

INFLUÊNCIA SAZONAL SOBRE O PERFIL SEMINAL E CONGELABILIDADE DO SÊMEN DE TOUROS PANTANEIROS

SEASONAL INFLUENCE ON SEMINAL PATTERN AND FREEZABILITY OF PANTANEIRO BULL SEMEN

Nathalia Hack Moreira¹
Eleonora Araújo Barbosa¹
Normandes Vieira Nascimento²
Raquel Soares Juliano³
Urbano Gomes Pinto de Abreu³
Alexandre Floriani Ramos^{2*}

¹Universidade de Brasília, Programa de Pós-graduação em Ciências Animais, Brasília, DF, Brasil

²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro nacional de pesquisa de recursos genéticos e biotecnologia, Brasília, DF, Brasil

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal, Corumbá, MS, Brasil

*Autor para correspondência – alexandre.floriani@embrapa.br

Resumo

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito da época do ano sobre a biometria testicular e qualidade do sêmen fresco e congelado de touros Pantaneiros. Seis touros foram submetidos, mensalmente, durante um ano, à mensuração testicular e à coleta e congelamento do sêmen, utilizando-se meio à base de tris-gema-glicerol. O comprimento e o volume testiculares foram maiores ($P < 0,05$) nos meses de junho ($11,1 \pm 0,8$ cm; $652,7 \pm 138,0$ cm³), julho ($11,0 \pm 0,9$ cm; $616,4 \pm 156,2$ cm³) e setembro ($11,8 \pm 0,8$ cm; $692,4 \pm 141,3$ cm³) que em outubro ($9,4 \pm 1,2$ cm; $498,5 \pm 154,3$ cm³) e novembro ($10,3 \pm 1,1$ cm; $560,0 \pm 111,8$ cm³). A concentração espermática foi maior ($P < 0,05$) no mês de agosto ($1265,0 \pm 436,8 \times 10^6$ sptz/mL) que nos meses de outubro, dezembro e janeiro ($591,6 \pm 192,0$; $627,5 \pm 314,4$; $502,5 \pm 172,9 \times 10^6$ sptz/mL, respectivamente). Não houve efeito da época do ano sobre a qualidade do sêmen fresco e congelado (motilidade, vigor, defeitos totais e integridade acrossomal) ($P > 0,05$). Conclui-se que touros Pantaneiros, na região do Distrito Federal, podem ser utilizados em programas de acasalamento natural em todas as épocas do ano. Visando ao enriquecimento do Banco Brasileiro de Germoplasma Animal com maior número de doses, sugere-se o congelamento do sêmen entre os meses de junho e agosto, embora este não apresente perda de qualidade nas diferentes épocas do ano.

Palavras-chave: bovino; conservação; criopreservação; reprodução; sazonalidade.

Abstract

The purpose of this paper was to investigate the effect of the season of the year on testicular morphology, fresh and frozen/thawed semen quality from Pantaneiro bulls bred in Brasilia, DF. Six bulls were submitted, once a month for one year, to evaluation of testicular measurements, semen collection using an artificial vagina and cryopreserved with medium containing Tris-based, egg yolk and glycerol. The testicular length and volume were greater ($P < 0.05$) in June (11.1 ± 0.8 cm; 652.7 ± 138.0 cm³), July (11.0 ± 0.9 cm; 616.4 ± 156.2 cm³), and September (11.8 ± 0.8 cm; 692.4 ± 141.3 cm³) than October (9.4 ± 1.2 cm; 498.5 ± 154.3 cm³) and November (10.3 ± 1.1 cm; 560.0 ± 111.8 cm³). The sperm concentration was greater ($P < 0.05$) in August ($1265.0 \pm 436.8 \times 10^6$ sperm/mL) than October, December and January (591.6 ± 192.0 , 627.5 ± 314.4 ; $502.5 \pm 172.9 \times 10^6$ /mL). There was no effect of

season on the quality of fresh and frozen semen (motility, vigor, total defects and acrosome integrity) ($P > 0.05$). In conclusion, Pantaneiro bulls, bred in the Midwest region of Brazil, can be used in natural mating programs in all seasons. Aiming to improve the Brazilian Animal Germplasm Bank with a higher number of samples collected, we suggest that the freezing of the semen is done between June and August, although there will be no losses of semen quality at any time.

Keywords: bovine; conservation; cryopreservation; reproduction; seasonality.

Enviado em: 11 abril 2013

Aceito em: 23 outubro 2015

Introdução

O bovino Pantaneiro também denominado “Tucura” ou “Cuiabano”, descendente de animais ibéricos^(1,2), desempenhou até o início do século XX, um papel preponderante na economia das regiões inundadas do Pantanal. Esses animais apresentam características únicas por pastarem debaixo da água e aproveitarem todos os recursos vegetais disponíveis na região. De acordo com Mazza et al.⁽²⁾, ao longo do processo de seleção natural, o bovino Pantaneiro, adquiriu características adaptativas de grande rusticidade que lhe permitiram a sobrevivência em condições adversas. A partir do século XX estes animais foram sendo cruzados de forma absorvente com raças zebuínas, causando uma diminuição progressiva do seu rebanho sem nenhum plano sistemático de melhoramento, levando-os ao risco de extinção⁽³⁾.

A diversidade genética é fundamental para o melhoramento genético sustentável, facilitando, assim, a rápida adaptação às mudanças necessárias e imprevistas para o desenvolvimento dos sistemas de produção, uma vez que não é possível prever com objetividade quais características poderão ser necessárias no futuro. O estudo aprofundado destas populações e/ou raças poderá auxiliar no desenvolvimento e acompanhamento racional de futuros programas de melhoramento animal, selecionando características peculiares a regiões de adaptação dos animais, bem como na preservação e conservação de germoplasma⁽⁴⁾.

