

ANÍBAL SOUZA FELIPE DA SILVA

MATURIDADE SEXUAL E CONGELABILIDADE DO SÊMEN DE TOURINHOS
GIR-L, SOB MANEJO ALIMENTAR ESTRATÉGICO.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-
Graduação da Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Reprodução Animal
Orientador: Vicente Ribeiro do Vale Filho

Belo Horizonte
UFMG – Escola de Veterinária
2007

SUMÁRIO

	LISTA DE TABELAS	03
	LISTA DE QUADROS, FIGURAS E APÊNDICES.....	04
	RESUMO	05
	ABSTRACT.....	06
1.	INTRODUÇÃO.....	08
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	09
2.1.	PUBERDADE.....	09
2.2.	MATURIDADE SEXUAL.....	10
2.3.	CIRCUNFERÊNCIA ESCROTAL.....	11
2.4.	CARACTERÍSTICAS DO SÊMEN.....	13
2.4.1.	Morfologia espermática.....	13
2.4.2.	Motilidade espermática.....	14
2.5.	CAP – CLASSIFICAÇÃO ANDROLÓGICA POR PONTOS.....	14
2.6.	CONGELABILIDADE DO SÊMEN.....	15
2.6.1.	Diluidores seminais.....	16
2.6.2.	Teste hiposmótico (HO).....	16
2.7.	NUTRIÇÃO E REPRODUÇÃO.....	17
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1.	CARACTERIZAÇÃO DA PROPRIEDADE.....	18
3.2.	CARACTERIZAÇÃO DOS ANIMAIS.....	18
3.3.	MANEJO ALIMENTAR.....	19
3.4.	AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA.....	20
3.5.	CONGELAÇÃO DO SÊMEN.....	21
3.6.	TESTE HIPOSMÓTICO (HO).....	22
4.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	22
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
6.	CONCLUSÕES.....	32
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
8.	APÊNDICES.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação Andrológica por Pontos (CAP) para touros zebuínos, baseada na circunferência escrotal e nas características do sêmen.....	15
Tabela 2	Porcentagem de nutrientes e composição bromatológica do concentrado.....	20
Tabela 3	Composição bromatológica da silagem de milho experimental, em %.....	20
Tabela 4	Prevalência de machos da raça Gir Leiteiro púberes e não púberes, à primeira e segunda coletas de sêmen, aos 18,2 e 19,6 meses de idade, respectivamente.....	23
Tabela 5	Prevalência de machos da raça Gir Leiteiro, sexualmente maduros e imaturos, submetidos à coleta de sêmen, em diferentes faixas etárias.....	25
Tabela 6	Prevalência de machos da raça Gir Leiteiro, sexualmente maduros e imaturos, submetidos à coleta de sêmen, em diferentes intervalos de circunferência escrotal.....	25
Tabela 7	Médias de peso corporal (PC), circunferência escrotal (CE), características seminais e Classificação Andrológica por Pontos (CAP) em machos jovens da raça Gir Leiteiro, em diferentes faixas etárias.....	26
Tabela 8	Médias de peso corporal (PC), circunferência escrotal (CE) e características seminais de touros sexualmente maduros e imaturos, da raça Gir Leiteiro, nas faixas etárias de 15,6 a 26,9 meses de idade.....	27
Tabela 9	Correlações fenotípicas (Pearson) entre peso corporal, circunferência escrotal (CE), características andrológicas e Classificação Andrológica por Pontos (CAP) de tourinhos da raça Gir Leiteiro, de 18,2 a 25,0 meses de idade.....	28
Tabela 10	Avaliação andrológica de tourinhos Gir Leiteiro avaliados aos 25,0 meses de idade.....	29
Tabela 11	Médias de idade, peso corporal (PC), circunferência escrotal (CE), características seminais e Classificação Andrológica por Pontos (CAP) de oito tourinhos da raça Gir Leiteiro, selecionados para criopreservação do sêmen.....	30
Tabela 12	Características do sêmen de oito machos jovens da raça Gir Leiteiro, com média de idade de 25,0 meses.....	31

LISTA DE QUADROS, FIGURAS E APÊNDICES

Quadro 1	Representação dos manejos alimentares empregados por coleta, data e idade média.....	20
Figura 1	Estrutura removível para acoplamento de palhetas da CRYOGEN [®]	22
Figura 2	Curva de congelação aplicada ao sêmen.....	22
Figura 3	Evolução da CAP de acordo com a faixa etária.....	29
Apêndice 1	Produção leiteira das matrizes, por ordem de lactação.....	42
Apêndice 2	Composição química do diluidor Nagase e Niwa (1964).....	42
Apêndice 3	Composição química do diluidor Bioxcell [®]	42

