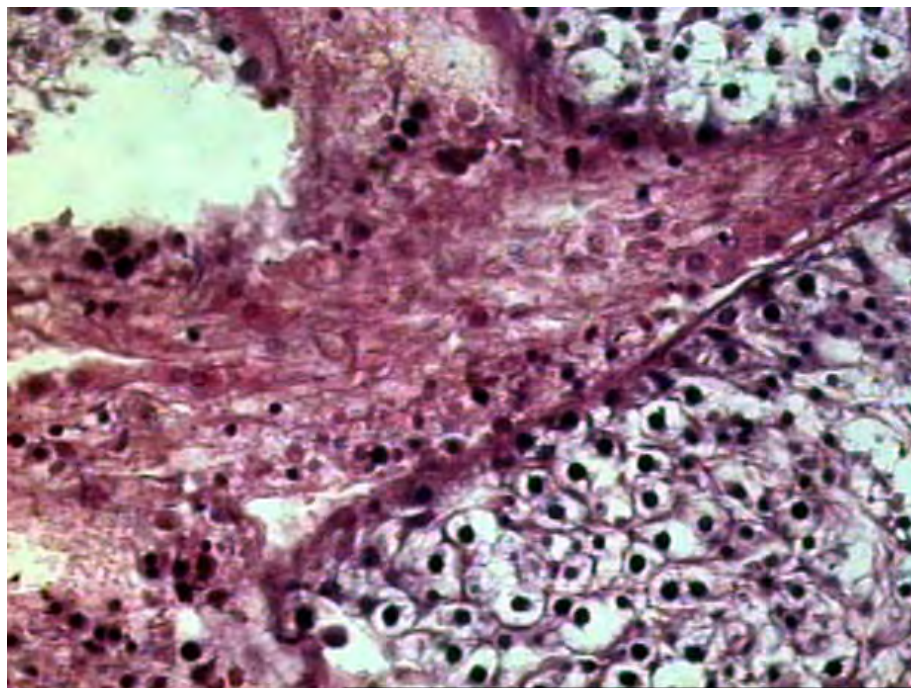


FIGURA 9: Fotomicrografia testicular. Orquite inespecífica. Notam-se a presença de células mononucleares e edema intersticial, além de processo degenerativo das espermatogônias. (HE, 400 x). Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.

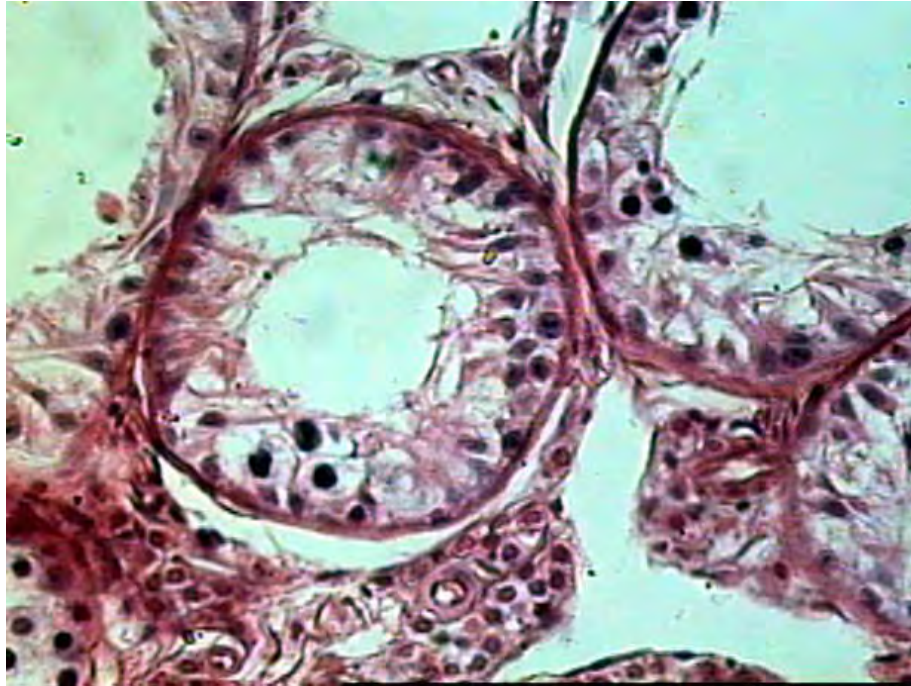


FIGURA 10. Fotomicrografia testicular. Hipoplasia testicular discreta. Nota-se o espessamento da membrana basal, predominância de células de Sertoli e raras espermatogônias. (HE 400 x). Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. 2006.

5.2. CARACTERÍSTICAS SEMINAIS

As características seminais obtidas em três coletas nos diferentes grupos (Normal, Hipoplasia, Degeneração, Orquite inespecífica e Orquite bacteriana) com intervalos de 15 dias entre uma e outra estão elucidadas nas Tabelas 4, 5 e 6. As características seminais na primeira coleta não apresentaram significância ($p > 0,05$) entre os grupos. Na segunda coleta constataram-se diferenças significativas ($p < 0,05$) somente no turbilhonamento, em que os animais com orquite inespecífica com $23,25 \pm 5,33$ (média ordenada \pm erro padrão) apresentaram diferença significativa com o grupo de animais com hipoplasia com $28,28 \pm 7,24$ de turbilhonamento.

Na terceira coleta, diferenças significativas ($p < 0,05$) foram observadas tanto na cinética quanto na morfologia espermática. A motilidade espermática no grupo de animais com orquite inespecífica diferiu ($p < 0,05$) do grupo normal. Quanto ao vigor espermático, animais com hipoplasia e degeneração com vigor de $19,78 \pm 4,95$ e $21,95 \pm 4,40$, respectivamente, diferiram ($p < 0,05$) dos animais

normais com vigor de $36,19 \pm 3,00$. O Turbilhonamento dos animais normais na terceira coleta foi de $32,88 \pm 3,64$ e apresentou significância ($p < 0,05$) com os grupos: degeneração, orquite inespecífica e orquite bacteriana com turbilhonamento de $27,20 \pm 3,37$; $24,60 \pm 4,45$ e $22,92 \pm 4,03$, respectivamente. O grupo de animais com hipoplasia, com turbilhonamento de $26,78 \pm 6,84$, não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$) com os demais grupos.

No que se refere à morfologia espermática, diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos foram evidenciadas em espermatozóides normais, defeitos de cabeça, defeitos de acrossomo e fragmentação nuclear. Estas características seminais estão representadas na Figura 11.

No que concerne às classificações dos animais em aptos ou inaptos para reprodução, as frequências estão descritas na Tabela 8. Dentre os animais avaliados, 25 (44,64%) foram considerados aptos e 31 (55,36%) inaptos. A Tabela 9 ilustra as médias ordenadas (\pm erro padrão) das classificações em cada grupo. O grupo de animais normais diferiu ($p < 0,05$) dos demais grupos. Os grupos hipoplasia, degeneração e orquite bacteriana não apresentaram diferença entre si ($p > 0,05$), bem como não foi observada significância entre os grupos degeneração e orquite inespecífica.

TABELA 4. Médias (\pm erro padrão) das características seminais nos diferentes grupos (Norm = testículos normais; Hip = hipoplasia testicular; Deg = degeneração testicular; Orq = orquite inespecífica e OrqBac = orquite bacteriana) na primeira coleta.

Característica Seminal	Grupos				
	Norm (n=14)	Hip (n=7)	Deg (n=10)	Orq (n=10)	OrqBac (n=15)
Motilidade (%)	49,00 \pm 6,33 ^a	50,00 \pm 11,13 ^a	32,00 \pm 9,16 ^a	35,00 \pm 9,34 ^a	42,30 \pm 8,48 ^a
Vigor (0 -5)*	30,67 \pm 3,47 ^a	32,35 \pm 7,02 ^a	21,01 \pm 4,54 ^a	24,60 \pm 5,31 ^a	28,65 \pm 4,03 ^a
Turbilhonamento (0 - 5)*	27,28 \pm 3,59 ^a	36,14 \pm 5,54 ^a	27,25 \pm 4,54 ^a	21,60 \pm 3,53 ^a	27,80 \pm 4,23 ^a
Morfologia (%)					
Normais	82,79 \pm 4,90 ^a	71,35 \pm 8,71 ^a	57,71 \pm 9,99 ^a	65,31 \pm 13,28 ^a	63,00 \pm 6,77 ^a
Def. cabeça	4,16 \pm 1,20 ^a	3,38 \pm 0,80 ^a	3,78 \pm 1,50 ^a	5,42 \pm 3,46 ^a	10,00 \pm 2,51 ^a
Def. Acrossomo	0,41 \pm 0,13 ^a	0,50 \pm 0,28 ^a	0,71 \pm 0,26 ^a	1,07 \pm 0,99 ^a	1,29 \pm 0,44 ^a
Def. P.I.	1,29 \pm 0,44 ^a	0,78 \pm 0,40 ^a	0,57 \pm 0,23 ^a	3,07 \pm 1,93 ^a	1,96 \pm 0,65 ^a
G.C.P.	0,08 \pm 0,05 ^a	0,43 \pm 0,42 ^a	0,28 \pm 0,28 ^a	0,21 \pm 0,21 ^a	0,79 \pm 0,55 ^a
Def. Cauda	1,75 \pm 0,72 ^a	3,07 \pm 1,22 ^a	3,21 \pm 2,05 ^a	4,92 \pm 3,36 ^a	2,70 \pm 0,84 ^a
C.I.N	2,70 \pm 0,76 ^{ab}	2,50 \pm 0,60 ^{ab}	15,71 \pm 7,13 ^a	2,14 \pm 0,80 ^b	3,91 \pm 1,18 ^{ab}
F.N. ¹	6,79 \pm 3,78 ^a	18,07 \pm 8,85 ^a	18,00 \pm 5,08 ^a	8,50 \pm 5,61 ^a	16,33 \pm 3,56 ^a

Valores na mesma linha seguidos por letras diferentes ^(a,b) diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$); * Médias ordenadas; ¹ estimado pelo método de Feulgen.

TABELA 5. Médias (\pm erro padrão) das características seminais nos diferentes grupos (**Norm** = testículos normais; **Hip** = hipoplasia testicular; **Deg** = degeneração testicular; **Orq** = orquite inespecífica e **OrqBac** = orquite bacteriana) na segunda coleta.

Característica Seminal	Grupos				
	Norm (n=14)	Hip (n=7)	Deg (n=10)	Orq (n=10)	OrqBac (n=15)
Motilidade (%)	72,86 \pm 3,04 ^a	64,28 \pm 5,71 ^a	50,00 \pm 7,60 ^a	52,00 \pm 11,49 ^a	45,71 \pm 7,16 ^a
Vigor (0 - 5)*	31,89 \pm 4,00 ^a	31,78 \pm 5,37 ^a	23,55 \pm 3,84 ^a	22,15 \pm 5,99 ^a	27,61 \pm 4,03 ^a
Turbilhonamento (0 - 5) *	37,89 \pm 2,70 ^{ab}	28,28 \pm 7,24 ^a	21,55 \pm 4,33 ^{ab}	23,25 \pm 5,33 ^b	23,73 \pm 3,98 ^{ab}
Morfologia (%)					
Normais	71,95 \pm 9,42 ^a	72,30 \pm 8,82 ^a	57,00 \pm 8,85 ^a	80,37 \pm 9,57 ^a	69,20 \pm 8,42 ^a
Def. cabeça	3,70 \pm 1,62 ^a	3,90 \pm 1,75 ^a	3,22 \pm 0,71 ^a	2,75 \pm 1,18 ^a	3,25 \pm 0,71 ^a
Def. Acrossomo	0,50 \pm 0,16 ^a	0,20 \pm 0,12 ^a	2,22 \pm 0,85 ^b	0,37 \pm 0,24 ^a	0,87 \pm 0,39 ^a
Def. P.I.	1,75 \pm 0,42 ^a	0,70 \pm 0,25 ^a	2,38 \pm 0,69 ^a	3,12 \pm 1,50 ^a	2,33 \pm 0,75 ^a
G.C.P.	0,25 \pm 0,17 ^a	0,40 \pm 0,40 ^a	0,83 \pm 0,55 ^a	1,00 \pm 0,70 ^a	0,37 \pm 0,23 ^a
Def. Cauda	0,80 \pm 0,18 ^a	2,80 \pm 1,61 ^a	5,55 \pm 4,26 ^a	0,75 \pm 0,47 ^a	4,62 \pm 3,22 ^a
C.I.N	2,85 \pm 1,45 ^a	4,10 \pm 2,71 ^a	10,33 \pm 5,82 ^a	9,25 \pm 6,66 ^a	3,41 \pm 2,31 ^a
F.N. ¹	8,20 \pm 3,98 ^a	15,60 \pm 8,92 ^a	7,33 \pm 3,43 ^a	2,37 \pm 1,24 ^a	7,58 \pm 3,75 ^a

Valores na mesma linha seguidos por letras diferentes ^(a,b) diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$); * Médias ordenadas; ¹ estimado pelo método de *Feulgen*.