Para a conservação *ex situ* de germoplasma, o macho necessita de boas interações com o ambiente para que o processo da espermatogênese ocorra dentro da normalidade e, assim, possa ter seu germoplasma congelado e estocado com boa qualidade, uma vez que, durante o resfriamento e o ciclo congelamento/descongelamento do sêmen, o espermatozoide está sujeito a estresses químicos, osmóticos, térmicos e mecânicos, fazendo com que haja uma redução na viabilidade espermática, estimada em 50%⁽⁵⁾. Diversos fatores afetam a reprodução animal, dentre eles: a temperatura, a umidade, a nutrição, a sanidade e as variações ambientais referentes às diferentes estações do ano⁽⁶⁻⁸⁾.

Pouco se sabe a respeito do comportamento reprodutivo e dos padrões andrológicos dos touros Pantaneiros. O risco de extinção do bovino Pantaneiro ressalta a grande necessidade de armazenamento de seu material genético em bancos de germoplasma e, para isso, tornam-se necessários mais estudos que caracterizem sua produção de gametas e auxiliem na definição de estratégias de conservação *ex situ*.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da época do ano sobre a qualidade do sêmen fresco e congelado/descongelado de touros do grupo genético Pantaneiro, visando definir a melhor época para a execução de trabalhos de enriquecimento do Banco Brasileiro de Germoplasma Animal.

Material e Métodos

Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob protocolo UnBDOC nº. 36520/2013. O estudo foi conduzido no Setor de Campo Experimental Fazenda Sucupira da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF. O clima da região é caracterizado por verão chuvoso e inverno seco, tipo AW pela classificação de Köppen, com a média mensal referente à umidade relativa, precipitação e temperaturas média, máxima e mínima⁽⁹⁾ representada na Figura 1.

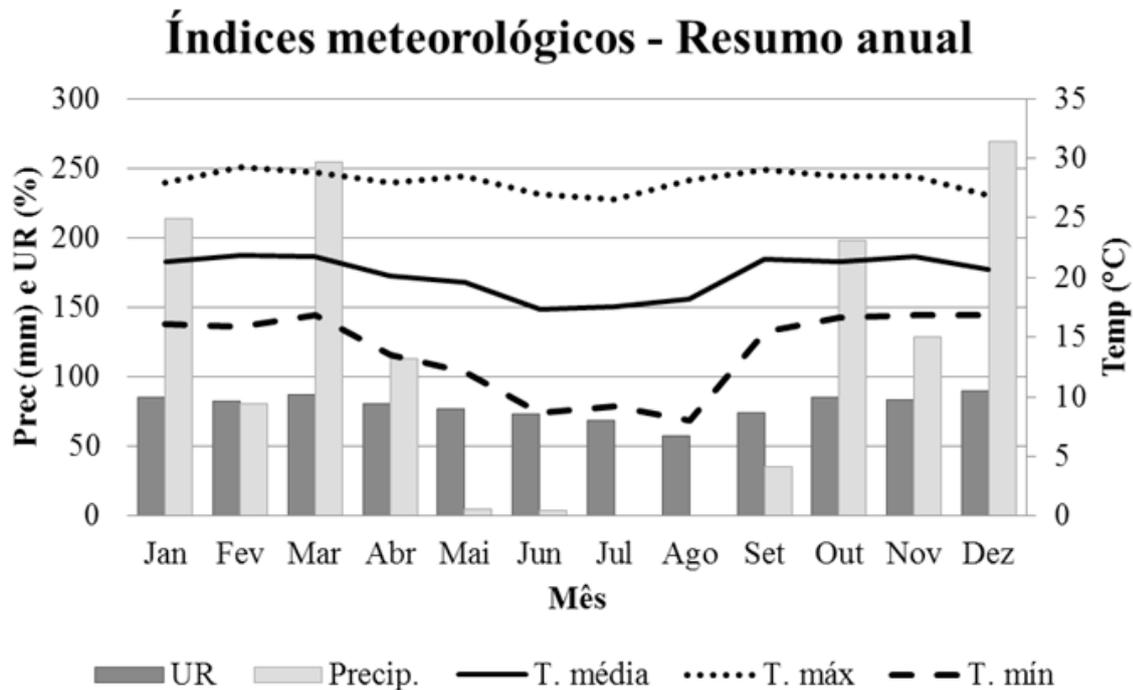


Figura 1: Resumo anual da umidade relativa, precipitação e temperaturas média, máxima e mínima de Brasília/DF.

Seis reprodutores do grupamento genético Pantaneiro, avaliados e considerados clinicamente saudáveis e sexualmente maduros, com idade entre três e quatro anos, foram submetidos a exame andrológico e pesados na primeira semana de cada mês, durante o período de um ano, iniciando em setembro e finalizando em agosto. Os animais permaneceram em pastagem de *Brachiaria decumbens* com sal mineral e água à vontade. Durante este período os reprodutores não foram utilizados para acasalamento natural.

As variáveis analisadas relacionadas à biometria testicular foram a circunferência escrotal (CE), mensurada com fita métrica milimetrada na região mediana dos testículos, comprimento (CT) e largura (LT), utilizando-se um paquímetro, e o volume testicular (VT) que foi calculado pela fórmula do cilindro ($VT = 2 [(LT/2)^2 \times \pi \times CT]$)⁽¹⁰⁾.

Os touros foram submetidos à coleta de sêmen uma única vez, a partir da monta em fêmea não estrogenizada, usada como manequim, pelo método da vagina artificial, com temperatura entre 40° a 42 °C, sendo imediatamente avaliado quanto ao volume, cor e aspecto do ejaculado. O sêmen foi mantido em banho maria a 37 °C e foi avaliado com o auxílio de um microscópio ótico (Olympus DX50, Olympus Corporation, Japão) quanto a motilidade espermática (0-100%), vigor espermático (1-5), concentração ($\times 10^6/\text{mL}$, em câmara de Neubauer) e morfologia (microscopia de contraste de fase). A motilidade e o vigor espermáticos foram avaliados em preparação úmida, a partir de uma gota de sêmen depositada entre lâmina e lamínula, sendo o vigor classificado pela intensidade de movimento da cauda do espermatozoide. Para a estimativa da concentração de espermatozoides, 20 μL de sêmen foram diluídos em 4 mL de solução de formol salina (1:200). À avaliação morfológica do ejaculado, 60 μL do sêmen foram depositados em 1 mL de formol salina, sendo contadas 200 células, classificadas como normais, com defeitos maiores, que podem comprometer a fecundação, e com defeitos menores, que podem causar prejuízo menor à capacidade fecundante⁽¹¹⁾.