RESUMO

Peso corporal (PC), circunferência escrotal (CE), características do sêmen *in natura* (motilidade, vigor, turbilhonamento, defeitos maiores, menores e totais) e Classificação Andrológica por Pontos (CAP) foram avaliados em 22 tourinhos da raça Gir Leiteiro, dos 15,6 aos 26,9 meses, mantidos sob manejo alimentar estratégico. Procedeu-se a criopreservação do sêmen de oito animais com idade média de 25,0 meses, pré-selecionados pela CAP > 60 pontos, em dois diluidores à base de lactose-gema-glicerol (Nagase e Niwa, 1964) e à base de lecitina de soja (Bioxcell®), com auxílio da máquina CRYOGEN®. As características do sêmen pós-congelação (motilidade, vigor, defeitos maiores, menores e totais, defeitos de acrossoma, cauda dobrada, reação ao teste hiposmótico [HO] e células normais) foram também avaliadas. Os dados foram registrados nas idades médias de 18,2; 19,6; 20,4; 21,7; 22,5; 23,8 e 25 meses. O manejo dos animais nas três primeiras coletas (março a maio) foi exclusivamente em pastagens de *B. brizhanta* com suplementação mineral [M1] (95 dias), na quarta (junho) houve adaptação entre o manejo a pasto e o confinamento [M1 e M3] e nas três últimas coletas (julho, setembro e outubro) os animais foram confinados e alimentados com silagem base de silagem de milho (7,2% PB, 49,5% FDN, 19,3% FDA) e concentrado (27,4% PB, 83,2% NDT), em três fornecimentos diários [M3] (95 dias). Foram estimadas ainda as correlações de Pearson entre as características avaliadas. Observou-se dentro do manejo alimentar M1 que 86,4% dos animais já estavam púberes na primeira coleta e 100% deles na segunda. Para as análises de maturidade sexual, reagruparam-se os dados por faixas etárias [FE] (15,6-18,9; 19,0-20,9; 21,0-22,9; 23,0-24,9; 25,0-26,9). Observou-se aumento na prevalência de maturidade em função da idade, da CE e do PC, tendo 9% atingido a maturidade entre 15,6-18,9 meses exclusivamente em M1; 34,2% (21,0-22,9) e 86,7% (25,0-26,9) maturaram, já com efeito associado de M3. Não houve diferença ($p > 0,05$) para CE dos animais entre as FE 15,6-18,8 e 19,0-20,9 sendo em ambos os casos as características do sêmen de baixa qualidade. A partir das FE 21,0-22,9 até 25,0-26,9 meses a CE aumentou, diferindo ($p < 0,05$) entre os períodos, assim como o PC. Todas as variáveis diferiram ($p < 0,05$) entre as FE 21,0-22,9 e a contígua 23,0-24,9, o que ratifica os efeitos positivos da idade e do confinamento estratégico dos tourinhos sobre a maturação sexual. Animais maduros e imaturos diferiram ($p < 0,05$) para todas as variáveis na FE 21,0-22,9, exceto vigor e defeitos menores e na FE 23,0-24,9, exceto para CE e vigor. Peso e CE correlacionaram-se positiva (0,64) e significativamente ($p < 0,05$) e com as demais variáveis, exceto defeitos menores estando, portanto, associadas à qualidade espermática em animais jovens. O valor médio da CAP na FE 25,0-26,9 foi 76,1 sendo que 81,8% dos animais apresentaram CAP > 60, um animal não completou a maturidade e três atingiram CAP = 100. Houve diferença ($p < 0,05$) em todas as variáveis analisadas no sêmen pré e pós-congelado, exceto para defeitos maiores. Entre diluidores, houve diferença ($p < 0,05$) para motilidade, vigor, cauda dobrada e HO. Melhores resultados na viabilidade do sêmen pós-congelação foram obtidos com o diluidor Nagase quando comparado ao diluidor Bioxcell®. Houve variação na puberdade e maturidade sexual nos tourinhos Gir Leiteiro, mesmo sob manejo alimentar adequado.

Palavras-chave: Andrologia, Zebu, Congelabilidade do Sêmen

Sexual maturation and semen freezability of young dairy Gyr bulls (Bos taurus indicus), raised under strategical feed management.