TABELA 6. Médias (\pm erro padrão) das características seminais nos diferentes grupos (**Norm** = testículos normais; **Hip** = hipoplasia testicular; **Deg** = degeneração testicular; **Orq** = orquite inespecífica e **OrqBac** = orquite bacteriana) na terceira coleta.

Característica Seminal	Grupos				
	Norm (n=14)	Hip (n=7)	Deg (n=10)	Orq (n=10)	OrqBac (n=15)
Motilidade (%)	72,31 \pm 4,95 ^a	44,28 \pm 10,88 ^{ab}	46,00 \pm 9,56 ^{ab}	44,00 \pm 11,07 ^b	59,28 \pm 7,06 ^{ab}
Vigor (0 - 5)*	36,19 \pm 3,00 ^a	19,78 \pm 4,95 ^b	21,95 \pm 4,40 ^b	25,30 \pm 6,10 ^{ab}	26,88 \pm 3,69 ^{ab}
Turbilhonamento (0 - 5)*	32,88 \pm 3,64 ^a	26,78 \pm 6,84 ^{ab}	27,20 \pm 3,37 ^b	24,60 \pm 4,45 ^b	22,92 \pm 4,03 ^b
Morfologia (%)					
Normais	86,11 \pm 1,28 ^a	77,50 \pm 6,61 ^a	57,00 \pm 15,02 ^{bc}	48,75 \pm 11,19 ^c	74,35 \pm 3,66 ^{ab}
Def. cabeça	3,61 \pm 0,68 ^a	5,87 \pm 2,08 ^a	2,87 \pm 1,04 ^{ab}	5,87 \pm 1,39 ^b	5,95 \pm 1,31 ^{ab}
Def. Acrossomo	0,96 \pm 0,46 ^{ab}	0,62 \pm 0,23 ^b	1,25 \pm 0,75 ^a	0,37 \pm 0,23 ^b	0,70 \pm 0,35 ^{ab}
Def. P.I.	1,88 \pm 0,48 ^a	2,37 \pm 0,89 ^a	1,75 \pm 0,75 ^a	11,37 \pm 4,80 ^a	2,95 \pm 0,87 ^a
G.C.P.	0,19 \pm 0,15 ^a	1,25 \pm 1,25 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a	0,45 \pm 0,39 ^a
Def. Cauda	2,07 \pm 0,70 ^a	3,00 \pm 1,24 ^a	1,63 \pm 0,85 ^a	12,50 \pm 10,19 ^a	4,85 \pm 2,83 ^a
C.I.N	3,03 \pm 0,74 ^a	4,87 \pm 1,89 ^a	6,62 \pm 3,15 ^a	13,37 \pm 4,91 ^a	4,10 \pm 1,84 ^a
F.N. ¹	2,11 \pm 0,75 ^{ab}	4,50 \pm 1,62 ^a	28,87 \pm 17,92 ^{ab}	7,50 \pm 4,66 ^b	6,65 \pm 2,33 ^{ab}

Valores na mesma linha seguidos por letras diferentes ^(a,b) diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$); * Médias ordenadas; ¹ estimado pelo método de *Feulgen*.

TABELA 7. Freqüências (N/%) de animais classificados como aptos e inaptos para reprodução de acordo com as alterações observadas.

Grupos	Total	Classificação	
		Aptos	Inaptos
Normal	14/25,00%	14/100%	0/0,00%
Hipoplasia	7/12,50%	3/42,87%	4/57,13%
Degeneração	10/17,86%	2/20,0%	8/80,0%
Orquite Inespecífica	10/17,86%	0/0,0%	10/100%
Orquite Bacteriana	15/26,79%	6/40,0%	9/60,0%
Total	56/100%	25/44,64%	31/55,36%

TABELA 8. Ordenação média da classificação dos animais em aptos ou inaptos para reprodução.

Grupos	Médias ordenadas (± erro padrão)
Normal (n=14)	13,00±0,00 ^a
Hipoplasia (n=7)	29,00±5,65 ^b
Degeneração (n=10)	35,40±3,73 ^{bc}
Orquite inespecífica (n=10)	41,00±0,00 ^c
Orquite Bacteriana (n=15)	29,80±3,66 ^b

Valores na mesma linha seguidos por letras diferentes (a, b, c) diferem entre si pelo teste T ($p < 0,05$).



FIGURA 11. Fotomicrografia de esfregaço de sêmen. (a) Fragmentação nuclear; (b) Defeito de cabeça com base estreita (piriforme) e gota citoplasmática proximal; (c) Defeito de acrossomo, contorno anormal. (Coloração de *Feulgen* 1000x).

5.3. Avaliação Biométrica

Os valores obtidos nas mensurações testiculares: Perímetro escrotal, larguras dos testículos direito e esquerdo e comprimento dos testículos direito e esquerdo, nos grupos: Normal, Hipoplasia, Degeneração, Orquite inespecífica e Orquite bacteriana estão representados na Tabela 9.

TABELA 9. Médias (\pm desvio padrão) das mensurações testiculares nos diferentes grupos (**Norm** = testículos normais; **Hip** = hipoplasia testicular; **Deg** = degeneração testicular; **Orq** = orquite inespecífica e **OrqBac** = orquite bacteriana).

Mensurações (cm)	Grupos				
	Norm (n=14)	Hip (n=7)	Deg (n=10)	Orq (n=10)	OrqBac (n=15)
Perímetro Escrotal	32,00 \pm 1,03 ^a	32,14 \pm 1,57 ^a	32,20 \pm 1,87 ^a	31,80 \pm 1,23 ^a	31,57 \pm 1,34 ^a
Largura TD	5,83 \pm 0,26 ^a	5,68 \pm 0,44 ^a	5,89 \pm 0,64 ^a	5,81 \pm 1,23 ^a	5,73 \pm 0,44 ^a
Comprimento TD	9,60 \pm 1,26 ^a	9,58 \pm 0,97 ^a	10,66 \pm 1,05 ^a	10,69 \pm 0,83 ^a	9,71 \pm 0,88 ^a
Largura TE	5,71 \pm 0,39 ^a	5,72 \pm 0,32 ^a	5,67 \pm 0,62 ^a	5,78 \pm 0,35 ^a	5,63 \pm 0,43 ^a
Comprimento TE	9,61 \pm 1,12 ^a	9,80 \pm 1,20 ^a	10,55 \pm 1,01 ^a	10,57 \pm 0,94 ^a	9,78 \pm 0,85 ^a

Médias na mesma linha seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p > 0,05$).

5.4. Avaliação Morfométrica

Os percentuais dos componentes teciduais dos testículos (túbulo, lúmen, epitélio germinativo, células de Leydig e estroma) obtidos nas análises histomorfométricas dos diferentes grupos (normal, hipoplasia, degeneração, orquite inespecífica e orquite bacteriana) estão representados na Tabela 10.

Os percentuais de área de túbulo, área de lúmen e área de estroma não apresentaram significância ($p > 0,05$) entre os grupos, entretanto, o percentual na área de células de Leydig apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o grupo de animais normais e animais com orquite inespecífica, $3,72 \pm 0,22$ e $4,61 \pm 0,2$, respectivamente. Diferenças significativas foram evidenciadas no percentual de área de epitélio germinativo, em que os animais com orquite inespecífica apresentaram percentual médio inferior aos demais grupos.

TABELA 10. Médias (\pm erro padrão) dos percentuais dos componentes teciduais dos testículos diferentes grupos (**Norm** = testículos normais; **Hip** = hipoplasia testicular; **Deg** = degeneração testicular; **Orq** = orquite inespecífica e **OrqBac** = orquite bacteriana).

Componentes teciduais (%)	Grupos				
	Norm (n=14)	Hip (n=7)	Deg (n=10)	Orq (n=10)	OrqBac (n=15)
Túbulo	76,38 \pm 0,87 ^a	76,08 \pm 1,22 ^a	76,23 \pm 0,99 ^a	74,37 \pm 1,23 ^a	77,32 \pm 0,92 ^a
Lúmen	23,06 \pm 0,69 ^a	23,55 \pm 0,96 ^a	22,79 \pm 0,67 ^a	24,80 \pm 0,90 ^a	24,46 \pm 0,66 ^a
Epitélio Seminífero*	53,32 \pm 0,71 ^a	52,53 \pm 1,19 ^a	53,44 \pm 0,92 ^a	49,57 \pm 0,92 ^b	52,85 \pm 0,85 ^a
Células de Leydig	3,72 \pm 0,22 ^a	4,17 \pm 0,39 ^{ab}	4,42 \pm 0,31 ^{ab}	4,61 \pm 0,27 ^b	3,81 \pm 0,16 ^{ab}
Estroma	19,88 \pm 0,88 ^a	19,73 \pm 1,19 ^a	19,34 \pm 0,92 ^a	21,00 \pm 1,19 ^a	18,86 \pm 0,90 ^a

Médias na mesma linha seguidas por letras diferentes ^(a, b) diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$); * Epitélio seminífero = túbulo – lúmen

6. DISCUSSÃO

6.1 ALTERAÇÕES TESTICULARES

No estudo que se expõe, constatou-se que alterações testiculares em bovinos com idade reprodutiva são freqüentes quando avaliados por histopatologia, como visto na Tabela 2. A afecção observada com maior freqüência foi a orquite bacteriana, encontrada em 15 (26,86%) dos 56 touros avaliados. Este dado não condiz com os relatos de Maia (1979) e Goiozo et al. (2005) que constataram a degeneração testicular como a afecção mais freqüente. Nos animais com diagnóstico de orquite bacteriana, observou-se que todos apresentavam infiltrado inflamatório mononuclear tanto intratubular quanto intersticial, e degeneração testicular, o que corrobora com as afirmações de Camp (1997), quando relata que animais com orquite apresentam, invariavelmente, degeneração testicular conseqüente ao aumento da temperatura no órgão.

No que concerne aos agentes isolados nos testículos, os mais comuns encontrados em bovinos são: *Brucella abortus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Actinomyces pyogenes*, *Nocardia farcinica*, (SMITH, 1994; CAMP 1997; ACLAND, 1999; JONES et al., 2000; NASCIMENTO e SANTOS; 2003). No presente estudo, dos agentes supracitados identificou-se somente o *Actinomyces spp.* em 2 (13,00%) dos 15 touros que apresentaram orquite

bacteriana. Os demais agentes; *Cândida spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus spp.* e *Streptococcus spp.* não são descritos na literatura como clássicos causadores de orquite.

A degeneração testicular, embora encontrada em menor frequência, foi evidenciada em 10 (17,86%) animais, um percentual inferior aos detectados por Maia (1979) e Goiozo et al. (2005) que observaram esta afecção em 42,66% e 54,10% ,respectivamente, quando avaliaram histologicamente os testículos de touros. As características morfológicas encontradas nos animais com degeneração testicular foram vacuolização citoplasmática nas espermatogônias, hialinização da membrana basal, ausência de atividade mitótica e a presença de raros espermatozoides em alguns túbulos seminíferos, resultados estes condizentes com as afirmações de Blanchard (1991), Ladds (1993), Camp (1997), Acland (1998), Nascimento e Santos (2003).