Para o congelamento do sêmen, o ejaculado foi diluído em meio à base de gema de ovo contendo ainda TRIS, frutose, lactose, ácido cítrico, estreptomicina, penicilina e glicerol. O sêmen foi envasado em palhetas de 0,5 mL a uma concentração de 40×10^6 espermatozoides/dose. O período de estabilização do sêmen diluído foi realizado por 5 horas, utilizando-se geladeira a 5 °C para o resfriamento. As palhetas foram expostas ao vapor de nitrogênio durante 20 minutos e, logo após, foram mergulhadas

em nitrogênio líquido, armazenadas nas *racks* e estocadas em botijão criogênico de nitrogênio líquido. Três doses de sêmen de cada touro foram descongeladas a 37 °C por 30 segundos, para avaliação da qualidade seminal, sendo estas avaliadas individualmente de acordo com os critérios utilizados para o sêmen fresco. A viabilidade espermática e integridade do acrossoma foram analisados de acordo com Way et al.⁽¹²⁾, por meio da incubação em banho-maria a 37 °C por 12 minutos, de 20 µL de sêmen em 20 µL de *trypan blue*, sendo em seguida feito o esfregaço em lâmina histológica, fixado em metanol durante 5 minutos e submerso em corante Giemsa durante 18 horas. Em seguida, 200 células foram contadas com auxílio de microscópio ótico.

Os resultados foram analisados, utilizando-se o programa estatístico SAEG, quanto à normalidade, sendo a interação entre mês e tipo de sêmen (fresco ou congelado) testada através da análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Para o estudo da associação entre as variáveis, foi usado o teste de correlação de Pearson. O modelo utilizado na análise dos dados considerou a data de coleta como fator fixo e o animal como fator aleatório. O modelo de medidas repetidas usado foi $Y_{ijk} = \mu + D_i + T_j + \text{Peso}_{ij} + e_{ijk}$, em que, Y_{ijk} = característica analisada; D_i = efeito fixo relativo a data da coleta de sêmen; T_j = efeito aleatório do touro; Peso_{ij} = covariável do peso do animal à coleta de sêmen; e_{ijk} = erro aleatório. Os resultados estão apresentados como Média ± Desvio-Padrão ou porcentagem, sendo as diferenças consideradas como significativas quando $P < 0,05$.

Resultados e Discussão

Os touros tiveram um aumento progressivo do peso ao longo do Experimento, porém, sem diferença estatística entre os meses, desde o início do experimento em setembro até o final no mês de agosto. Em relação à biometria testicular, ocorreram variações no comprimento e volume testiculares, sendo o menor valor para o comprimento obtido no início do período das águas (outubro) e menor volume testicular nos meses de outubro, novembro e janeiro (águas) em relação aos meses de junho, julho e setembro (seca) ($P < 0,05$), enquanto a largura e a circunferência escrotal não apresentaram variações no decorrer do ano ($P > 0,05$; Tabela 1).

Tabela 1: Médias (± Desvio-Padrão) mensais, ao longo de um ano, da biometria testicular [comprimento (CT), largura (LT), circunferência escrotal (CE) e volume testicular (VT)] de touros Pantaneiros

MÊS	PESO (kg)	CT (cm)	LT (cm)	CE (cm)	VT (cm ³)
Setembro	412,4 ± 33,1	11,8 ± 0,8 ^a	6,0 ± 0,4	30,7 ± 2,2	692,4 ± 141,3 ^a
Outubro	408,5 ± 30,7	09,4 ± 1,2 ^d	5,7 ± 0,5	30,5 ± 2,4	498,5 ± 154,3 ^b
Novembro	423,0 ± 37,3	10,3 ± 1,1 ^c	5,8 ± 0,2	30,1 ± 1,9	560,0 ± 111,8 ^b
Dezembro	429,2 ± 29,4	10,8 ± 1,2 ^{abc}	6,0 ± 0,4	30,6 ± 1,7	627,2 ± 166,9 ^{ab}
Janeiro	464,8 ± 38,4	10,2 ± 0,8 ^{bc}	5,8 ± 0,4	30,9 ± 2,1	559,9 ± 118,2 ^b
Fevereiro	478,0 ± 32,1	10,8 ± 0,9 ^{abc}	6,4 ± 0,4	31,5 ± 2,0	705,2 ± 126,6 ^a
Março	498,8 ± 38,5	10,5 ± 0,8 ^{abc}	6,0 ± 0,5	31,3 ± 1,9	623,0 ± 146,7 ^{ab}
Abril	506,4 ± 35,4	10,7 ± 1,1 ^{abc}	5,9 ± 0,4	31,5 ± 1,9	599,3 ± 139,1 ^{ab}
Mai	509,0 ± 41,3	10,9 ± 0,9 ^{abc}	6,0 ± 0,5	31,1 ± 2,2	634,0 ± 151,3 ^{ab}
Junho	522,5 ± 38,8	11,1 ± 0,8 ^a	6,0 ± 0,4	32,0 ± 1,9	652,7 ± 138,0 ^a
Julho	522,6 ± 43,9	11,0 ± 0,9 ^a	5,9 ± 0,6	31,8 ± 2,3	616,4 ± 156,2 ^a
Agosto	533,5 ± 44,7	10,7 ± 0,9 ^{ab}	5,9 ± 0,6	30,5 ± 2,0	603,3 ± 170,2 ^{ab}
Média	470,1 ± 57,3	10,7 ± 1,1	6,0 ± 0,5	31,1 ± 2,0	614,5 ± 143,2

^{a,b,c,d} Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (Teste de Tukey; $P < 0,05$).