ABSTRACT

Body weight (BW), scrotal circumference (SC), *in natura* semen characteristics (motility, vigor, mass motility, major, minor and total sperm defects) and Zebu-BSE (CAP) were evaluated in 22 young dairy Gyr bulls, from 15.6 to 26.9 months old, raised under strategical feed management, in Uberaba, Brazil. Semen samples of eight pre-selected 25 months old bulls (CAP>60 points) were cryopreserved using two different diluters: the egg yolk-lactose-glycerol (Nagase and Niwa, 1964) and the soil-lecithin (Bioxcell[®]) in the Brazilian freezing machine CRYOGEN[®]. The effects in the post-thawed semen traits (motility, vigor, major, minor and total defects, acrosome defects, swelling tails, Host and normal cells) were also evaluated. Seven semen collections were proceeded at the average ages of 18.2; 19.6; 20.4; 21.7; 22.5; 23.8 and 25 months. During the first three ones (March to May) bulls were kept exclusively in *Braquiaria brizantha* pastures and fed mineral [M1] (95 days); in the fourth (June), a feed adaptation for the dry season was proceeded using a feeding-lot [M1 and M3] and in the last three semen collections (July, September and October) animals were kept under feeding-lots and fed corn silage (7.2% CP, 49.5% NDF, 19.3% ADF) and concentrate (27.4% CP, 83.2% TDN), fractioned in three daily feedings [M3] (95 days). Pearson correlations were estimated among characteristics. Under M1, 86.4% of the animals were pubertal at the first semen collection and 100% in the second. For the sexual maturity analysis, data were reorganized by age intervals (15.6-18.9; 19.0-20.9- 21.0-22.9; 23.0-24.9; 25.0-26.9).The maturity percentage enhanced in function of age, SC and BW. In 15.6-18.9 months old interval, 9% of the bulls reached maturity exclusively under M1; in 21.0-22.9 and 25.0-26.9, 34.2% and 86.7% of the bulls respectively, reached maturity under the association effect of M3. There was no difference ($P>0.05$) in SC between 15.6-18.8 and 19.0-20.9 intervals for which semen characteristics showed low quality. From 21.0-22.9 to 25.0-26.9 the SC enhanced ($p<0.05$) among periods, as well as BW. All the characteristics differed ($p<0.05$) between 21.0-22.0 and the further interval (23.0-24.9), suggesting positive effects of age and strategical feeding-lot association in the sexually development. Mature and immature bulls differed ($p<0.05$) for all characteristics in 21.0-22.9, except vigor and minor defects and, in 23.0-24.0 interval, except for SC and vigor. BW and SC showed significant ($p<0.05$) and positive correlation (0.64) and also among all other characteristics, except minor defects being, therefore, associated to spermatic quality. Average CAP in 25.0-26.9 interval was 76.1 points; 81.8% of the bulls showed CAP>60, one was immature and three reached the highest score (CAP = 100). There were differences ($p<0.05$) in all characteristics when *in natura* and post-thawed semen were compared, except for major defects. Between diluters, there were differences ($p<0.05$) in motility, vigor, swelled tails and Host. Nagase and Niwa's diluter reached the best results. There was variation for puberty and sexual maturity expression among bulls in this work, even under adequate feed management.

Key-words: Andrology, Zebu (*Bos taurus indicus*), Semen Freezability

INTRODUÇÃO

As raças zebuínas e seus cruzamentos apresentam grande importância na composição da pecuária brasileira e representam cerca de 80% do efetivo bovino nacional (Cartaxo et al., 2001).

A raça Gir exerce destacado papel neste contexto por incorporar rusticidade, produtividade e docilidade, sendo ainda eficiente na produção de leite a baixo custo, principalmente quando utilizada em cruzamentos com animais de raças especializadas na produção leiteira, sendo por isso uma das principais raças zebuínas utilizadas para esse fim.

O Zebu brasileiro possui grande variabilidade genética, o que possibilita a seleção de touros de mérito genético superior para características de importante valor econômico, principalmente as relacionadas à eficiência reprodutiva e precocidade sexual, produção leiteira, ganho de peso e ainda à conversão alimentar.

A vantagem numérica e genética do rebanho bovino nacional em relação a outros países se torna especialmente importante em termos econômicos, quando se depara com um déficit anual de 200 a 250 mil reprodutores para a reposição nos próprios rebanhos brasileiros de corte e ainda em razão do baixo desfrute da atividade pecuária indicada. Apesar da alta demanda, apenas 5% dos animais possuem alguma avaliação genética (Pereira, 2004).

Não obstante, a pecuária é ainda deficiente na utilização de critérios concretos de seleção zootécnica, mesmo para características de fácil mensuração. Nesse sentido, destacam-se os indicativos da eficiência reprodutiva, como os relacionados com a puberdade e a maturidade sexual precoces e com o

perímetro escrotal, com reflexos na idade ao primeiro parto das filhas dos animais selecionados (Gressler, 2004).

Nenhuma dessas características, até o presente, foi incluída no Programa Nacional de Melhoramento do Gir Leiteiro (Martinez et al., 2006), que avalia cinco características de produção, 16 de conformação, duas de manejo e ainda uma característica molecular.

Teodoro et al., (1996) e Guimarães et al., (2002) constataram que vacas “meio sangue” (F1), Gir x Holandês, têm apresentado superioridade produtiva, reprodutiva e econômica para a produção de leite, comparadas a outros cruzamentos, ou em condições de manejo que não são suficientes para exploração de raças especializadas em produção de leite.

Para otimizar, no entanto, a utilização desta superioridade híbrida, torna-se necessário um esquema de produção contínua de novilhas “meio sangue” (F1), para reposição do rebanho dos produtores de leite. Neste sentido, Marcatti et al., (2000); Madalena (2001) e Ferreira et al., (2001), vêm adaptando à bovinocultura leiteira brasileira o modelo de estratificação piramidal com três estratos definidos de fazendas produtoras, ou rebanhos NÚCLEO, MULTIPLICADOR e COMERCIAL, com funções bem específicas e definidas, à semelhança do que ocorre na suinocultura e avicultura.

Os rebanhos da raça Gir, componentes do ápice dessa estratificação piramidal ou rebanhos NÚCLEO, devem ser submetidos à seleção rigorosa, para a produção de reprodutores de qualidade superior.

Considerando-se que os touros correspondem de 3 a 5% de um rebanho (Molina et al., 2000), e que um único

touro a campo é responsável por metade do material genético de 20 a 50 bezerros/ano, maior ênfase deve ser dada na sua avaliação (Foote, 2003).