A orquite inespecífica foi constatada em 10 (17,86%) animais. Resultados inferiores aos encontrados por Goiozo et al. (2005), que reportam a incidência de 29,5% em touros Nelore. Os achados histopatológicos foram semelhantes aos descritos por Acland (1998), ou seja, infiltrado inflamatório mononuclear com predominância de linfócitos.

Dos touros avaliados, sete (12,50%) apresentaram hipoplasia testicular, percentuais superiores aos descritos por Maia (1979), Oashi et al (1988) e Ladds (1993), 1,33%, 1,1% e 0,5%, respectivamente, e inferiores aos 15% relatados por Goiozo et al.(2005). Quanto a localização, todos os casos foram identificados no testículo esquerdo, corroborando com Ladds (1993) e Steffen (1997). No que concerne às características morfológicas, todos os animais apresentaram hipoplasia discreta, com menos de 5% de túbulos lineados por células de Sertoli com raras espermatogônias sem atividade mitótica. Estes aspectos morfológicos são condizentes com os descritos por Ladds (1993), Steffen, (1997), Acland (1998) e Nascimento e Santos (2003).

6.2. CARACTERÍSTICAS SEMINAIS

Segundo Brinsko (1999), o reflexo de um dano testicular nas características seminais em um touro pode variar de poucos dias até dois meses, por outro lado, Fernandes (2005) constatou diminuição na qualidade seminal após 14 dias da indução do processo degenerativo. No presente estudo, diferenças significativas nas características seminais entre os grupos foram evidenciadas somente na terceira coleta como ilustrado na Tabela 6, este fato pode ser explicado devido à determinação dos grupos, ter sido realizada por meio de análises histopatológicas de amostra de testículos coletadas no mesmo período da terceira coleta, como os intervalos entre as coletas foram de 15 dias, pode-se dizer que as características morfológicas demonstradas nos cortes histológicos refletem somente as características seminais da terceira coleta.

Foot (2003) ressalta que a avaliação da motilidade é um método amplamente utilizado na avaliação de touros por ser rápida e altamente correlacionada com a fertilidade. Segundo Parkinson (2004), um touro em condições extensivas é considerado apto para reprodução quando apresentar motilidade superior a 30% e mais de 70% de espermatozóides normais no ejaculado. No presente estudo, a média da motilidade de animais com orquite inespecífica ($44,00 \pm 11,07\%$), diferiu dos animais normais ($72,31 \pm 4,95\%$), e não apresentou significância aos demais grupos. Com exceção do grupo dos animais normais, os demais grupos apresentaram percentuais médios de motilidade semelhantes aos valores encontrados por Fernandes (2005), após ter induzido processo degenerativo por meio de insulação em touros Nelore e constatou que a motilidade decresce após 14 dias do início do processo, com média ajustada de $50,0 \pm 3,91\%$. Nos animais com orquite bacteriana o percentual de motilidade ($59,28 \pm 7,06$) foi maior que os grupos hipoplasia, degeneração e orquite inespecífica, provavelmente devido à predominância unilateral da afecção. Camp (1997) descreve que, dentre outras alterações, a motilidade progressiva decresce com o aumento das anormalidades

espermáticas em animais com degeneração testicular, como observado no presente estudo.

Os percentuais de espermatozóides normais presentes nos ejaculados de animais normais, com hipoplasia testicular e orquite bacteriana foram: $86,11 \pm 1,28\%$; $77,50 \pm 6,61\%$ e $74,35 \pm 3,66\%$, respectivamente. Considerando as descrições de Parkinson (2004) e seguindo as recomendações do Colégio Brasileiro de Reprodução animal (1998), os animais com hipoplasia e orquite bacteriana são considerados aptos para reprodução, no presente estudo. No caso da hipoplasia testicular, os resultados já eram previstos, pois, segundo Steffen (1997) e Nascimento e Santos (2003), touros com hipoplasia testicular discreta e unilateral apresentam características seminais dentro dos padrões aceitáveis. Quanto à orquite bacteriana, os dados do presente estudo nos permitem concluir que se trata de afecções com evolução recente, visto que, em todos os testículos acometidos pode-se constatar infiltrado inflamatório, descartando a possibilidade de contaminação da amostra, e o fato destes animais não apresentarem diferenças significativas no perfil seminal, deve-se a presença de espermatozóides armazenados nos epidídimos ou em outros segmentos extra-gonadais (Fernandes, 2005).

Os animais com degeneração testicular e orquite inespecífica, diferiram estatisticamente dos animais normais e com hipoplasia, e apresentaram percentuais de espermatozóides normais inferiores aos padrões aceitáveis (Parkinson, 2004 e CBRA, 1998) e similaridade aos animais com orquite bacteriana. Estes resultados também eram antevistos, visto que animais com degeneração testicular apresentam aumento nas anomalias espermáticas de acordo com a severidade do processo e animais com orquite apresentam invariavelmente degeneração testicular (Camp, 1997).

No que se refere aos percentuais de defeitos morfológicos, diferenças significativas foram encontradas em defeitos de cabeça, defeitos de acrosomo e fragmentação nuclear. Os defeitos de cabeça e fragmentação nuclear apresentaram similaridades entre os grupos: degeneração, orquite inespecífica e orquite bacteriana. Resultados estes, semelhantes aos evidenciados por Fernandes (2005) que explica que o contorno e a forma da cabeça espermática estão diretamente associados à estrutura da cromatina nuclear, sugerindo que as espermátides compõem a categoria de células do epitélio germinativo que

são mais susceptíveis ao estresse térmico. As evidências encontradas nestes grupos distintos no presente estudo, aliado às explicações de Fernandes (2005), indicam um aumento da temperatura intra-testicular culminado com quadros degenerativos, quer seja secundários aos processos inflamatórios como nos casos de orquite inespecífica ou orquite bacteriana, ou por fatores ambientais (Blanchard, 1991; Ladds, 1993; Camp, 1997 e Acland, 1998). Desta forma, com os resultados obtidos em nosso estudo, podemos sugerir que os quadros degenerativos encontrados nos animais, que não apresentaram processos inflamatórios, são decorrentes ao estresse térmico causado pela alta temperatura ambiente, que segundo Blanchard (1991), se caracteriza como uma das principais causas deste processo.

No que concerne aos defeitos de acrossomo, os animais com degeneração testicular diferiram dos animais com hipoplasia testicular e orquite inespecífica, e apresentaram similaridades com os demais grupos. Estes resultados devem-se à grande variação entre um animal e outro, não apresentando um padrão específico em um determinado grupo, entretanto, o aparecimento deste defeito na análise de um touro deve ser analisado com cautela, pois além de poder ter origem genética, os defeitos de acrossomo estão altamente correlacionados com casos de infertilidade, devido à incapacidade de penetrar a zona pelúcida (Johnson, 1997; Parkinson, 2004).

É consenso entre veterinários que atuam na avaliação andrológica de touros que o animal deve atingir padrões mínimos de qualidade seminal. Normalmente, um animal está apto à reprodução quando apresentar motilidade espermática superior a 30%, mais de 70% de espermatozóides normais e perímetro escrotal compatível com a raça e idade (Parkinson, 2004). Seguindo estes parâmetros, 55,36% dos animais avaliados no estudo em pauta foram considerados inaptos, percentual superior aos descritos por Encarnação e Sereno (2002), quando descrevem que pelo menos 30% dos touros utilizados em monta natural apresentam problemas de fertilidade.

Todos os animais que não apresentaram alterações no exame histopatológico (grupo normal) foram considerados aptos e diferiram estatisticamente os demais grupos. Em contra partida, animais com orquite inespecífica apresentaram 100% de reprovação, tal fato pode ser explicado devido à degeneração testicular conseqüente ao processo inflamatório.

Animais com degeneração, o percentual reprovado superou os aprovados, 80,0% contra 20,0%, evidenciando a incapacidade de manter o processo espermatogênico frente a esta afecção, corroborando com Brito et al. (2003); Kastelic et al. (1997); Vogler et al. (1993); Fonseca e Chow, (1995); Parkinson, (2004); Camp, (1997); Rote et al. (1995).

Quanto a hipoplasia testicular, observou-se similaridade entre aptos e inaptos, estes resultados confirma a dificuldade de diagnosticar a afecção pela análise seminal, pois como descreve Steffen, (1997); Nascimento e Santos (2003), a espermatogênese se mantém dentro dos padrões normais nestes casos.

6.3. Avaliação Biométrica

O perímetro escrotal (P.E.) tem sido amplamente utilizado na seleção de touros por ser um excelente indicador do tamanho testicular, da capacidade de produção espermática, das características físico-químicas, da idade à puberdade e também da capacidade de fertilização (Coulter e Keller, 1982; Toelle e Robison, 1985; Alencar et al., 1993; Silva et al., 1993; Arias e Slobodzian, 1998 e Gressler et al., 1998). Além de ser de fácil mensuração Cyrillo et al. (2001) citam que o P.E. apresenta herdabilidade de 0,54 e 0,44, e alta repetibilidade, indicando o potencial do P.E. na seleção de touros. No presente estudo, os valores obtidos nas mensurações testiculares não apresentaram diferenças significativas entre os grupos ($p > 0,05$), evidenciando a importância de outros métodos de avaliação. Segundo Ladds (1993), além das qualidades descritas acima, a mensuração do perímetro escrotal torna-se útil na identificação de animais com hipoplasia testicular, mas como visto nos resultados obtidos no presente estudo, este método não foi capaz de identificar esta lesão, corroborando com Steffen, (1997); Goiozo et al. (2003) e Nascimento e Santos (2003), que afirmam que não há redução no perímetro escrotal em animais com hipoplasia testicular discreta.

6.4. Avaliação Morfométrica

Como ilustrado na Tabela 10, os percentuais de área de túbulo, área de lúmen e área de estroma não apresentaram significância entre os grupos, entretanto, animais com orquite inespecífica apresentaram área de epitélio germinativo inferior aos demais grupos. França et al. (2000) avaliaram os efeitos do Cimetidine em ratos e constataram uma redução do epitélio germinativo testicular devido à degeneração testicular ocasionada por este fármaco. No presente estudo, não foi possível identificar a causa da orquite inespecífica, entretanto, pode-se observar que concomitantemente a este processo, os testículos entram em um quadro de degeneração e conseqüentemente, os animais apresentam redução no epitélio seminífero.

Rao Veeramachaneni et al. (1986), descreveram que túbulos seminíferos de animais com degeneração testicular, apresentaram diferença de acordo com a severidade do processo degenerativo. Estes autores acrescentam que o tamanho dos túbulos possuem alta correlação com o tamanho testicular, com as características físicas e morfológicas do sêmen. De acordo com os resultados obtidos em nosso estudo, podemos afirmar que as diferenças estão no epitélio seminífero e não nos túbulos, contradizendo as citações destes autores.

Ladds (1993) cita que em casos de hipoplasia testicular há uma redução no diâmetro dos túbulos seminíferos, fato este não observado nos animais avaliados no estudo em questão, este fato pode ter se dado pelo número reduzido de túbulos hipoplásicos e pelas mensurações terem sido feitas em todos os túbulos, não discriminando entre hipoplásicos, degenerados e normais.

Diferenças foram evidenciadas também no percentual médio de área de células de Leydig entre animais normais e com orquite inespecífica, em que os animais com processo inflamatório apresentaram um percentual de área de células de Leydig maior do que os animais normais. Rao Veeramachaneni et al. (1986), relatam que animais com degeneração testicular severa apresentam atrofia destas células. Uma hipótese a ser analisada neste caso é a tentativa

de recuperação da atividade espermatogênica, visto que este processo depende diretamente da testosterona excretada pelas células de Leydig (BRINSKO, 1999).