O menor comprimento testicular no mês de outubro pode estar relacionado a este período representar o final da seca e início das águas, em que ainda é observada uma menor disponibilidade e qualidade de pastagem, principalmente devido a esses animais terem passado pelo período da seca sem nenhum tipo de suplementação. Teixeira et al.⁽¹³⁾ também relataram que a menor qualidade da pastagem e a não suplementação alterou o comprimento testicular em touros Curraleiros; entretanto, esta modificação ocorreu no mês de abril, caracterizado pelo final das águas e início da seca, diferindo dos touros Pantaneiros na mesma região. Apesar da raça Curraleira Pé-Duro e o grupamento genético Pantaneiro possuírem características adaptativas e de rusticidade, essa diferença pode ter ocorrido porque o bovino Pantaneiro sofreu seleção natural na região do Pantanal Matogrossense, não conferindo uma total adaptação ao Planalto Central, diferente do que ocorre com o bovino Curraleiro Pé-Duro, adaptado às condições do Cerrado.

A concentração espermática foi maior ($P < 0,05$) no mês de agosto (seca) que nos meses de outubro, dezembro, janeiro e março (águas) (Tabela 2). A concentração espermática está intimamente ligada à funcionalidade das células de Sertoli durante todo o ciclo espermático. A espermatogênese em bovinos dura em média 60,8 dias. Assim, a resposta a todas as condições que afetem a funcionalidade ou a atividade proliferativa das células de Sertoli, influenciando o número de espermatozoides produzidos por testículo, somente poderá ser observada ao final de um ciclo espermático⁽¹⁴⁾.

Diante disto, as alterações na concentração espermática, especificamente, nos meses de agosto (seca) em relação aos meses de dezembro e janeiro (chuva), podem ter ocorrido pela influência das alterações no comprimento e volume testicular em alguns meses do período seco (junho e julho) em relação ao observado no período chuvoso (outubro e novembro). Essas modificações na biometria testicular também podem ter, possivelmente, alterado o padrão de funcionalidade das células de Sertoli de forma mais marcante durante esses períodos.

Tabela 2: Médias mensais (\pm Desvio-Padrão), ao longo de um ano, da avaliação do sêmen fresco [volume do ejaculado (VE), motilidade (MF), vigor (VF), concentração (CONC), defeitos totais (DTF), defeitos maiores (DMaF) e defeitos menores (DMeF)] de touros Pantaneiros

MÊS	Características físicas				Morfologia espermática		
	VE (mL)	CONC ($\times 10^6$ /mL)	MF (%)	VF (0-5)	DTF (%)	DMaF (%)	DMeF (%)
Set	5,5 \pm 3,8	711 \pm 370,1 ^{ab}	78,3 \pm 7,5	4,0 \pm 0,0	11,6 \pm 5,8	6,9 \pm 3,9	4,6 \pm 2,5 ^{ab}
Out	3,5 \pm 0,8	591 \pm 192,0 ^b	80,0 \pm 8,9	3,5 \pm 0,8	13,4 \pm 5,1	9,2 \pm 4,7	4,1 \pm 1,3 ^{ab}
Nov	3,9 \pm 1,7	911 \pm 345,8 ^{ab}	76,6 \pm 12,1	3,5 \pm 0,5	14,0 \pm 4,0	9,4 \pm 4,6	4,5 \pm 1,5 ^{ab}
Dez	4,5 \pm 2,1	627 \pm 314,4 ^b	75,0 \pm 10,4	3,6 \pm 0,5	12,7 \pm 3,1	7,8 \pm 2,4	4,9 \pm 2,3 ^{ab}
Jan	3,5 \pm 2,0	502 \pm 172,9 ^b	71,6 \pm 7,5	3,8 \pm 0,4	11,6 \pm 3,9	5,8 \pm 3,3	5,7 \pm 1,1 ^a
Fev	3,7 \pm 1,7	880 \pm 409,5 ^{ab}	70,0 \pm 6,3	4,0 \pm 0,0	8,2 \pm 2,1	5,7 \pm 2,0	2,5 \pm 0,3 ^b
Mar	4,8 \pm 4,1	541 \pm 445,6 ^b	66,6 \pm 8,1	4,0 \pm 0,0	12,7 \pm 6,3	8,9 \pm 6,2	3,8 \pm 1,9 ^{ab}
Abr	6,4 \pm 3,4	891 \pm 238,5 ^{ab}	80,0 \pm 8,9	4,0 \pm 0,0	8,7 \pm 4,4	6,8 \pm 3,8	1,9 \pm 0,8 ^b
Mai	5,3 \pm 3,1	788 \pm 381,3 ^{ab}	76,6 \pm 10,3	3,8 \pm 0,4	8,8 \pm 5,6	6,5 \pm 4,7	2,2 \pm 1,4 ^b
Jun	4,6 \pm 2,2	956 \pm 414,5 ^{ab}	71,6 \pm 7,5	4,0 \pm 0,0	11,1 \pm 3,8	7,9 \pm 2,3	3,2 \pm 1,9 ^b
Jul	5,4 \pm 2,5	993 \pm 529,8 ^{ab}	76,0 \pm 8,9	4,0 \pm 0,0	12,0 \pm 2,4	6,5 \pm 1,5	5,4 \pm 1,1 ^{ab}
Ago	6,6 \pm 1,4	1265 \pm 436,8 ^a	80,0 \pm 7,0	3,8 \pm 0,4	9,0 \pm 3,7	6,6 \pm 3,6	2,4 \pm 0,8 ^b
Média	4,8 \pm 2,6	801,1 \pm 393,0	75,1 \pm 9,1	3,8 \pm 0,4	11,8 \pm 5,6	7,6 \pm 4,0	4,1 \pm 3,0

^{a,b} Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (Teste de Tukey; $P < 0,05$).