Ainda, fica evidente a necessidade de se estabelecerem rígidos critérios de seleção para a melhoria da fertilidade da raça, por meio de alta pressão de seleção sobre a qualidade seminal dos touros, já que a raça Gir Leiteiro responde por aproximadamente 21% do total de doses de sêmen comercializadas no Brasil, para a pecuária leiteira, e que esse valor supera os 43%, ou 537 mil doses, quando apenas se contabilizam as doses de sêmen produzidas por animais zebuínos nacionais de aptidão leiteira (ASBIA, 2004).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a circunferência escrotal, peso corporal e características do sêmen de tourinhos da raça Gir Leiteiro, dos 15,6 aos 26,9 meses de idade, para identificar indivíduos com maturação sexual precoce e de boa congelabilidade seminal, em um grupo de tourinhos mantido sob manejo alimentar estratégico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. PUBERDADE

O potencial reprodutivo de um touro depende basicamente da gametogênese, das funções epididimárias e de seu desempenho sexual (libido e capacidade de serviço), processos que se iniciam com a puberdade e persistem por toda a vida, até a senescência (Ruckebush et al., 1991; Vale Filho, 2001).

Hafez (1995) e Foster e Nagatani, (1999) concordam que o processo puberal é marcado por graduais alterações fisiológicas e anatômicas decorrentes de subsequentes eventos endócrinos, como do aumento da

produção de esteróides sexuais pelas gônadas, em resposta ao aumento na liberação de gonadotrofinas (hormônios folículo estimulante e luteinizante). A ativação desta cascata de hormônios é regulada por mecanismos que controlam a liberação de GnRH, sendo alguns desses originados internamente e relacionados ao crescimento corporal, enquanto outros são também dependentes de fatores externos.

O aumento na secreção de gonadotrofinas é importante para o início do desenvolvimento testicular, pois é necessário ao desenvolvimento dos túbulos seminíferos e diferenciação das células intersticiais (Leydig) e de sustentação (Sertoli), de acordo com McCarthy et al., (1979); Amann, (1983); Amann & Walker, (1983); Evans et al., (1995).

Acredita-se que o *status* metabólico dos animais atue como fator desencadeador da puberdade, uma vez que o centro gerador de pulsos de GnRH do hipotálamo é responsivo às concentrações de leptina plasmáticas sintetizadas pelos adipócitos (Senger, 1999). A leptina, de acordo com Garcia et al., (2002), apresenta alta correlação com peso corporal e início da puberdade em novilhas; em machos, Williams et al., (2002) demonstraram que um *status* metabólico negativo, causado pela ingestão restrita de energia, retardou o início da puberdade, o que ratifica a correlação entre as concentrações séricas de leptina e o processo de desenvolvimento sexual.

Alguns autores definiram puberdade como a idade na qual aparecem os primeiros espermatozoides móveis no ejaculado (Almqvist e Amann, 1962; Garcia et al., 1987), enquanto outros adotaram como definição, a presença dos primeiros espermatozoides no lúmen dos túbulos seminíferos

(Cardoso, 1977; França, 1987). Ainda, Amann e Walker (1983), consideram como indício de puberdade a produção de gametas suficientes para fecundar a fêmea. Já a definição de Wolf et al. (1965) considera a puberdade como sendo a idade em que o animal apresenta no mínimo 50×10^6 de espermatozóides no ejaculado, com motilidade progressiva retilínea de 10%.

Coulter e Kozub (1989); Vale Filho et al. (1993) e Freneau (1996) conceituam puberdade no macho como o surgimento de sua atividade reprodutiva, revelada pelo início da espermatogênese, da maturação epididimária, do interesse sexual e da capacidade de realizar um serviço completo.

Observa-se variabilidade na determinação da idade à puberdade dentro e entre os rebanhos, nas diferentes raças de zebuínos criados no Brasil. Para a raça Nelore, por exemplo, Freneau et al. (2006) relataram, em touros criados extensivamente no Brasil-Central, o aparecimento dos primeiros espermatozóides móveis no ejaculado tão precocemente quanto 13,6 meses, com 82,6% dos animais atingindo a puberdade aos 16 meses de idade; Vale Filho et al. (1993) demonstraram que os primeiros espermatozóides surgiram no ejaculado aos 12 meses e a puberdade, segundo definição de Wolf et al. (1965), foi atingida aos 17 meses. Também sob condições de pastejo, porém com leve suplementação de concentrado comercial (2 Kg/cabeça/dia) durante o período seco, Trocóniz et al. (1991) observaram 18,5 meses para idade à puberdade.

Em outras raças zebuínas, como a Guzará, a idade a puberdade encontrada por Gracia et al. (1987) foi 19,49 meses e por Trocóniz et al. (1991), 18 meses.

Já Torres Junior (2004) observou, também em animais da raça Guzará criados a pasto com suplementação volumosa no período da seca, a presença dos primeiros espermatozóides móveis no ejaculado entre 13,9 e 15,9 meses em 16,6% do lote trabalhado e entre 22,0 - 24,9 meses de idade, em 91,9% do grupo experimental. Na raça Brahman a idade à puberdade foi 15,9 meses (Chase Jr et al., 1997) e 17 meses (Bastidas Mendoza, 1999). Corrêa (2005) observou a ocorrência de puberdade em animais da raça Tabapuã, a partir dos 12 meses de idade, quando mantidos estabulados.