7. CONCLUSÕES

Nos moldes em que o estudo apresentado foi executado, podemos concluir que:

1. A incidência de alterações testiculares em touros da raça Nelore com idade reprodutiva criados em condições extensivas é alta, quando os testículos são avaliados por meio de histopatologia;

2. Dentre as afecções diagnosticadas, a orquite bacteriana é a mais freqüente em touros Nelore, seguida por degeneração testicular, orquite inespecífica e hipoplasia testicular;

3. Animais com hipoplasia testicular discreta unilateral não diferem de animais normais quanto às características seminais;

4. Dentre os defeitos morfológicos dos espermatozóides, os de cabeça espermática e a fragmentação nuclear apresentam percentuais elevados em quadros degenerativos.

5. Além da alta incidência de afecções, o percentual de animais inaptos para reprodução também é alto, totalizando 55,36% dos animais avaliados.

6. Não foram observadas diferenças significativas no perímetro escrotal entre os grupos, sinalizando que este método de avaliação é ineficaz para identificar animais com hipoplasia testicular discreta;

7. O percentual da área de epitélio germinativo decresce de acordo com a severidade do processo degenerativo;

8. O percentual médio de células de Leydig é maior em quadros degenerativos.

8. BIBLIOGRAFIA

ACLAND, H. M. Sistema reprodutor do macho. In: CARLTON, W. W. e McGAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thomsom**, 2 ed. Porto Alegre. Artmed, 1998. 671 p.

ADENIRAN, G. A., AKPAVIE, S. O., OKORO, H. O. Generalised tuberculosis with orchitis in the bull. **The Veterinary Record**, v. 131, p. 395 – 396, 1992.

AGUIAR, D. M.; RIBEIRO, M. G.; BRITO, A. F.; PESSOA, V. M. Soroaglutinação, sêmen plasma aglutinação e exame andrológico no diagnóstico da brucelose em machos bovinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 68, n. 2, p. 103 – 105, 2001.

ALENCAR , M. M.; BARBOSA P. F.; BARBOSA, R. T.; Parâmetros genéticos para peso e circunferência escrotal em touros da raça Canchim. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. v. 22, n. 4, p. 572 – 583, 1993.

ARIAS, A.; SLOBODZIAM, A. Análisis de los datos de los registros de la raza Nelore de Paraguay. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE PRODUCCIÓN DE CARNE, 1, 1998, Mariano R. Alonso. **Proceedings...** Asunción: APCN/BURSAL/DBO Sul, 1998. p. 51 – 94

BACHA Jr., W. J. e WOOD, L. M. **Color atlas of veterinary histology**. Hong Kong Williams & Wilkins, 1990. p. 189 – 206.

BAILEY, T. L.; HUDSON, R. S.; POWE, T. A. Caliper and ultrasonographic measurements of bovine testicles and mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo. **Theriogenology**, v. 49, n. 10, p. 581 – 598. 1998.

BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**, 2ª ed, São Paulo: Manole, 1992, 629p.

BARTH, A. D.; OKO, R. J. **Abnormal morphology of bovine spermatozoa.** Iowa State University Press. Ames, Iowa. 285 p. 1989.

BEHMER, O. A. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica.** São Paulo: Edart, 1976

BERGMANN, J. A. G.; ZAMBORLINI, L. C.; PROCÓPIO, C. S. O.; ANDRADE, V. J.; VALE FILHO, V. R. Estimativas de parâmetros genéticos do perímetro escrotal e do peso corporal em animais da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte**, v. 48, p. 69-78, 1996.

BERNDTSON, W; FOOTE, R, H. Disruption of spermatogenesis in rabbits consuming ethylene glycol monomethylether. **Reproductive Toxicology**, v. 11, n. 1, p. 29 – 36. 1997.

BLANCHARD, T. L .; VARNER, D. D.; BRETZLAFF, K. N. ELMORE, R. G. The causes and pathologic changes of testicular degeneration in large animals, **Veterinary Medicine**, p. 531 – 536, 1991.

BRINSKO, S. P. Fisiologia reprodutiva do macho. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária.** 2 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 1999.

BRITO, L. F. C., SILVA, A. E. D. F., BARBOSA, R. T., UNANIAN, M. M., KASTELIC, J. P. Effects of scrotal insulation on sperm production, semen quality, and testicular echotexture in *bos indicus* and *bos indicus x bos taurus* bulls. **Animal Reproduction Science**, v. 79, p. 1 – 15. 2003.

CAMP, S. D. V. Common causes of infertility in the bull. **Veterinary Clinics of North América: Food animal Practice.** v.13, n. 2 p. 203 – 231,. 1997

CARDOSO, F. M.; GODINHO, H. P. Cycle of the seminiferous epithelium and its dutationin the Zebu *Bos indicus*. **Animal Reproduction. Science.** v. 5, p. 231 – 245, 1983.

CASTRO, A. C. S.; BERNDTSON, F. M.; CARDOSO, F. M. Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e sua aplicação em estudos da reprodução de mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v 21, n. 1, p. 25 – 34, 1997.

Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2 ed. Belo Horizonte. 49 p. 1998.

Confederação Nacional de Agricultura e Pecuária do Brasil. Pecuária de corte: exportações são recordes, mas produtor perde renda. Disponível no site: <http://www.cna.org.br/cna/publicacao/noticia.wsp?tmp.noticia=2367> , capturado in: 20/04/2004

CORRÊA, E. S.; EUCLIDES FILHO, K.; ALVES, R. G. O.; VIEIRA, A. **Desempenho reprodutivo em um sistema de produção de gado de corte**. Campo Grande, CNPGC – EMBRAPA. 33 p. 2001

COULTER, G. H.; KELLER, D. G. Scrotal circumference of young beef bulls; relationship to paired testes weight effect to breed, and predictability. **Canadian Journal Animal Science**. n. 63, p. 133 – 139, 1982.

CYRILLO, J.N.S.G.; RAZOOK, A.G.; FIGUEIREDO, L.A. Estimativa de tendências e parâmetros genéticos do peso padronizado aos 378 dias de idade, medidas corporais e perímetro escrotal de machos Nelore de Sertãozinho, SP. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.1, p.56-65, 2001

DYCE, K. M.; SACK, W. O. E WENSING, C. J. G. **Anatomia veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro. Ganabara e Koogan. 1997, 663 p.

ENCARNAÇÃO, R. O. e SERENO, J. R. B. Fertilidade do Touro. In: PELLEGRIN, A. O; LAGE, A. P.; VALLE, E. R.; SATURNINO, H. M.; SERENO, J. R. B.; NICODEMO, M. L. F.; DODE, M. A. N.; LEITE, R. C.; ENCARNAÇÃO, R. O. **Eficiência no manejo reprodutivo: sucesso para o rebanho de cria**. Campo Grande. CNPGC-EMBRAPA, 135 p. 2002.

FERNANDES, C. E. S. Perfil eletroforético, características estruturais e fertilidade *in vitro* do sêmen de touros Nelore submetidos à degeneração testicular por insulação. Botucatu, 2005, **Tese de Doutorado**, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2005.

FIELDS, M. J.; BURNS, W. C.; WARNICK, A. C. Age, season and breed effects on testicular volume and semen traits in young beef bulls. **Journal of Animal Science**. v. 48, n. 6, p. 1299 – 1304, 1979.

FONSECA, V. O.; CHOW, L. A. Características seminais de touros zebus com degeneração testicular transitória, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 47, n. 5. p. 707 – 716, 1995.

FOOTE, R. H. Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. **Animal Reproduction Science**, v. 7, p. 119 – 139, 2003.

FRANCA, L. R.; BECKER-SILVA, S.C.; CHIARINI-GARCIA, H. The length of the cycle of seminiferous epithelium in goats (*Capra hircus*). **Tissue and Cell**, v. 31, n. 3, p. 274 – 280. 1999.

FRANÇA, L. R.; LEAL, M. C.; SASSO-CERRI, E.; VASCONCELOS, A. DEBELJUK, L. RUSSELL, L. D. Cimetidine (Tagamet) is a reproductive toxicant in male rats affecting peritubular cells. **Biology of Reproduction**, v. 63, p. 1403–1412, 2000.

GABALDI, S. H.; DEFINE, R. M.; BARROS, C. Q. M.; MASCARO, K. KASTELIC, J. P.; ROSA, G. J. M. Efeitos da elevação da temperatura testicular nas características espermáticas em touros Nelore. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**., v. 23, n. 3, p. 220 – 222, 1999.

GARCIA-GIL, N.; PINART, E.; SANCHO, S.; BADIA, E.; BASSOLS, J.; KADAR, E.; BRIZ, M.; BONET, S., The cycle of the seminiferous epithelium in Landrace boars. **Animal Reproduction Science**. v. 73, p. 211 – 225, 2002.

GARRITY, G.; BONNE, D. R.; CASTENHOLZ, R. W. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2 ed. Illus: Hardbound. 2001. 721 p.

GOIOZO, P. F. I.; Di SANTIS, G. W.; De LIMA, J. P.; LIMA, M. C.; LAUFER AMORIM, R.; BANDARRA, E. P.. Alterações testiculares em bovinos da raça nelore (*Bos taurus indicus*) criados no centro-oeste brasileiro. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília DF, v. 11, n. 34, p. 58-62, 2005(a).

GOIOZO, P. F. I.; PIRES, P. P.; PEREIRA, L. F.; PEREIRA, M. F.; AMARAL, T. B.; FERNANDES, C. E. S.; Di SANTIS, G. W. BANDARRA, E. P.. Perfil seminal e histopatologia testicular de touros da raça nelore (*Bos taurus indicus*) com orquite bacteriana. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte**, v. 57, n. supl. 1, p. 106-107, 2005(b).

GOIOZO, P.F.I; LIMA, J.P; DI SANTIS, G. W; BANDARRA, E.P; LIMA, M.C; BALIEIRO, J.C.C; ROSAS FILHO, A. C. Hipoplasia testicular (discreta e moderada) e sua correlação com o perímetro escrotal em bovinos da raça Nelore (*Bos taurus indicus*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.3, 2003.

GRESSLER, S. L.; BERGMANN, J. A.; PENNA, V. M. Estudo das associações genéticas entre o perímetro escrotal e características reprodutivas de fêmeas da raça Nelore. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. **Anais...** Viçosa: SBZ, 1998. v. 3, p. 368 – 370

GURAYA, S.S.; BILASPURI, G. S. Stages of seminiferous epithelial cycle and relative duration of spermatogenic processes in the buffalo (*Bos bubalus*). **Gegenbaurs Morphol Jahrb.**v. 122, n. 2, p. 147-61. 1976.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**, 6 ed. São Paulo. Malone, 1996.

HOSKEN, R. F. Anatomy and physiology of the bull's reproductive system. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. Athens – Georgia. v. 13, n 13, 1997.

JOHNSON, W. H. The significance to bull fertility of morphologically abnormal sperm. **Veterinary Clinics of North américa: Food animal Practice**. v.13, n. 2 p. 225 – 270,. 1997.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6.ed. São Paulo: Manole, 2000. 1415 p.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 9ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1999. 429p.

KASTELIC, J. P., COOK, R. B., COULTER, G. H. Scrotal / testicular thermoregulation and the effects of increased testicular temperature in the bull. **Veterinary Clinics of North américa: Food animal Practice**. v.13, n. 2 p. 271 – 281,. 1997

LADDS, P. W. The male genital sistem: in JUUB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. 4 ed. San Diego: Academic Press, 1993, V. 3, p. 485 - 512

LOVE, C.C.; KENNY R.M. The relationship of increased susceptibility of sperm DNA to denaturation and fertility in the stallion. **Theriogenology**, v.50, p.955-972, 1998.

LUNSTRA, D.D.; FORD, J.J.; ECHTERNKAMP, S.E. Puberty in beef bulls: hormone concentrations, growth, testicular development, sperm production and sexual aggressiveness in bulls of different breeds. **Journal of Animal Science**, v.46, n.4, p.1054-1062, 1978.