Sabe-se que a maior disponibilidade de alimentos auxilia no aumento do peso corporal e nos valores de biometria testicular, de forma que estes tendem a apresentar aumento na produção espermática e uma melhor qualidade seminal pelo aumento da funcionalidade dos túbulos seminíferos⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

Diferentemente do esperado, os touros Pantaneiros apresentaram uma melhora em alguns meses do período seco em relação ao período das águas, ou seja, durante o período com menor disponibilidade de alimentos. Esses dados reforçam que a capacidade de adaptação desse grupamento genético às condições climáticas adversas parece ser superior à de outras raças^(2,3). O mesmo é observado em touros Curraleiros, adaptados às condições de baixa disponibilidade de alimentos, os quais apresentaram maior concentração espermática no mês de agosto do que nos meses de abril e maio⁽¹³⁾.

Além disso, também já foi observado que flutuações anuais na temperatura e umidade^(6,18) ocasionam mudanças fisiológicas na biometria testicular e, conseqüentemente, na concentração espermática^(19,20). Desta forma, alguns autores observaram em raças zebuínas, efeitos negativos da estação chuvosa sobre a concentração espermática, ocorrendo o contrário durante o período seco^(8,21).

Não houve efeito da época do ano ($P > 0,05$) sobre a motilidade progressiva, o vigor e a proporção de defeitos totais e maiores do ejaculado. Houve uma redução na proporção de defeitos menores nos meses de junho, julho e setembro, mas não no mês de janeiro ($P < 0,05$) (Tabela 2). A proporção de defeitos menores foi inferior aos 10% considerados aceitáveis. A qualidade do sêmen fresco foi pouco afetada pela época do ano e foi considerado dentro dos padrões recomendados pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal⁽¹¹⁾. De acordo com Koivisto et al.⁽²²⁾, as anormalidades espermáticas nos touros zebuínos tendem a aumentar em períodos de altas temperatura e umidade relativa do ar. No presente estudo, embora a proporção de defeitos menores tenha aumentado no período chuvoso, acredita-se que as mudanças ambientais deste período não foram suficientes para modificar o padrão seminal dos touros Pantaneiros, ocasionando redução da qualidade, uma vez que esses animais são adaptados à região do Pantanal, em que se têm temperaturas superiores àquelas encontradas no presente experimento.

Não houve efeito da época do ano ($P > 0,05$) sobre a motilidade progressiva, o vigor, a proporção de defeitos totais e de defeitos maiores do sêmen de reprodutores Pantaneiros após o congelamento; entretanto, ocorreu um aumento ($P < 0,05$) da proporção de defeitos menores durante os meses de maio, junho, agosto e novembro (Tabela 3).

Tabela 3: Médias mensais (\pm Desvio-Padrão), ao longo de um ano, da avaliação após o descongelamento do sêmen [motilidade (MC), vigor (VC), defeitos totais (DC), defeitos maiores (DMaC) e defeitos menores (DMeC)] de touros Pantaneiros

MÊS	Características Físicas		Morfologia espermática		
	MC (%)	VC (0-5)	DC (%)	DMaC (%)	DMeC (%)
Set	35,0 \pm 4,5	3,0 \pm 0,2	10,3 \pm 3,7	6,8 \pm 1,7	4,2 \pm 1,1 ^{abc}
Out	30,2 \pm 13,3	2,8 \pm 0,2	12,8 \pm 5,2	8,4 \pm 3,9	5,2 \pm 1,2 ^{ab}
Nov	30,0 \pm 6,6	3,0 \pm 0,0	9,7 \pm 2,6	5,4 \pm 1,0	5,4 \pm 0,6 ^a
Dez	33,0 \pm 5,3	3,0 \pm 0,0	8,7 \pm 3,6	7,5 \pm 2,1	4,5 \pm 1,0 ^{abc}
Jan	34,7 \pm 5,3	3,0 \pm 0,0	10,0 \pm 2,1	7,6 \pm 1,5	2,4 \pm 1,0 ^c
Fev	34,0 \pm 8,9	3,0 \pm 0,1	9,4 \pm 3,0	6,8 \pm 2,6	2,5 \pm 0,5 ^c
Mar	35,2 \pm 7,8	3,0 \pm 0,0	13,7 \pm 4,1	8,9 \pm 2,9	4,7 \pm 1,5 ^{abc}
Abr	31,9 \pm 6,6	3,0 \pm 0,0	9,3 \pm 3,1	6,6 \pm 2,6	2,7 \pm 0,9 ^{bc}
Mai	36,9 \pm 5,8	3,0 \pm 0,0	11,8 \pm 3,6	6,0 \pm 2,2	5,0 \pm 2,2 ^a
Jun	36,9 \pm 7,1	3,1 \pm 0,1	12,8 \pm 2,4	7,2 \pm 1,9	5,5 \pm 1,7 ^a
Jul	33,4 \pm 14,0	2,5 \pm 1,1	11,0 \pm 2,4	5,9 \pm 1,5	5,0 \pm 1,1 ^{abc}
Ago	30,3 \pm 11,6	2,3 \pm 0,6	12,2 \pm 4,3	6,3 \pm 2,9	5,8 \pm 1,6 ^a
Média	34,2 \pm 7,5	3,0 \pm 0,2	11,5 \pm 3,2	7,0 \pm 2,4	4,5 \pm 1,7

^{a,b,c} Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas (Teste de Tukey; $P < 0,05$).

Embora tenha ocorrido uma oscilação na proporção de defeitos menores do sêmen congelado, durante todas as épocas do ano, a proporção de patologias espermáticas manteve-se abaixo do limite sugerido pelo CBRA⁽¹¹⁾. Nenhuma partida de sêmen congelado foi descartada ao longo do ano por não atender ao limite mínimo sugerido pelo CBRA⁽¹¹⁾, ao contrário do ocorrido com touros *Bos taurus* e *Bos indicus*, que tiveram doses de sêmen descartadas durante os meses mais quentes do ano.⁽⁸⁾ Isso sugere uma boa adaptação dos reprodutores Pantaneiros às condições do Brasil Central.