Animais da raça Gir, alimentados com ração balanceada, volumosa e mineral de boa qualidade, atingiram a puberdade aos 15 meses de idade (Guimarães, 1993). Já Schmidt-Hebel et al. (2000), ao estudarem aspectos andrológicos de touros jovens, zebuínos e europeus adaptados, provenientes de prova de ganho de peso em pastagens de capim colômbio (*Panicum maximum*), encontraram também em animais da raça Gir, características seminais compatíveis com a puberdade a partir de 14,2 meses.

2.2. MATURIDADE SEXUAL

A associação entre motilidade e morfologia espermática, em tourinhos com bom desenvolvimento testicular e libido normais, estão entre os principais critérios utilizados como marcadores andrológicos para determinar a maturidade sexual.

Segundo Austin e Short (1972), citados por Corrêa (2005), a maturidade sexual é alcançada quando o crescimento gonadal e corporal, juntamente com os níveis de testosterona e o desenvolvimento sexual, se estabilizam.

Já Garcia et al (1987) e Freneau (1991), consideram para a avaliação da maturação sexual a presença de no mínimo 50% de espermatozoides móveis no ejaculado com motilidade progressiva retilínea e morfologia espermática com no máximo 10-15% de defeitos maiores e 20-24% de defeitos menores.

Para Vale Filho (1989), a maturidade sexual ocorre com aumento progressivo da concentração espermática no ejaculado, até estabilização por volta de 8×10^9 de células, com motilidade progressiva igual ou maior que 65% e vigor 5, numa escala de 0 a 5. Ainda, a porcentagem de defeitos maiores nos espermatozoides não deve exceder 15% e defeitos totais, 30%.

É importante salientar que tanto a puberdade quanto a maturidade sexual processam-se mais tardiamente nos machos zebuínos comparados aos taurinos (Vale Filho, 1988), ainda que Vale Filho (1997) tenha sugerido que o menor desenvolvimento dos testículos dos touros de origem indiana possa também estar associado a aspectos relacionados à nutrição deficiente desses animais.

Vale Filho et al. (1993) constataram, em touros Nelore criados a pasto, que a maturidade sexual foi atingida aos 24 meses de idade. Já para tourinhos da raça Gir, submetidos à dieta com ração balanceada, a maturidade foi atingida aos 20 meses de idade. Observaram ainda que, de modo geral, touros jovens com rápido desenvolvimento testicular tendem a ter a maturidade sexual precoce e alta produção espermática.

Brito et al., (2004) concluíram, em estudo com animais Nelore e Canchim criados em pastagens de *Brachiaria brizantha* com suplementação mineral, que os tourinhos de puberdade e

maturação sexual precoces apresentaram-se com maiores pesos e medidas de circunferência escrotal já no período puberal, quando comparados aos touros de maturação sexual tardia.

Dias (2004), ao analisar 901 touros Nelore de dois anos de idade em regime de pasto, obteve 237 animais (26,3%) maduros sexualmente contra 527 (58,5%) imaturos, considerando ainda o descarte voluntário de 137 animais (15,2%).

Corrêa (2005), ao analisar a influência de três diferentes manejos alimentares em touros Tabapuã de dois anos de idade, obteve 55% de animais maduros em regime exclusivo de pastejo, 60,27% em regime de pastejo com suplementação na seca e 70,31% em regime estabulado.

Os estudos mais recentes têm procurado identificar marcadores moleculares associados à maturação sexual precoce. Alves et al. (2005), ao compararem dois grupos de animais, precoces e não precoces para a maturação sexual, avaliados tanto por características seminais como pelas Diferenças Esperadas na Progênie (DEP's), identificaram com sucesso 174 *primers* polimórficos que, ao serem utilizados em reações para amplificação de amostras individuais de DNA, (Reações de Polimorfismo de DNA amplificadas ao acaso - RAPD), permitiram a diferenciação e classificação fenotípica de touros Nelore, o que favorece a identificação genotípica precoce e sua utilização em programas de melhoramento.

2.3. CIRCUNFERÊNCIA ESCROTAL

A circunferência escrotal (CE), associada à outras medidas de determinação da fertilidade (volume e

consistência dos testículos, características físicas e morfológicas do sêmen), constitui-se em ponto básico para direcionamento dos processos de seleção de reprodutores e suas descendências (Salvador, 2001).

Vale Filho et al. (1993) e Quirino et al. (1999a) estudaram o crescimento dos testículos de tourinhos zebuínos, representando-o por uma curva sigmóide com fase inicial mais lenta seguida de um pico que coincide com a puberdade e havendo, posteriormente, um crescimento mais lento (tendendo à formação de um platô), indicativo de maturidade sexual.