MAIA, P. C. Alterações testiculares e epididimárias em bovinos. Belo Horizonte -MG, 1979, **Tese de Mestrado em Patologia Veterinária** – Faculdade de Medicina Veterinária, UFMG, 1979.

MILLER DM, HRUDKA F, CATES WF, MAPLETOFT RJ. Infertility in a bull with a nuclear sperm defects: a case report. **Theriogenology** 1982;17:611-21.

NASCIMENTO, E. F e SANTOS, R. L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. 2 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2003,137 p.

NOGUEIRA, L. A.G.; PINTO, T. G.; ZAMBORLINI, L.; GILARDI, S.; CALDAS, M.; SOUZA, R. M. Características seminais de touros jovens nelore (*bos taurus indicus*) de acordo com a biometria e morfologia testicular. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, n. 2, p. 187 – 189, 2001.

OHASHI, O. M.; SOUSA, J. 5.; RIBEIRO, H. F. L.; VALE, W. G. Distúrbios reprodutivos em touros *Bos indicus*, *B. taurus* e mestiços criados em clima amazônico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n. 8, v. 2, p. 31 — 35, 1988

ORTIZ PEÑA, C. D.; QUEIROZ, S. A.; FRIES, L. A. Comparação entre os critérios de seleção de precocidade sexual e a associação destes com características de crescimento em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 1 p, 93 – 100, 2001.

PARKINSON, T. J. Evaluation of fertility and infertility in natural service bulls. **The Veterinary Journal**, v. 168, n. 3, p. 215 – 229, 2004.

RAO VEERAMACHANENI, D. N.; OTT, R. S.; HEATH, E. H.; McENTEE, K.; BOLT, D. J.; HIXON, J. E. Pathophysiology of small testes in beef bulls: Relationship between scrotal circumference, histopathologic features of the testes and epididymides, seminal characteristics, and endocrine profiles. **American Journal Veterinary Research**. v. 47, n. 9, p. 1988 – 1999. 1986.

RODE, L. M., COULTER, G. H., KASTELIC, J. P., BAILEY, R. C. Seminal quality and sperm production in beef bulls with chronic dietary vitamin a deficiency and subsequent re-alimentation. **Theriogenology**, v. 43, p. 1269 – 1277, 1995.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. - 2 ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia. 2002. 265 p.

SANTOS. J. A. **Patologia especial dos animais domésticos (mamíferos e aves)**. 2ed. Rio de Janeiro:Interamericana, 1979. 576p

SAS. **USER'S GUIDE: basic and statistic**. Cary: SAS, 1999. 1686 p.

SILVA, A. E. D. F.; UNANIAN, M. M.; CORDEIRO, C. M. T.; FREITAS, A. R. Relação da circunferência escrotal e parâmetros da qualidade de sêmen em touros da raça Nelore, PO. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 31, n. 3, p. 1157 – 1165, 2002.

SILVA, A. E.; DODE, M. A.; UNANIAM, M. M. Avaliação da capacidade reprodutiva do touro. In: **Capacidade reprodutiva do touro de corte: funções, anormalidades e fatores que a influenciam**. Campo Grande: EMBRAPA – CNPGC. p. 128. 1993.

SMITH, P. B. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo, Manole, 2v. 1994, 1738 p.

SOUSA, A. P. F.; FRENEAU, G. E.; FIORAVANTE, M. C.; JULIANO, R. S.; SILVA, L. A. F.; AMORIM, C. Diâmetro do túbulo seminífero, proporção volumétrica e biometria testicular em touros da raça Pé-duro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, **Anais...** 2004, Campo Grande, SBZ, 2004.

STEFFEN, D. Genetic causes of bull infertility. **Veterinary Clinics of North América: Food animal Practice**. v.13, n. 2 p. 243 – 253,. 1997.

TOELLE, V. D.; ROBISON, O. W. Estimates of genetic correlation between measurements and female reproductive traits in cattle. **Journal Animal Science**.v. 60, p. 89 – 100, 1985.

TURNER, A. S.; McILWRAITH, C. W. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**, 1ª ed. São Paulo- SP: Roca, 1987. p. 104 – 107.

UNANIAM, M. M.; SILVA, A. M. D. F.; McMANUS, C.; CARDOSO, E. P. Características biométricas testiculares para avaliação de touros zebuínos da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 136 – 144, 2000.

VOGLER, C. J., BAME, J. H., DeJARNETE, J. M., McGILLIARD, M. L., SAACKE, R. G. Effects of elevated testicular temperature on morphology characteristics os ejaculated spermatozoa in the bovine. **Theriogenology**. v. 40, n. 6, p. 1207 – 1219, 1993.

Artigo Científico submetido para publicação na Revista Ciencia Animal Brasileira
(ISSN versão impressa: 1518-2797; ISSN versão on-line: 1089-6891)

Perfil Seminal e Morfometria Testicular de Touros da Raça Nelore com Diferentes Distúrbios Reprodutivos

Paulo Felipe Izique Goiozo¹; Pedro Paulo Pires²; Enio Pedone Bandarra³

¹ – Mestrando em Patologia Veterinária do Programa de Pós-Graduando em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista – CEP: 18.618-000 - Botucatu – SP – Brasil. e-mail: goiozopfi@hotmail.com

² – Pesquisador na Área de Sanidade Animal da Embrapa Gado de Corte – CEP: 79.002-970 – Campo Grande – MS – Brasil. e-mail pedropaulo@cnpqg.embrapa.br .

³ – Professor adjunto, voluntário do Programa de Pós-Graduando em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista – CEP: 18.618-000 - Botucatu – SP – Brasil. e-mail: eniop@terra.com.br

Resumo:

O presente estudo objetivou avaliar a influencia de afecções testiculares sobre as características morfométricas e seminais em touros. Para tal, utilizou-se 56 touros da raça Nelore com idade entre 30 e 40 meses. Amostras de sêmen foram coletadas e analisadas por métodos convencionais e coloração de *Feulgen* para estimativa dos percentuais de fragmentação nuclear. Posteriormente, fragmentos de testículos foram submetidos a análises bacteriológicas, histopatológicas e morfométricas. Dentre os animais avaliados, 14 (25,00%) não apresentaram alterações testiculares, 15 (26,86%) orquite bacteriana, 10 (17,86%) degeneração, 10 (17,86%) orquite inespecífica e 7 (12,50%) hipoplasia testicular. Os resultados das análises seminais mostraram que a motilidade progressiva em animais normais ($72,31 \pm 4,95$), é superior ($p < 0,05$) aos animais com orquite inespecífica ($44,00 \pm 11,07$) e estatisticamente semelhante aos demais grupos ($p > 0,05$). Quanto ao percentual de espermatozóides normais, animais normais e animais com hipoplasia testicular ($p > 0,05$), apresentaram percentuais superiores aos demais grupos ($p < 0,05$). Os defeitos de cabeça espermática e fragmentação nuclear de animais com orquite inespecífica foram superiores ($p < 0,05$)

aos animais com testículos normais e hipoplásicos, e semelhantes ($p>0,05$) os outros grupos. Animais com orquite inespecífica apresentaram área de epitélio seminífero inferior ($p<0,05$) aos demais grupos e área de células de Leydig superior ($p<0,05$) aos animais com testículos normais.

Palavras-Chave: Touros, testículos, histopatologia, sêmen e morfometria.

Seminal Profile and Testicular Morphometric of the Nelore Bulls with Different Reproductive Disorders

ABSTRACT:

The present study aimed at to evaluate the testis changes influences about morphometrics and seminal characteristics in bulls. For such, 56 Nelore bulls, weighing with age between 30 and 40 months were used. Semen samples were collected and evaluated by conventional methods beside in the Fuelgen stain for nuclear fragmentation. Later, testis fragments was submitted to bacteriological, histopathologicals and morphometrical analyses. Among the evaluated animals, 14 (25,00%) don't showed testis changes, 15 (26,86%) bacterial orchitis, 10 (17,86%) testicular degeneration, 10 (17,86%) unspecific orchitis and e 7 (12,50%) testicular hipoplasia. The results of the seminal analyses showed that the progressive mobility in normal animals ($72,31 \pm 4,95$), it is superior ($p < 0,05$) to the animals with unspecific orchitis ($44,00 \pm 11,07$) and statistically similar to the other groups ($p > 0,05$). The percentage of the normal sperms in normal animals an animals with testicular hipoplasia ($p > 0,05$) was greater that others groups ($p < 0,05$). The sperm head defects and nuclear fragmentation of the animals with unspecific orchitis was greater ($p < 0,05$) that animals with normal and hipoplastic testis, and similar ($p > 0,05$) to others groups. Animals with unspecific orchitis showed somniferous epithelium area lower ($p < 0,05$) to others groups and Leydig cells area higher ($p < 0,05$) to animals with normal testicles.

Key-words: Bulls, testis, histopathology, semen and morfometric.

Introdução

O Brasil atualmente destaca-se no cenário mundial como o maior produtor de carne bovina e detentor do maior rebanho comercial do planeta. De acordo com dados divulgados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2007) o plantel brasileiro é de aproximadamente 207,157 milhões de cabeças.

A posição de destaque do Brasil no comércio mundial de carne é inversamente proporcional com a produtividade da cadeia produtiva nacional. É consenso entre técnicos e pesquisadores que os índices de produtividade do rebanho brasileiro é inaceitável na atual conjuntura (CORREIA, et al. 2001). Um dos fatores responsáveis pelos baixos índices é a fertilidade dos animais envolvidos no processo produtivo. Como no Brasil predomina o sistema de criação extensiva, a produção esta altamente correlacionada com a reprodução, neste contexto a fertilidade irá determinar o sucesso ou fracasso da atividade (SILVA et al, 1993).

Estudos envolvendo as mensurações testiculares e a qualidade do sêmen, são realizados com grande frequência no Brasil (ALENCAR et al. 1993; GABALDI et al. 1999; UNANIAM et al. 2000; NOGUEIRA et al. 2001; ORTIZ PEÑA et al. 2001; SILVA et al. 2002). Entretanto, pouco se sabe sobre o comportamento tecidual nas diferentes afecções que afetam os testículos, touros que não apresentam medidas satisfatórias, são descartados, com isto a etiologia e a frequência destas afecções são desconhecidas.

Um dos principais fatores que afeta a fertilidade dos touros são as afecções testiculares (CAMP, 1997). Dentre as alterações mais frequentes, destacam-se a degeneração, hipoplasia, atrofia, orquite, distúrbios circulatórios e neoplasias (LADDS, 1993; CAMP, 1997; ACLAND, 1998; JONES et al. 2000; NASCIMENTO e SANTOS, 2003).

Existem evidências que, pelo menos 30% dos touros usados em monta natural apresentam problemas de fertilidade (ENCARNAÇÃO e SERENO, 2002). A presença de touros subférteis ou inférteis afeta direta e indiretamente a rentabilidade do processo produtivo, pois, além da redução da taxa de desfrute (OLIVEIRA FILHO et al. 2002), características de subfertilidade podem ser transmitidas à progênie, como no caso de touros com hipoplasia testicular que podem gerar filhas com hipoplasia ovariana (NASCIMENTO e SANTOS, 2003).

A fertilidade de touros apresenta grande variação entre um animal e outro e, casos de infertilidade completa são raramente encontrados. Diversas são as causas que podem afetar a fertilidade de touros, tais como: temperaturas ambiente e corporal, estresse, deficiências nutricionais, características hereditárias, afecções no sistema músculo-esquelético, e principalmente afecções no sistema reprodutivo (CAMP, 1997; STEFFEN, 1997).

É com base neste contexto que o presente estudo foi embasado, almejando determinar a frequência das patologias testiculares, bem como averiguar o comportamento tecidual e sua correlação com as características seminais dos animais, desta forma, os resultados obtidos irão contribuir para casuística nacional e fornecer subsídios para futuras pesquisas nesta área.