Não houve diferença ($P > 0,05$) quanto à integridade de acrossoma dos espermatozoides após o congelamento, sugerindo que touros Pantaneiros possuem uma boa resistência ao processo de congelamento de sêmen, provavelmente mantendo uma boa capacidade fecundante, uma vez que a integridade de acrossoma é um fator crucial para que os espermatozoides sejam capazes de promover a fecundação do oócito⁽²³⁾.

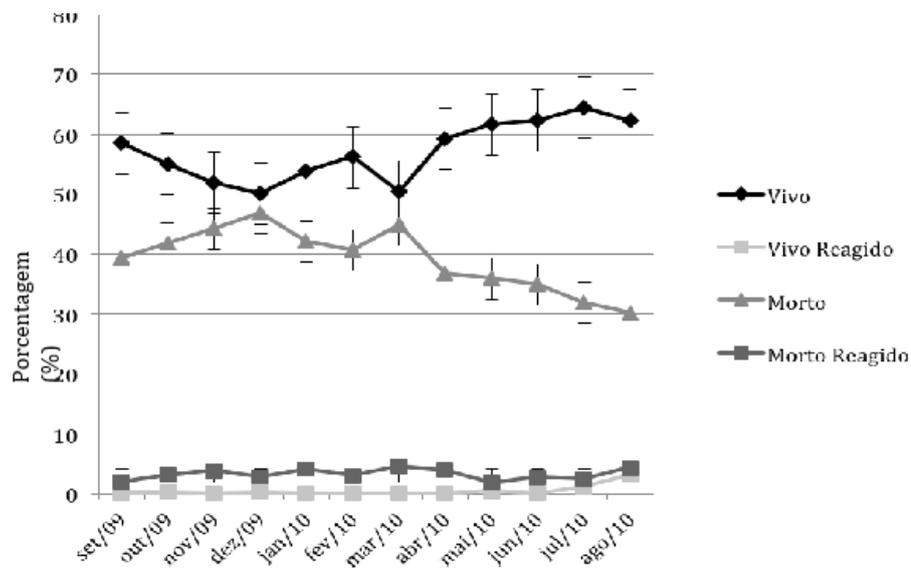


Figura 2: Médias mensais, ao longo de um ano, da viabilidade espermática e integridade do acrossoma após o congelamento/descongelamento do sêmen de touros Pantaneiros ($P > 0,05$).

A biometria testicular apresentou correlações (Tabela 4) de média intensidade com o peso corporal (PC) (CT = 0,46; LT = 0,40; CE = 0,55; VT = 0,44) e com a concentração espermática (CT = 0,33; LT = 0,40; CE = 0,46; VT = 0,41) e correlações negativas de baixa intensidade com as patologias espermáticas (DMaF x CT = -0,08; LT = -0,08; CE = -0,02; VT = -0,09; DMeF x CT = -0,06; LT = -0,15; CE = -0,01; VT = -0,012), sugerindo que touros do grupamento genético Pantaneiro mais pesados e que possuem testículos maiores tendem a ter melhor qualidade de sêmen.

Valentim et al.⁽²⁴⁾, estudando touros jovens de diferentes cruzamentos de raças com o Nelore, encontraram correlações semelhantes ($\approx 0,50$; $P < 0,01$) às do presente estudo, entre PC e CE (0,55; $P < 0,001$). Viu et al.⁽²⁵⁾ obtiveram correlação de menor intensidade ($P < 0,01$) entre PC e CE (0,41) para a raça Nelore que as observadas no presente estudo. Entretanto, Teixeira et al.⁽¹³⁾, estudando touros Curraleiros adaptados à região Centro-Oeste do Brasil, observaram uma correlação de baixa intensidade e sem significância (0,21) entre o PC e a CE. Esses últimos autores também observaram correlações de baixa intensidade entre a biometria testicular e os defeitos espermáticos, chamando a atenção para a correlação entre o VT e a proporção de defeitos menores, que, diferentemente do presente estudo, apresentou um valor de 0,29 ($P > 0,05$). Essas modificações observadas entre os autores decorrem de fatores que podem modificar a CE e, conseqüentemente, a qualidade seminal, como a raça ou grupamento genético, linhagem, idade, peso, ano e época do ano^(19,26-28).

A CE é uma característica que pode ser utilizada como referência para selecionar reprodutores com maior potencial de produção espermática e melhor qualidade seminal^(26,29,30). Essa característica poderia

ser utilizada em touros Pantaneiros como critério de seleção; no entanto, devido às correlações para tal ser de média a baixa intensidade, a CE não deve ser a única característica considerada na avaliação final do poder fecundante do sêmen desse grupamento genético.

Os resultados do presente estudo mostram um pequeno impacto da época do ano sobre a concentração espermática e a morfologia (defeitos menores). Embora a motilidade e o vigor espermáticos, após o descongelamento do sêmen, tenham sido semelhantes nas diferentes épocas do ano e a diferença na proporção de defeitos tenha sido mantida dentro dos padrões estabelecidos para o sêmen congelado, sugere-se que, devido a uma maior concentração de espermatozoides nos meses de junho a agosto, esta época seria desejável para o congelamento, uma vez que geraria um maior número de doses de sêmen para armazenamento no Banco Brasileiro de Germoplasma Animal.