Quirino et al. (1999b) observaram que no desenvolvimento testicular de animais da raça Nelore, o ponto máximo no crescimento da CE e o platô de estabilização ocorreram aos 13 e 40 meses de idade, respectivamente. Em outros trabalhos com tourinhos zebuínos, o período de rápido crescimento ocorreu entre 10 e 12 meses de idade (Castro et al., 1990; Freneau, 1991; Guimarães et al., 1992; Pimentel et al., 1984; Vale Filho et al., 1993).

A utilização da CE nos sistemas de avaliação de touros deve-se à herdabilidade de moderada a alta da característica (Pereira, 2004), às correlações genéticas e fenotípicas favoráveis com as características ponderais, seminais, de fertilidade e de comportamento associados à reprodução (Pinto et al., 1989; Bergmann et al., 1996; Quirino et al., 1999b; Martinez et al., 2000; Sarreiro et al., 2002; Ferreira et al., 2006) e à facilidade de obtenção, além da alta repetibilidade quanto tomada por diferentes avaliadores (Pereira, 2004).

Toelle & Robison (1985) relatam que touros com maior CE possuem filhas

com maior eficiência reprodutiva em razão dessa característica apresentar correlações genéticas favoráveis com taxa de prenhez e idades à primeira cobertura e ao primeiro parto, de modo que a seleção para maiores valores de CE em touros resulta em melhoramento dos índices reprodutivos das fêmeas filhas desses indivíduos.

Gressler et al. (1998) observaram correlações genéticas favoráveis entre CE aos 12 meses de idade e data do primeiro parto e desfavorável entre CE aos 18 meses de idade e data do primeiro parto, presumindo que a seleção de animais com maior CE aos 12 meses de idade estaria associada à escolha de animais dotados de maiores níveis de hormônios gonadotróficos, culminando com a puberdade mais precoce; já aos 18 meses de idade, a seleção para CE estaria mais associada a maiores pesos corporais e, possivelmente, a menor precocidade reprodutiva. No entanto, Sanches et al. (1998) e Moura et al. (2002) afirmaram haver oscilações no padrão de desenvolvimento testicular para touros zebus durante períodos de restrição alimentar, mesmo que curtos.

A seleção de touros com maior CE à idade jovem resulta em maior produção de espermatozóides, puberdade mais precoce, incremento no desempenho produtivo da progênie e redução na incidência de patologias testiculares (Ott, 1986). Isto, associado ao fato da CE ser altamente correlacionada à fertilidade de touros a campo em situações de desafio com alto número de fêmeas em cio (Salvador, 2001), faz com que a seleção para essa característica em touros jovens se constitua no mais adequado previsor da puberdade, independente da raça (Vale Filho et al., 1993; Brito et al., 2004).

Há variação nas medidas de CE entre as diferentes raças bovinas, sendo as européias as que apresentam valores superiores em relação aos zebuínos numa mesma idade (Vale Filho, 1993).

2.4. CARACTERÍSTICAS DO SÊMEN

As características seminais consideradas na avaliação da capacidade reprodutiva do touro são motilidade, vigor e morfologias espermáticas, juntamente com a concentração e o volume do ejaculado. Há variações significativas na fertilidade quando os defeitos, classificados como maiores, superam determinados limites (Casagrande et al., 1979; Barth e Oko, 1989).

Mathevon et al. (1998), após observarem substancial repetibilidade para todas as características seminais em touros jovens observados durante um ano, concluíram serem os animais andrológicamente superiores à puberdade os de maiores potenciais reprodutivos à maturidade sexual, o que, segundo Picard-Hagen et al (2002), sugere que avaliações andrológicas precoces sejam importantes formas de se avaliar a função sexual de touros jovens, permitindo o seu melhor uso como reprodutores pelas centrais de inseminação.

Para o COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL (1998), os padrões seminais desejáveis para efeito de seleção de reprodutores para monta natural são: motilidade espermática mínima de 70%, vigor mínimo de três (escala de zero a cinco), movimento de massa de três (escala de 1 a 5) e total de espermatozóides anormais de no máximo 30%. Já para o sêmen de doadores, os padrões desejados são: doses com volume > 0,25 mL, motilidade progressiva > 30%, vigor > 3 e defeitos totais entre 20 e 30% e defeitos maiores entre 10 e 20%, para

doses com número de espermatozóides entre 6 e 10 x 10⁶ e acima de 10 x 10⁶, respectivamente.

2.4.1. Morfologia espermática

A fertilidade de um rebanho está associada, em grande parte, aos aspectos morfológicos do sêmen dos reprodutores que o compõem, sendo de extrema valia a avaliação dos mesmos em exames clínico-andrológicos para identificação de touros sub-férteis ou de patologias espermáticas associadas à herança genética, o que fornece subsídios importantes para o descarte desses animais (Johnson, 1997).

Diante da importância dos aspectos morfológicos na qualidade seminal, diferentes critérios têm sido propostos para classificação das anomalias espermáticas em bovinos (Salvador, 2001). Blom (1973) sugeriu uma classificação para as anomalias espermáticas que ainda hoje é amplamente utilizada em todo o mundo, separando-se os defeitos espermáticos em maiores e menores. Os defeitos maiores, quando em porcentagens elevadas, têm sido associados aos distúrbios da espermatogênese e, em consequência, podem causar alterações na fertilidade, ou até mesmo infertilidade.