Material e Métodos

Para a realização do estudo que se apresenta, foram utilizados 56 touros da raça Nelore, puros de origem, com idade entre 30 e 45 meses, pesando entre 420 e 600 kg, provenientes de criação extensiva, clinicamente sadios, cedidos pelo Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (CNPGC – EMBRAPA).

O sêmen foi coletado por meio de eletro-ejaculação. Imediatamente após a coleta, os ejaculados foram avaliados quanto ao aspecto (cremoso, leitoso, opalescente e aquoso) e com o auxílio de um microscópio de luz, a cinética espermática foi estimada subjetivamente pelo turbilhonamento (TURB, 0 – 4), motilidade (MOT, %) e vigor (VIG, 0 – 5). O percentual de espermatozóides normais e com defeitos foi estimado em microscopia de contraste de fase (1000x/200 células). Para esta análise, consideraram-se as seguintes anormalidades: defeitos de cabeça (subdesenvolvidas, piriformes, crateras, delgadas na base, vacúolos e defeitos de contorno), acrossomo (vesiculoso, ausente, granular e dobrado), peça intermediária (fraturada, hipoplásica, dupla e enrolada) gota citoplasmática proximal, cauda (fortemente dobrada, retro-axial e fortemente enrolada). Todos os critérios de avaliação seminal supracitadas seguiram os critérios de Barth e Oko (1989).

Além das anormalidades descritas acima, avaliou-se também a fragmentação nuclear, em esfregaços seminais corados pelo método de Fuelgen, descrito por Miller et al. (1982), Barth e Oko (1989) e modificado por Fernandes (2005). A fragmentação foi considerada em núcleos espermáticos com halos ou vacúolos visíveis ou não, células com coloração rarefeitas (fantasmas), células com presença de vesículas (*pouch*

formation), e células com características granulares (*clumpy*), conforme descreve Fernandes (2005).

Com base nas avaliações supracitadas, os animais foram classificados em aptos ou inaptos, conforme descreve o Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998). o touro foi considerado apto para reprodução quando apresentar 70% de motilidade, 3 de vigor, 2 de turbilhonamento e menos de 30% de espermatozoides anormais.

Os testículos foram obtidos por meio de orquiectomia seguindo a técnica descrita por Tunrner e McIlwraith (1987). Após a retirada e a mensuração, metade de cada testículo foi acondicionada em frasco estéril para análise microbiológica e das metades remanescentes foram coletados fragmentos representativos para análises histológicas e morfométricas.

Para o exame microbiológico, realizou-se cultura em agar sangue ovino 5%. As colônias bacterianas foram submetidas aos métodos de identificação pela coloração de Gram e provas bioquímicas para identificação do gênero, segundo o Manual Bergey de Bacteriologia (1999).

Para a confecção das lâminas histológicas, inicialmente procedeu-se a fixação dos fragmentos em solução de Bouin por 24 horas (LADDS, 1993), posteriormente, os fragmentos foram processados com auxílio de um histotécnico, emblocados em parafina histológica e cortados em micrótomo rotativo com 4 μm de espessura. Para a detecção das lesões em microscópio óptico, as lâminas foram coradas pelo método de Hematoxilina e Eosina (HE) (BEHMER, 1976)

A avaliação do comportamento dos componentes teciduais dos testículos, tais como: área de lúmen (LM), área de epitélio germinativo (EP = área do túbulo – área do lúmen), área de células de Leydig (CL) e área de estroma (ES), foi realizada por meio de um sistema computadorizado de análise de imagens, em que as imagens foram obtidas dos cortes histológicos de cada órgão (direito e esquerdo) em microscopia de luz, com objetiva de 20 x e mensuradas pelo software KS-400. Os resultados obtidos em μm^2 da área de cada componente tecidual foram transformados e analisados em percentual.

Antecipadamente aos testes estatísticos, avaliou-se a homogeneidade da variância dos resultados obtidos nas avaliações seminais e morfométricas nas diferentes alterações testiculares, estimando o coeficiente de variação (CV = desvio padrão/média x 100) e aqueles que apresentaram C.V. superior a 30% foram submetidas a transformação

angular pelo modelo matemático: $ASEN[RAIZ(variável/100)]$ segundo Sampaio (2002).

Para avaliar o comportamento das características biométricas (PE, CPD, LGD, CPE e LGE), características seminais (motilidade e morfologia espermática) e características morfométricas frente às alterações testiculares, utilizou-se o procedimento “PROC GLM” do programa “Statistical Analysis System” (SAS) versão 8.2 (2001). A análise de variância deu-se pelo teste de Duncan ($p < 0,05$), pelo seguinte modelo matemático:

$$dms_{(Duncan)} = q_i \sqrt{\frac{S_e^2}{2} \left(\frac{1}{r_A} + \frac{1}{r_B} \right)}$$

onde :

$dms_{(Duncan)}$ = Diferença Mínima Significativa;

q_i = valor tabelado por Duncan;

S_e^2 = valor estimado do quadrado médio do resíduo;

r = número comum de observações por tratamento.

Para verificar a diferença do turbilhonamento (0 – 4), do Vigor (0 – 5) na cinética espermática e na classificação dos animais (aptos ou inaptos) nas diferentes afecções, utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal – Walis por meio do procedimento “PROC RANK” do programa computacional supracitado através do modelo matemático descrito abaixo:

$$T = \frac{1}{S^2} \left[\sum_{i=1}^k X \frac{R_i^2}{n_i} - \frac{N(N+1)^2}{4} \right]$$

onde:

n_i = número de observações para o i-jésimo grupo;

$N = \sum_{i=1}^k n_i$ (total de observações);

R_i = soma das ordenações para o i-jésimo grupo;

$$s^2 = \frac{1}{N-1} \left[\sum X_{ij}^2 - \frac{N(N+1)^2}{4} \right]$$

X_{ij} = ordenação de cada j-ésima observação de cada i-jésimo grupo.

Quando verificada a significância pelo teste supracitado, utilizou-se o procedimento PRO GLM do software citado acima, para averiguar a diferença entre as médias ordenadas pelo Teste T de Student ($p < 0,05$) com $n - k$ graus de liberdade, de acordo com o modelo abaixo.

$$t = \frac{\bar{R}_i - \bar{R}_j}{\sqrt{S^2 \left(\frac{N-1-T}{N-k} \right) \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)}}$$

Onde:

$$\bar{R}_i = R_i / n_i \text{ (Ordenação média do i-jésimo grupo).}$$

Resultados e Discussão;

No estudo que se expõe, constatou-se que alterações testiculares em bovinos com idade reprodutiva são freqüentes quando avaliados por histopatologia, como visto na Tabela 1. A afecção observada com maior freqüência foi a orquite bacteriana, encontrada em 15 (26,86%) dos 56 touros avaliados. Este dado não condiz com os relatos de Maia (1979) e Goiozo et al. (2005) que constataram a degeneração testicular como a afecção mais freqüente. Nos animais com diagnóstico de orquite bacteriana, observou-se que todos apresentavam infiltrado inflamatório mononuclear tanto intratubular quanto intersticial, e degeneração testicular, o que corrobora com as afirmações de Camp (1997), quando relata que animais com orquite apresentam, invariavelmente, degeneração testicular conseqüente ao aumento da temperatura no órgão.

No que concerne aos agentes isolados nos testículos, os mais comuns encontrados em bovinos são: *Brucella abortus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Actinomyces pyogenes*, *Nocardia farcinica*, (SMITH, 1994; CAMP 1997; ACLAND, 1999; JONES et al., 2000; NASCIMENTO e SANTOS; 2003). No presente estudo, dos agentes supracitados identificou-se somente o *Actinomyces spp.* em 2 (13,00%) dos 15 touros que apresentaram orquite bacteriana. Os demais agentes *Cândida spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus spp.* e *Streptococcus spp.* não são descritos na literatura como clássicos causadores de orquite (Tabela 2).

A degeneração testicular, embora encontrada em menor freqüência, foi evidenciada em 10 (17,86%) animais, um percentual inferior aos detectados por Maia (1979) e Goiozo et al. (2005) que observaram esta afecção em 42,66% e 54,10%

,respectivamente, quando avaliaram histologicamente os testículos de touros. As características morfológicas encontradas nos animais com degeneração testicular foram vacuolização citoplasmática nas espermatogônias, hialinização da membrana basal, ausência de atividade mitótica e a presença de raros espermatozóides em alguns túbulos seminíferos, resultados estes condizentes com as afirmações de Blanchard (1991), Ladds (1993), Camp (1997), Acland (1998), Nascimento e Santos (2003).

A orquite inespecífica foi constatada em 10 (17,86%) animais. Resultados inferiores aos encontrados por Goiozo et al. (2005), que reportam a incidência de 29,5% em touros Nelore. Os achados histopatológicos foram semelhantes aos descritos por Acland (1998), ou seja, infiltrado inflamatório mononuclear com predominância de linfócitos.

Dos touros avaliados, sete (12,50%) apresentaram hipoplasia testicular, percentuais superiores aos descritos por Maia (1979), Oashi et al (1988) e Ladds (1993), 1,33%, 1,1% e 0,5%, respectivamente, e inferiores aos 15% relatados por Goiozo et al.(2005). Quanto a localização, todos os casos foram identificados no testículo esquerdo, corroborando com Ladds (1993) e Steffen (1997). No que concerne às características morfológicas, todos os animais apresentaram hipoplasia discreta, com menos de 5% de túbulos lineados por células de Sertoli com raras espermatogônias sem atividade mitótica. Estes aspectos morfológicos são condizentes com os descritos por Ladds (1993), Steffen, (1997), Acland (1998) e Nascimento e Santos (2003).

Na Tabela 3 estão descritos os resultados obtidos na avaliação seminal dos touros do estudo em pauta. Foote (2003) ressalta que a avaliação da motilidade é um método amplamente utilizado na avaliação de touros por ser rápida e altamente correlacionada com a fertilidade. Segundo Parkinson (2004), um touro em condições extensivas é considerado apto para reprodução quando apresentar motilidade superior a 30% e mais de 70% de espermatozóides normais no ejaculado. No presente estudo, a média da motilidade dos animais com orquite inespecífica ($44,00 \pm 11,07\%$), diferiu dos animais normais ($72,31 \pm 4,95\%$), e não apresentou significância aos demais grupos. Com exceção do grupo dos animais normais, os demais grupos apresentaram percentuais médios de motilidade semelhantes aos valores encontrados por Fernandes (2005), após ter induzido processo degenerativo por meio de insulação em touros Nelore e constatou que a motilidade progressiva decresce após 14 dias do início do processo, com média ajustada de $50,0 \pm 3,91\%$. Nos animais com orquite bacteriana o percentual de motilidade ($59,28 \pm 7,06$) foi maior que os grupos hipoplasia, degeneração e orquite inespecífica,

provavelmente devido à predominância unilateral da afecção. Camp (1997) descreve que, dentre outras alterações, a motilidade decresce com o aumento das anormalidades espermáticas em animais com degeneração testicular, como observado no presente estudo.

Os percentuais de espermatozoides normais presentes nos ejaculados de animais normais, com hipoplasia testicular e orquite bacteriana foram: $86,11 \pm 1,28\%$; $77,50 \pm 6,61\%$ e $74,35 \pm 3,66\%$, respectivamente. Considerando as descrições de Parkinson (2004) e seguindo as recomendações do Colégio Brasileiro de Reprodução animal (1998), os animais com hipoplasia e orquite bacteriana são considerados aptos para reprodução, no presente estudo. No caso da hipoplasia testicular, os resultados já eram previstos, pois, segundo Steffen (1997) e Nascimento e Santos (2003), touros com hipoplasia testicular discreta e unilateral apresentam características seminais dentro dos padrões aceitáveis. Quanto à orquite bacteriana, os dados do presente estudo nos permitem concluir que se trata de afecções com evolução recente, visto que, em todos os testículos acometidos pode-se constatar infiltrado inflamatório, descartando a possibilidade de contaminação da amostra, e o fato destes animais não apresentarem diferenças significativas no perfil seminal, deve-se a presença de espermatozoides armazenados nos epidídimos ou em outros segmentos extra-gonadais (Fernandes, 2005).