Tabela 4: Correlações entre as medidas testiculares, características do sêmen fresco e do sêmen congelado de touros Pantaneiros

	PC	CT	LT	CE	VT	VE	MF	VF	CONC	NF	DMAF	DMeF	MC	VC	NC	DMAc
CT	0,46**															
LT	0,40**	0,68**														
CE	0,55**	0,63**	0,82**													
VT	0,44**	0,85**	0,96**	0,82**												
VE	0,11	-0,09	-0,13	-0,13	-0,13											
MF	0,06	0,08	0,00	0,13	0,03	-0,02										
VF	0,23*	0,06	0,02	0,09	0,05	0,17	0,14									
CONC	0,36**	0,33*	0,40**	0,46**	0,41**	-0,02	0,23*	0,06								
NF	0,17	0,09	0,13	0,02	0,13	-0,24*	0,12	0,04	0,01							
DMAF	-0,21*	-0,08	-0,08	-0,02	-0,09	0,33*	-0,14	-0,07	0,06	-0,85**						
DMeF	-0,04	-0,06	-0,15	-0,01	-0,12	-0,01	-0,04	0,02	-0,10	-0,71**	0,25*					
MC	0,23*	0,07	-0,04	0,04	0,01	-0,08	0,10	0,25*	-0,06	0,16	-0,27*	0,07				
VC	-0,12	0,02	-0,11	-0,10	-0,08	-0,15	-0,16	0,25*	-0,29*	-0,05	0,01	0,08	0,44**			
NC	0,18	0,27*	0,22*	0,13	0,26*	-0,22*	-0,03	-0,05	0,11	0,36**	-0,44**	-0,08	-0,01	0,00		
DMAc	-0,19*	-0,20	-0,09	-0,02	-0,15	0,17	-0,09	0,09	-0,14	-0,34**	0,45**	0,03	-0,09	0,09	-0,86**	
DMeC	-0,07	-0,23*	-0,28*	-0,22*	-0,28*	0,17	0,18	-0,03	-0,01	-0,21*	0,21*	0,11	0,15	-0,12	-0,68**	0,21*

PC – peso corporal; CT – comprimento testicular; LT – largura testicular; CE – circunferência escrotal; VT – volume testicular; VE – volume do ejaculado; MF – motilidade do sêmen fresco; VF – vigor do sêmen fresco; CONC – concentração; NF – sptz normal no sêmen fresco; DMAF – defeitos maiores no sêmen fresco; DMeF – defeitos menores no sêmen fresco; MC – motilidade do sêmen congelado; VC – vigor do sêmen congelado; NC – sptz normais no sêmen congelado; DMAc – defeitos maiores no sêmen congelado; DMeC – defeitos menores no sêmen congelado.

* P < 0,05

** P < 0,001

Conclusões

A época do ano exerceu pouco efeito sobre a biometria testicular e qualidade do sêmen fresco de touros Pantaneiros, o que mostra a adaptação deste grupo genético às condições ambientais do Centro-Oeste do Brasil. Reprodutores deste grupo genético podem ser utilizados em qualquer época do ano em programas de monta natural.

Para a conservação *ex situ* de recursos genéticos, os touros mostraram-se capazes de produzir uma maior concentração espermática no período seco, sem modificações negativas sobre o padrão seminal. Com isso, os esforços para o enriquecimento do Banco Brasileiro de Germoplasma Animal para este grupamento genético poderão ser concentrados durante esse período, com o objetivo de conservar, em longo prazo, uma maior quantidade de sêmen de boa qualidade.

A capacidade do bovino Pantaneiro em se adaptar ao ambiente de forma que a época do ano cause baixa influência na qualidade seminal mostra que, em um contexto de mudanças climáticas, as raças bovinas localmente adaptadas podem ser uma alternativa promissora.

Referências

1. Serrano GM, Egito AA, McManus C, Mariante AS. Genetic diversity and population structure of Brazilian native bovine breeds. Pesquisa Agropecuária Brasileira [Internet]. 2004 Jun [citado 2015 Dez 02];39(6):543-

549. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pab/v39n6/v39n6a05.pdf>
2. Mazza MCM, Mazza CAS, Sereno JRS, Santos SA, Moura AC. Phenotypical characterization of Pantaneiro cattle in Brazil. *Archivos de Zootecnia* [Internet]. 1992 [citado 2015 Dez 02];41(extra):477-484. Disponível em: <http://www.researchgate.net/publication/265306058>
 3. Egito AA, Mariante AS, Albuquerque MSM. Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. *Archivos de Zootecnia* [Internet]. 2002 [citado 2015 Dez 02];51: 39-52. Disponível em: https://www.google.com.br/url?sa=t&rcct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiGkIeX-L3JAhWExpAKHR98Df8QFggcMAA&url=http%3A%2F%2Fdialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F279936.pdf&usq=AFQjCNEappbbUMrPR-mglTxx1f9OImUIyA&sig2=_zHnXmTIm9kILpUX3L2PJA
 4. Hall SJG, Bradley DG. Conserving livestock breed biodiversity. *Trends in Ecology and Evolution* [Internet]. 1995 Jul [citado 2015 Dez 02];10(7):267-270. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0169534795900055>
 5. Rasul Z, Ahmad N, Anzar M. Changes in motion characteristics, plasma membrane integrity, and acrosome morphology during cryopreservation of buffalo spermatozoa. *American Society of Andrology* [Internet]. 2001 Mar-Abr [citado 2015 Ago 13];22(2):278-284. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/j.1939-4640.2001.tb02181.x/epdf>
 6. Galina CS, Arthur GH. Review of cattle reproduction in tropics. Part 6. The Male. *Animal Breeding Abstracts*. 1991;59:403-412.
 7. Horn MM, Moraes JCF, Galina CS. Qualidade do sêmen de touros das raças Aberdeen Angus e Brangus – Ibagé frente a degeneração testicular experimental induzida por dexametasona. *Ciência Rural* [Internet]. 1999 Jul-Set [citado 2015 Ago 13];29(3):523-526. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v29n3/a24v29n3.pdf>
 8. Anchieta MC, Vale-Filho VR, Colosimo E, Sampaio IBM, Andrade VJ. Descarte e congelabilidade de sêmen de touros de raças zebuínas e taurinas em central de inseminação artificial no Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* [Internet]. 2005 Abr [citado 2015 Ago 12];57(2):196-204. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v57n2/a10v57n2.pdf>
 9. Base de Dados da Estação Meteorológica Automática da Universidade De Brasília. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília. [citado 2015 Set 15]. Disponível em: <http://www.fav.unb.br/86-faculdade-veterinaria/128-base-de-dados-estacao-automatica-dados-diaros>
 10. Fields MJ, Burns WC, Warnick AC. Age, season and breed effects on testicular volume and semen traits in young beef bulls. *Journal of Animal Science* [Internet]. 1979 Jun [citado 2015 Ago 12];48(6):1299-1304. Disponível em: <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/48/6/JAN0480061299?access=0&view=pdf>
 11. CBRA. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2ed. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal; 1998. 49p.
 12. Way AL, Henault MA, Killian GJ. Comparison of four staining methods for evaluating acrosome status and viability of ejaculated and cauda epididymal bull spermatozoa. *Theriogenology* [Internet]. 1995 Jun [citado 2015 Ago 11];43(8):1301-1316. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0093-691X\(95\)00115-O](http://dx.doi.org/10.1016/0093-691X(95)00115-O)
 13. Teixeira HCA, Nascimento NV, McManus C, Egito AA, Mariante AS, Ramos AF. Seasonal influence on semen traits and freezability from locally adapted Curraleiro bulls. *Animal Reproduction Science* [Internet]. 2011 Mai [citado 2015 Ago 10];125(1-4):56-61. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.04.002>
 14. França LR, Avelar GF, Almeida FF. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogenology* [Internet]. 2005 Jan [citado 2015 Ago 10];63(2):300-318. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.09.014>
 15. Amman RP, Schanbacher BD. Physiology of male reproduction. 3. *Animal Science* [Internet]. 1983 [citado 2015 Ago 15];57(Suppl.2):380-403. Disponível em: <http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1770&context=usdaarsfacpub>