Amann et al (2000), ao avaliarem um importante defeito espermático maior em touros jovens, observaram que o sêmen com alto percentual de gotas citoplasmáticas proximais (GCP) foi severamente afetado quanto à sua capacidade fecundante *in vitro* e que, com a evolução da maturidade sexual o número de defeitos diminuiu, ao contrário da taxa de fertilização que aumentou. A GCP normalmente está associada a reduzido número de espermatozóides móveis, refletindo sinal de maturação espermática

imperfeita, embora um processo degenerativo não possa ser excluído (Barth e Oko, 1989).

Já em relação aos defeitos menores, relacionam-se principalmente aos defeitos da cauda do espermatozóide ou outras patologias não associadas à espermatogênese. Assim, possuem influência menor sobre a fertilidade dos reprodutores (Fonseca et al., 1992).

2.4.2. Motilidade espermática

A motilidade dos espermatozóides é essencial para o processo de fertilização *in vivo*, uma vez que é necessário que essas células altamente especializadas se desloquem do meio uterino até o ovócito para sua fertilização (Hafez, 1995).

Trata-se de parâmetro comumente utilizado para avaliar a capacidade fertilizante de amostras de sêmen, por fornecer indicação de que os espermatozóides estariam em condições de passar pela barreira do trato reprodutivo da fêmea, alcançando o oócito (Braundmeier e Miller, 2001).

Casagrande et al. (1979) estimaram em 0,34 e 0,45 as correlações entre fertilidade e motilidade espermática e fertilidade e vigor, respectivamente. Quirino et al. (1998) verificaram, em touros Nelore, alta correlação entre vigor e motilidade espermática (0,99). No entanto, Quirino (1999b) e Braundmeier e Miller (2001) ressaltam que nem sempre a motilidade é indicativa de normalidade do sêmen ou da fertilidade do touro, devendo estar associada à avaliação das características morfológicas do sêmen.

2.5. CAP - CLASSIFICAÇÃO ANDROLÓGICA POR PONTOS

Diferentes sistemas ou índices de ordenamento de touros quanto à competência andrológica, notadamente os ligados à circunferência escrotal (CE) e à qualidade do sêmen, vêm sendo propostos para fornecer elementos na seleção de indivíduos de alto potencial reprodutivo.

Entre os sistemas para avaliação da capacidade reprodutiva de touros, o mais difundido é o da “*American Society of Theriogenology*”, 1976, denominado “Breeding Soundness Evaluation” (BSE), adaptado por Chenoweth e Ball (1980). Este sistema avalia e pontua animais de acordo com a CE em função da idade e dos aspectos físicos e morfológicos do sêmen, o que permite classificá-los quanto à expectativa de desempenho reprodutivo.

Em virtude da ampla superioridade numérica do gado zebu (*Bos taurus indicus*) sobre o europeu (*Bos taurus taurus*) nas condições brasileiras, diferentes pesquisadores propuseram tabelas baseadas no BSE, adaptadas aos touros indianos, para fins de classificação e seleção, principalmente com modificações nos aspectos relacionados à idade (Lobreiro e Maciel, 1987; Crudeli et al., 1988; Vale Filho, 1989; Fonseca et al., 1989; Fonseca, 2000).

Assim, no sistema proposto por Vale Filho (1989) para avaliação andrológica de touros zebuínos, denominado CAP, são pontuados os valores obtidos nas mensurações da CE, da morfologia e da motilidade espermáticas, em função da idade do animal avaliado, com valores máximos de 40, 40 e 20, respectivamente. Segundo o autor, as idades nas avaliações de *Bos taurus indicus* devem ser consideradas como o dobro das apontadas no BSE para *Bos taurus taurus* (Tab. 1).

Vale Filho et al. (1999) estimaram valores de correlações entre CAP e motilidade, vigor e turbilhonamento espermáticos, volume do ejaculado, defeitos maiores, menores e totais dos espermatozoides e o peso corporal, respectivamente iguais a: 0,51; 0,12; 0,16; 0,71; 0,31; 0,26; 0,43 e 0,32. Registraram ainda valores de herdabilidade para CAP de 0,75, o que evidencia a importância desta característica na seleção de touros para alta eficiência reprodutiva.

Anchieta (2003), ao avaliar 19.868 ejaculados de 394 touros, taurinos e zebuínos pertencentes a uma Central de Inseminação Artificial brasileira, observou superioridade nos padrões de congelabilidade dos primeiros em relação aos segundos, mesmo sob condições tropicais.

Tabela 1 - Classificação Andrológica por Pontos (CAP) para touros zebuínos, baseada na circunferência escrotal e nas características do sêmen

	Excelente	Bom	Regular	Fraco
Motilidade espermática				
De massa (1-5)	Vigor 5	Vigor 4-5	Vigor 4	Vigor 3 (0 -3)
Individual (%)	Acima 70%	60-69%	50-59%	Abaixo 50%
Total de Pontos	20	12	10	3
Morfologia espermática				
Defeitos maiores	Abaixo 10%	10-19%	20-29%	Acima 29%
Total de defeitos	Abaixo 25%	26-39%	40-59%	Acima 59%
Total de Pontos	40	25	10	3
Circunferência escrotal				
Idade (meses)				
18-23	Acima 30	26-30 cm	Abaixo 26	Abaixo 26 cm
24-30	Acima 34	30-34 cm	Abaixo 30	Abaixo 30 cm
31-40	Acima 36	31-36 cm	Abaixo 31	31 cm
41-60	Acima 38	32-38 cm	Abaixo 32	32 cm
> 60	Acima 39	34-39 cm	Abaixo 34	34 cm
Total de Pontos	40	24	10	10

Adaptado de Vale Filho (1989).