Os animais com degeneração testicular e orquite inespecífica, diferiram estatisticamente dos animais normais e com hipoplasia, e apresentaram percentuais de espermatozoides normais inferiores aos padrões aceitáveis (Parkinson, 2004 e CBRA, 1998) e similaridade aos animais com orquite bacteriana. Estes resultados também eram antevistos, visto que animais com degeneração testicular apresentam aumento nas anomalias espermáticas de acordo com a severidade do processo e animais com orquite apresentam invariavelmente degeneração testicular (Camp, 1997).

No que se refere aos percentuais de defeitos morfológicos, diferenças significativas foram encontradas em defeitos de cabeça, defeitos de acrosomo e fragmentação nuclear. Os defeitos de cabeça e fragmentação nuclear apresentaram similaridades entre os grupos: degeneração, orquite inespecífica e orquite bacteriana. Resultados estes, semelhantes aos evidenciados por Fernandes (2005) que explica que o contorno e a forma da cabeça espermática estão diretamente associados à estrutura da cromatina nuclear, sugerindo que as espermátides compõem a categoria de células do epitélio germinativo que são mais susceptíveis ao estresse térmico. As evidências encontradas nestes grupos distintos no presente estudo, aliado às explicações de

Fernandes (2005), indicam um aumento da temperatura intra-testicular culminado com quadros degenerativos, quer seja secundários aos processos inflamatórios como nos casos de orquite inespecífica ou orquite bacteriana, ou por fatores ambientais (Blanchard, 1991; Ladds, 1993; Camp, 1997 e Acland, 1998). Desta forma, com os resultados obtidos em nosso estudo, podemos sugerir que os quadros degenerativos encontrados nos animais, que não apresentaram processos inflamatórios, são decorrentes ao estresse térmico causado pela alta temperatura ambiente, que segundo Blanchard (1991), se caracteriza como uma das principais causas deste processo.

No que concerne aos defeitos de acrossomo, os animais com degeneração testicular diferiram dos animais com hipoplasia testicular e orquite inespecífica, e apresentaram similaridades com os demais grupos. Estes resultados devem-se à grande variação entre um animal e outro, não apresentando um padrão específico em um determinado grupo, entretanto, o aparecimento deste defeito na análise de um touro deve ser analisado com cautela, pois além de poder ter origem genética, os defeitos de acrossomo estão altamente correlacionados com casos de infertilidade, devido à incapacidade de penetrar a zona pelúcida (Johnson, 1997; Parkinson, 2004).

É consenso entre veterinários que atuam na avaliação andrológica de touros que o animal deve atingir padrões mínimos de qualidade seminal. Normalmente, um animal está apto à reprodução quando apresentar motilidade espermática superior a 30%, mais de 70% de espermatozoides normais e perímetro escrotal compatível com a raça e idade (Parkinson, 2004). Seguindo estes parâmetros, 55,36% dos animais avaliados no estudo em pauta foram considerados inaptos, percentual superior aos descritos por Encarnação e Sereno (2002), quando descrevem que pelo menos 30% dos touros utilizados em monta natural apresentam problemas de fertilidade.

Todos os animais que não apresentaram alterações no exame histopatológico (grupo normal) foram considerados aptos e diferiram estatisticamente os demais grupos. Em contra partida, animais com orquite inespecífica apresentaram 100% de reprovação, tal fato pode ser explicado devido à degeneração testicular conseqüente ao processo inflamatório. Animais com degeneração, o percentual de animais reprovados superou os aprovados, 80,0% contra 20,0% (Tabela 4), evidenciando a incapacidade de manter o processo espermatogênico frente a esta afecção, corroborando com Brito et al. (2003); Kastelic et al. (1997); Vogler et al. (1993); Fonseca e Chow, (1995); Parkinson, (2004); Camp, (1997); Rote et al. (1995).

Como ilustrado na Tabela 5, os percentuais de área de túbulo, área de lúmen e área de estroma não apresentaram significância entre os grupos, entretanto, animais com orquite inespecífica apresentaram área de epitélio germinativo inferior aos demais grupos. França et al. (2000) avaliaram os efeitos do Cimetidine em ratos e constataram uma redução do epitélio germinativo testicular devido à degeneração testicular ocasionada por este fármaco. No presente estudo, não foi possível identificar a causa da orquite inespecífica, entretanto, pode-se observar que concomitantemente a este processo, os testículos entram em um quadro de degeneração e conseqüentemente, os animais apresentam redução no epitélio seminífero.

Rao Veeramachaneni et al. (1986), descreveram que túbulos seminíferos de animais com degeneração testicular, apresentaram diferença de acordo com a severidade do processo degenerativo. Estes autores acrescentam que o tamanho dos túbulos possuem alta correlação com o tamanho testicular, com as características físicas e morfológicas do sêmen. De acordo com os resultados obtidos em nosso estudo, podemos afirmar que as diferenças estão no epitélio seminífero e não nos túbulos, contradizendo as citações destes autores.

Ladds (1993) cita que em casos de hipoplasia testicular há uma redução no diâmetro dos túbulos seminíferos, fato este não observado nos animais avaliados no estudo em questão, este fato pode ter se dado pelo número reduzido de túbulos hipoplásicos e pelas mensurações terem sido feitas em todos os túbulos, não discriminando entre hipoplásicos, degenerados e normais.

Diferenças foram evidenciadas também no percentual médio de área de células de Leydig entre animais normais e com orquite inespecífica, em que os animais com processo inflamatório apresentaram um percentual de área de células de Leydig maior do que os animais normais. Rao Veeramachaneni et al. (1986), relatam que animais com degeneração testicular severa apresentam atrofia destas células. Uma hipótese a ser analisada neste caso é a tentativa de recuperação da atividade espermatogênica, visto que este processo depende diretamente da testosterona excretada pelas células de Leydig (Brinsko, 1999).

Conclusões

Nos moldes em que o estudo apresentado foi executado, podemos concluir que:

A incidência de alterações testiculares em touros da raça Nelore com idade reprodutiva criados em condições extensivas é alta, quando os testículos são avaliados por meio de histopatologia;

Dentre as afecções diagnosticadas, a orquite bacteriana foi a mais freqüente, representando, seguida por degeneração testicular, orquite inespecífica e hipoplasia testicular;

Animais com hipoplasia testicular não diferem de animais normais quanto às características seminais;

Dentre os defeitos morfológicos dos espermatozoides, os de cabeça espermática e a fragmentação nuclear apresentam percentuais elevados em quadros degenerativos.

Alem da alta incidência de afecções, o percentual de animais inaptos para reprodução também é alta, totalizando 55,36% dos animais avaliados.

Não foram observadas diferenças significativas no perímetro escrotal entre os grupos, sinalizando que este método de avaliação é ineficaz para identificar animais com hipoplasia testicular discreta;

O percentual da área de epitélio germinativo decresce de acordo com a severidade do processo degenerativo;

O percentual médio de células de Leydig é maior em quadros degenerativos.

Agradecimentos:

Ao Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (Embrapa Gado de Corte)

Referencias Bibliográficas

- ACLAND, H. M. Sistema Reprodutor do Macho. In: CARLTON, W. W. e McGAVIN, M. D. **Patologia Veterinária Especial de Thomsom**, 2 ed. Porto Alegre. Artmed, 1998. 671 p.
- ALENCAR , M. M.; BARBOSA P. F.; BARBOSA, R. T.; Parâmetros genéticos para peso e circunferência escrotal em touros da raça Canchim. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. v. 22, n. 4, p. 572 – 583, 1993.
- BARTH, A. D.; OKO, R. J. **Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa**. Iowa State University Press. Ames, Iowa. 285 p. 1989.
- BLANCHARD, T. L .; VARNER, D. D.; BRETZLAFF, K. N. ELMORE, R. G. The causes and pathologic changes of testicular degeneration in large animals, **Veterinary Medicine**, p. 531 – 536, 1991.
- BRINSKO, S. P. Fisiologia Reprodutiva do Macho. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 1999.
- CAMP, S. D. V. Common Causes of Infertility in the Bull. **Veterinary Clinics of North América: Food animal Practice**. v.13, n. 2 p. 203 – 231., 1997
- Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen animal**. 2 ed. Belo Horizonte. 49 p. 1998.
- CORRÊA, E. S.; EUCLIDES FILHO, K.; ALVES, R. G. O.; VIEIRA, A. **Desempenho Reprodutivo em um Sistema de Produção de Gado de Corte**. Campo Grande, CNPGC – EMBRAPA. 33 p. 2001
- ENCARNAÇÃO, R. O. e SERENO, J. R. B. Fertilidade do Touro. In: PELLEGRIN, A. O.; LAGE, A. P.; VALLE, E. R.; SATURNINO, H. M.; SERENO, J. R. B.; NICODEMO, M. L. F.; DODE, M. A. N.; LEITE, R. C.; ENCARNAÇÃO, R. O. **Eficiencia no Manejo Reprodutivo: Sucesso para o Rebanho de Cria**. Campo Grande. CNPGC-EMBRAPA, 135 p. 2002.
- FERNANDES, C. E. S. Perfil eletroforético, características estruturais e fertilidade *in vitro* do sêmen de touros Nelore submetidos à degeneração testicular por insulação. Botucatu, 2005, **Tese de Doutorado**, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2005.
- FONSECA, V. O.; CHOW, L. A. Características seminais de touros zebus com degeneração testicular transitória, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 47, n. 5. p. 707 – 716, 1995.

- FOOTE, R. H. Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. **Animal Reproduction Science**, v. 7, p. 119 – 139, 2003.
- FRANÇA, L. R.; LEAL, M. C.; SASSO-CERRI, E.; VASCONCELOS, A. DEBELJUK, L. RUSSELL, L. D. Cimetidine (Tagamet) Is a Reproductive Toxicant in Male Rats Affecting Peritubular Cells. **Biology of Reproduction**, v. 63, p. 1403–1412, 2000.
- GABALDI, S. H.; DEFINE, R. M.; BARROS, C. Q. M.; MASCARO, K. KASTELIC, J. P.; ROSA, G. J. M. Efeitos da elevação da temperatura testicular nas características espermáticas em touros Nelore. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.**, v. 23, n. 3, p. 220 – 222, 1999.
- GOIOZO, P. F. I.; Di SANTIS, G. W.; De LIMA, J. P.; LIMA, M. C.; LAUFER AMORIM, R.; BANDARRA, E. P.. Alterações Testiculares em Bovinos da Raça Nelore (*Bos taurus indicus*) Criados no Centro-Oeste Brasileiro. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília DF, v. 11, n. 34, p. 58-62, 2005.
- JOHNSON, W. H. The significance to bull fertility of morphologically abnormal sperm. **Veterinary Clinics of North América: Food animal Practice**. v.13, n. 2 p. 225 – 270., 1997.
- JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia Veterinária**. 6.ed. São Paulo: Manole, 2000. 1415 p.
- KASTELIC, J. P., COOK, R. B., COULTER, G. H. Scrotal / Testicular Thermoregulation and the Effects of Increased Testicular Temperature in the Bull. **Veterinary Clinics of North América: Food animal Practice**. v.13, n. 2 p. 271 – 281., 1997
- LADDS, P. W. The Male Genital Sistem: in JUUB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Pathology of Domestic Animals**. 4 ed. San Diego: Academic Press, 1993, V. 3, p. 485 - 512
- MAIA, P. C. Alterações testiculares e epididimárias em bovinos. Belo Horizonte -MG, 1979, **Tese de Mestrado** em Patologia Veterinária – Faculdade de Medicina Veterinária, UFMG, 1979.
- MILLER DM, HRUDKA F, CATES WF, MAPLETOFT RJ. Infertility in a bull with a nuclear sperm defects: a case report. **Theriogenology** 1982;17:611-21.
- NASCIMENTO, E. F e SANTOS, R. L. **Patologia da Reprodução dos Animais Domésticos**. 2 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2003,137 p.