16. Garcia Deragon LA, Ledic IL. Avaliação da circunferência escrotal em touros nelore. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 1990;14(4):227-233.
17. Johnson L, Varner DD, Roberts ME, Smith TL, Keillor GE, Scrutchfield WL. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. *Animal Reproduction Science* [Internet]. 2000 Jul [citado 2015 Ago 15]; 2(60-61):471-480. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00108-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00108-1)
18. Fonseca VO, Crudeli GA, Costa e Silva EV, Hermann A. Aptidão reprodutiva de touros da raça Nelore: efeito de diferentes estações do ano sobre as características seminais, circunferência escrotal e fertilidade. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 1992;44:7-15.
19. Coulter GH, Foote RH. Bovine testicular measurements as indicators of reproductive performance and their relationship to reproductive traits in cattle. *Theriogenology* [Internet]. 1979 Abr [citado 2015 Ago 15];11(4):297-311. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0093-691X\(79\)90072-4](http://dx.doi.org/10.1016/0093-691X(79)90072-4)
20. Martinez ML, Verneque RS, Teodoro RL, Paula LRO, Cruz M, Campos JP, Rodrigues LH, Oliveira J, Vieira F, Bruschi JH, Durães MC. Correlações entre características da qualidade do sêmen e a circunferência escrotal de reprodutores da raça Gir. *Revista Brasileira de Zootecnia* [Internet]. 2000 Mai-Jun [citado 2015 Ago 13];29(3):700-706. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v29n3/5812.pdf>
21. Tegegne A, Dembarga Y, Kassa T, Franceschini R. Effect of plane of nutrition and season on body and testicular growth and on semen characteristics in Boran and Boran × Friesian bulls in Ethiopia. *Animal Reproduction Science* [Internet]. 1994 Set [citado 2015 Ago 13];36:197-209. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/037843209490068X>
22. Koivisto MB, Nogueira GP, Costa MTA, editors. Seasonal variations of morphological abnormalities in bovine spermatozoa. 4th Seminar on Animal Reproduction and Biotechnology for Latin America; 1998; Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences. Belém; 1998. 50-56 p.
23. Fernandes CE, Dode MAN, Pereira D, Silva AEDF. Effects of scrotal insulation in Nelore bulls (*Bos taurus indicus*) on seminal quality and its relationship with in vitro fertilizing ability. *Theriogenology* [Internet]. 2008 Dez [citado 2015 Ago 13];70:1560-1568. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.07.005>
24. Valentim R, Arruda RP, Barnabé RC, Alencar MM. Biometria testicular de touros Nelore e touros cruzados europeu-Nelore aos 20 e 24 meses de idade [Internet]. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* [citado 2015 Ago 11]. 2002;39(3):113-120. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/bjvras/v39n3/15811.pdf>
25. Viu MAO, Magnabosco CU, Ferraz HT, Gambarini ML, Oliveira Filho BD, Lopes DT, Viu AMF. Desenvolvimento ponderal, biometria testicular e qualidade seminal de touros nelore (*Bos taurus indicus*) criados extensivamente na região Centro-Oeste do Brasil. *Archives of Veterinary Science* [Internet]. 2006 [citado 2015 Ago 13];11(3):53-57. Disponível em: <http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/veterinary/article/download/7427/5323>
26. Pinto PA, Silva PR, Albuquerque LG, Bezerra LAF. Avaliação da biometria testicular e capacidade de monta em bovinos das raças Guzera e Nelore. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 1989;13(3):151-156.
27. Silva AEDF, Dode MA, Porto JÁ, Urbano AGP. Estacionalidade na atividade sexual de machos bovinos Nelore e mestiços Fleckvieh e Chianina x Nelore: características biométricas testiculares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 1991;26(10):1745-1750.
28. Silva AEDF, Dode MA, Porto JÁ, Urbano AGP. Estacionalidade na atividade sexual de machos bovinos Nelore e mestiços Fleckvieh e Chianina x Nelore: características espermiáticas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 1991;26(10):1751- 1760.
29. Martins Filho R, Lôbo RB. Circunferência escrotal como critério de seleção em bovinos tendo em vista o melhoramento de características reprodutivas em ambos os sexos. *Ciência Animal*. 1991;1(2):83-91.
30. Garner AV, Lôbo RB, Bezerra LAF, Oliveira HN. Comparação entre alguns critérios de seleção para crescimento na raça Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia* [Internet]. 2001 [citado 2015 Ago 15];30(3):714-718. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v30n3/5239.pdf>