- NOGUEIRA, L. A.G.; PINTO, T. G.; ZAMBORLINI, L.; GILARDI, S.; CALDAS, M.; SOUZA, R. M. Características Seminais de Touros Jovens Nelore (*Bos taurus indicus*) de acordo com a Biometria e Morfologia Testicular. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, n. 2, p. 187 – 189, 2001.
- OHASHI, O. M.; SOUSA, J. 5.; RIBEIRO, H. F. L.; VALE, W. G. Distúrbios reprodutivos em touros *Bos indicus*, *B. taurus* e mestiços criados em clima amazônico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n. 8, v. 2, p. 31 — 35, 1988
- ORTIZ PEÑA, C. D.; QUEIROZ, S. A.; FRIES, L. A. Comparação entre os critérios de seleção de precocidade sexual e a associação destes com características de crescimento em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 1 p, 93 – 100, 2001.
- PARKINSON, T. J. Evaluation of fertility and infertility in natural service bulls. **The Veterinary Journal**, v. 168, n. 3, p. 215 – 229, 2004.
- RAO VEERAMACHANENI, D. N.; OTT, R. S.; HEATH, E. H.; McENTEE, K.; BOLT, D. J.; HIXON, J. E. Pathophysiology of small testes in beef bulls: Relationship between scrotal circumference, histopathologic features of the testes and epididymides, seminal characteristics, and endocrine profiles. **American Journal Veterinary Research**. v. 47, n. 9, p. 1988 – 1999. 1986.
- RODE, L. M., COULTER, G. H., KASTELIC, J. P., BAILEY, R. C. Seminal Quality and Sperm Production in Beef Bulls with Chronic Dietary Vitamin A Deficiency and Subsequent Re-alimentation. **Theriogenology**, v. 43, p. 1269 – 1277, 1995.
- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística Aplicada à Experimentação Animal**. - 2 ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia. 2002. 265 p.
- SAS. **USER'S GUIDE: basic and statistic**. Cary: SAS, 1999. 1686 p.
- SILVA, A. E. D. F.; UNANIAN, M. M.; CORDEIRO, C. M. T.; FREITAS, A. R. Relação da circunferência escrotal e parâmetros da qualidade de sêmen em touros da raça Nelore, PO. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 31, n. 3, p. 1157 – 1165, 2002.
- SILVA, A. E.; DODE, M. A.; UNANIAM, M. M. Avaliação da capacidade reprodutiva do touro. In: **Capacidade reprodutiva do touro de corte: funções, anormalidades e fatores que a influenciam**. Campo Grande: EMBRAPA – CNPGC. p. 128. 1993.
- SMITH, P. B. **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**. São Paulo, Manole, 2v. 1994, 1738 p.
- STEFFEN, D. Genetic Causes of Bull Infertility. **Veterinary Clinics of North América: Food animal Practice**. v.13, n. 2 p. 243 – 253,. 1997.

UNANIAM, M. M.; SILVA, A. M. D. F.; McMANUS, C.; CARDOSO, E. P. Características Biométricas Testiculares para Avaliação de Touros Zebuínos da Raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 136 – 144, 2000.

VOGLER, C. J., BAME, J. H., DeJARNETE, J. M., McGILLIARD, M. L., SAACKE, R. G. Effects of Elevated Testicular Temperature on Morphology Characteristics os Ejaculated Spermatozoa in the Bovine. **Theriogenology**. v. 40, n. 6, p. 1207 – 1219, 1993.

TABELA 1. Frequência das alterações testiculares observadas por análises histopatológicas em touros da raça Nelore (n=56)

Alterações	Frequência (n)	Frequência (%)
Normais	14,00	25,00%
Hipoplasia	7,00	12,50%
Degeneração	10,00	17,86%
Orquite Inespecífica	10,00	17,86%
Orquite Bacteriana	15,00	26,86%

TABELA 2. Frequência dos agentes microbianos isolados em Agar sangue ovino 5% a partir de amostras de testículos de touros da raça Nelore (n=15)

Agentes	Frequência (n)	Frequência (%)
<i>Actinomycetos spp.</i>	2	13,00%
<i>Cândida spp.</i>	1	7,00%
<i>Pseudomonas spp.</i>	1	7,00%
<i>Staphylococcus spp.</i>	10	67,00%
<i>Streptococcus spp.</i>	1	7,00%

TABELA 3. Médias (\pm erro padrão) das características seminais nos diferentes grupos (**Norm** = testículos normais; **Hip** = hipoplasia testicular; **Deg** = degeneração testicular; **Orq** = orquite inespecífica e **OrqBac** = orquite bacteriana).

Característica Seminal	Grupos				
	Norm (n=14)	Hip (n=7)	Deg (n=10)	Orq (n=10)	OrqBac (n=15)
Motilidade (%)	72,31 \pm 4,95 ^a	44,28 \pm 10,88 ^{ab}	46,00 \pm 9,56 ^{ab}	44,00 \pm 11,07 ^b	59,28 \pm 7,06 ^{ab}
Vigor (0 – 5)*	36,19 \pm 3,00 ^a	19,78 \pm 4,95 ^b	21,95 \pm 4,40 ^b	25,30 \pm 6,10 ^{ab}	26,88 \pm 3,69 ^{ab}
Turbilhonamento (0 – 5)*	32,88 \pm 3,64 ^a	26,78 \pm 6,84 ^{ab}	27,20 \pm 3,37 ^b	24,60 \pm 4,45 ^b	22,92 \pm 4,03 ^b
Morfologia (%)					
Normais	86,11 \pm 1,28 ^a	77,50 \pm 6,61 ^a	57,00 \pm 15,02 ^{bc}	48,75 \pm 11,19 ^c	74,35 \pm 3,66 ^{ab}
Def. cabeça	3,61 \pm 0,68 ^a	5,87 \pm 2,08 ^a	2,87 \pm 1,04 ^{ab}	5,87 \pm 1,39 ^b	5,95 \pm 1,31 ^{ab}
Def. Acrossomo	0,96 \pm 0,46 ^{ab}	0,62 \pm 0,23 ^b	1,25 \pm 0,75 ^a	0,37 \pm 0,23 ^b	0,70 \pm 0,35 ^{ab}
Def. P.I.	1,88 \pm 0,48 ^a	2,37 \pm 0,89 ^a	1,75 \pm 0,75 ^a	11,37 \pm 4,80 ^a	2,95 \pm 0,87 ^a
G.C.P.	0,19 \pm 0,15 ^a	1,25 \pm 1,25 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a	0,45 \pm 0,39 ^a
Def. Cauda	2,07 \pm 0,70 ^a	3,00 \pm 1,24 ^a	1,63 \pm 0,85 ^a	12,50 \pm 10,19 ^a	4,85 \pm 2,83 ^a
C.I.N	3,03 \pm 0,74 ^a	4,87 \pm 1,89 ^a	6,62 \pm 3,15 ^a	13,37 \pm 4,91 ^a	4,10 \pm 1,84 ^a
F.N. ¹	2,11 \pm 0,75 ^{ab}	4,50 \pm 1,62 ^a	28,87 \pm 17,92 ^{ab}	7,50 \pm 4,66 ^b	6,65 \pm 2,33 ^{ab}

Valores na mesma linha seguidos por letras diferentes ^(a,b) diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$);

* Médias ordenadas; ¹ estimado pelo método de *Fuelgen*.

TABELA 4. Ordenação média da classificação dos animais em aptos ou inaptos para reprodução.

Grupos	Médias ordenadas (\pm erro padrão)
Normal (n=14)	13,00 \pm 0,00 ^a
Hipoplasia (n=7)	29,00 \pm 5,65 ^b
Degeneração (n=10)	35,40 \pm 3,73 ^{bc}
Orquite inespecífica (n=10)	41,00 \pm 0,00 ^c
Orquite Bacteriana (n=15)	29,80 \pm 3,66 ^b

Valores na mesma linha seguidos por letras diferentes ^(a, b, c) diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

TABELA 5. Médias (\pm erro padrão) dos percentuais dos componentes teciduais dos testículos diferentes grupos (**Norm** = testículos normais; **Hip** = hipoplasia testicular; **Deg** = degeneração testicular; **Orq** = orquite inespecífica e **OrqBac** = orquite bacteriana).

Componentes teciduais (%)	Grupos				
	Norm (n=14)	Hip (n=7)	Deg (n=10)	Orq (n=10)	OrqBac (n=15)
Túbulo	76,38 \pm 0,87 ^a	76,08 \pm 1,22 ^a	76,23 \pm 0,99 ^a	74,37 \pm 1,23 ^a	77,32 \pm 0,92 ^a
Lúmen	23,06 \pm 0,69 ^a	23,55 \pm 0,96 ^a	22,79 \pm 0,67 ^a	24,80 \pm 0,90 ^a	24,46 \pm 0,66 ^a
Epitélio Seminífero*	53,32 \pm 0,71 ^a	52,53 \pm 1,19 ^a	53,44 \pm 0,92 ^a	49,57 \pm 0,92 ^b	52,85 \pm 0,85 ^a
Células de Leydig	3,72 \pm 0,22 ^a	4,17 \pm 0,39 ^{ab}	4,42 \pm 0,31 ^{ab}	4,61 \pm 0,27 ^b	3,81 \pm 0,16 ^{ab}
Estroma	19,88 \pm 0,88 ^a	19,73 \pm 1,19 ^a	19,34 \pm 0,92 ^a	21,00 \pm 1,19 ^a	18,86 \pm 0,90 ^a

Médias na mesma linha seguidas por letras diferentes ^(a, b) diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$);

* Epitélio seminífero = túbulo – lúmen



Submissões Online

Já possui um Login/Senha para a revista Ciência Animal Brasileira?

[ACESSO](#)

Não tem Login/Senha?

[CADASTRO DE USUÁRIOS](#)

Cadastro e login são obrigatórios para submissão de documentos online e verificar o estágio de submissões.

Diretrizes para Autores

Os trabalhos podem ser redigidos em português, inglês ou espanhol. Os textos devem ser organizados da seguinte forma: 1- título; 2- nomes dos autores (por extenso); 3- filiação científica (informar departamento, instituto ou faculdade, universidade, CEP, cidade, estado país e e-mail); 4- resumo (na língua principal do texto e em inglês - Summary, com um máximo de 200 palavras); 5- palavras-chave (máximo de cinco, apresentadas na língua do texto e em inglês - Keywords); 6- introdução; 7- material e métodos; 8- resultados e discussão (separados se necessário); 9- conclusões; 10- agradecimentos (se necessário) e 11- referências bibliográficas, em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor e seguir a NBR 6023, da ABNT.

Nota Científica (inclui o formato de Relato de Caso, Comunicação de Pesquisa ou Nota Prévia):

Contempla principalmente áreas médicas ou achados que devam ser divulgados anteriormente à publicação do artigo, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada. Podem ser considerados como elementos do corpo do texto: Introdução, Material e Métodos ou Casuística (de acordo com a situação), Resultados, Discussão e Conclusões (quando pertinentes). No geral, essas publicações estão sujeitas às mesmas características de avaliação dos artigos científicos, respeitadas suas peculiaridades.

Itens de Verificação para Submissão

Como parte do processo de submissão, autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão com todas os itens listados a seguir. Serão devolvidas aos autores as submissões que não estiverem de acordo com as normas.

1. A contribuição é original, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista.
2. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapasse os 2MB). O preenchimento do cadastro inclui todos os autores envolvidos (máximo de 6 autores), selecionando o contato principal. Atentar para o item 6 destas normas.
3. Todos os endereços de URLs no texto (Ex.: <http://www.ibict.br>) estão ativos e prontos para clicar.

4. O texto está em espaço 1,5 com linhas numeradas; usa uma fonte de 12-pontos Times New Roman; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final.
5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.
6. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos). Em caso de citação de autores, "Autor" e ano são usados na bibliografia e notas de rodapé, ao invés de Nome do autor, título do documento, etc.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou à terceiros.