2.6. CONGELABILIDADE DO SÊMEN

Os efeitos da criopreservação na função espermática e fertilidade têm sido estudados em todo o mundo, particularmente nos bovinos. Entretanto, as técnicas correntes para criopreservação continuam a induzir efeitos deletérios na qualidade espermática após a descongelação. Por exemplo, queda significativa na motilidade espermática é universalmente aceita como consequência da criopreservação em touros (Watson, 1995) e em outras espécies (Amann and Pickett, 1987), citado por Gravance et al., (1998).

Em padrões pré-definidos de congelação estabelecidos por uma Central de I.A. em São Paulo, Brasil, Roncolleta et al. (1999), ao investigarem 10 touros da raça Gir Leiteiro identificaram, em análise eletroforética do tipo SDS-PAGE, banda (relacionada a uma proteína) no grupo de alta congelabilidade (acima de 80% dos ejaculados viáveis pós-descongelação). O fragmento polipeptídico desta proteína possui mobilidade relativa de 20,3 e peso molecular aproximado 61,8 KDa. Esta banda não foi detectada nas amostras do grupo de baixa congelabilidade (abaixo de 50% dos ejaculados viáveis pós-descongelação), o que sugere ser um

possível marcador bioquímico quanto ao potencial de criopreservação do sêmen de bovinos.

Com o intuito de buscar marcadores moleculares para a congelabilidade precoce do sêmen, em doadores da raça Nelore, Morani et al. (1998) estudaram a associação dessa característica e os polimorfismos da transferrina e da albumina plasmáticas, avaliados por meio de eletroforese. Ao considerarem os indivíduos precoces como sendo os que apresentaram sêmen passível de congelamento com idade inferior a 20 meses, intermediários os habilitados entre 21 e 26 meses e tardios os competentes somente após os 27 meses, esses pesquisadores somente encontraram correlação com a característica avaliada para o alelo Tf^D (transferrina), sugerindo-o como marcador.

2.6.1. Diluidores seminais

Os diluidores devem proporcionar proteção aos diferentes compartimentos celulares durante o resfriamento, congelamento e descongelamento. Assim, sua constituição básica deve garantir nutrição adequada, proteção contra o choque térmico, balanço eletrolítico (pH e osmolaridade) e inibição do crescimento bacteriano. Os constituintes básicos dos diluidores são substâncias energéticas, crioprotetores, soluções tampões e antibióticos (Holt, 2000; Celeghini, 2005).

O glicerol e várias lipoproteínas da gema do ovo são os crioprotetores normalmente utilizados na criopreservação do sêmen de touros há vários anos. No entanto, há algum tempo novos diluidores com componentes crioprotetores baseados em lecitina vêm sendo colocados em prática (Aires et al., 2003; Gil et al., 2000; Van Wagtendonk-Leeuw et al.,

2000). O principal motivo para essa substituição, seria a possibilidade de veiculação de doenças causadas por bactérias e por micoplasmas (Bousseau et al., 1998; van Wagtendonk-de Leeuw et al., 2000)

Gravance et al (1998) observaram, por meio da morfometria, menores dimensões para comprimento, largura/comprimento, largura, área e perímetro de cabeças de espermatozoides bovinos congelados em diluidor Tris-citrato-gema. Aboagla e Terada (2004) determinaram que a gema de ovo foi responsável por causar danos no acrossoma de espermatozoides na espécie caprina, apesar de a motilidade progressiva e a taxa de recuperação pós-congelamento terem sido maiores para o sêmen diluído com gema comparado ao do meio sem gema de ovo.

Ao avaliarem os índices de não retorno aos 56 dias para diluentes a base de soja versus diluidores tradicionais a base de gema de ovo, van Wagtendonk-de Leeuw et al., (2000) encontraram menores taxas para o diluidor Biociphos plus (pior fertilidade), que como o Bioxcell, possui a lecitina de soja como principal substituinte à gema de ovo.

2.6.2. Teste hiposmótico (HO)

O HO tem sido utilizado para avaliar a integridade funcional das membranas plasmáticas dos espermatozoides, por meio do transporte de fluidos através das membranas plasmáticas íntegras, sob condições hiposmóticas. Há um influxo de fluidos para dentro das células e estas se expandem tornando-se túrgidas, principalmente na membrana do ápice da cauda, dando origem a caudas enroladas na extremidade, que podem ser identificadas facilmente em microscopia de contraste de fase (Jeyendram et al., 1992).

As alterações na organização estrutural dos componentes da membrana plasmática acarretam profundos efeitos nas suas propriedades, associados à mudanças na permeabilidade e habilidade de proceder a função (Holt e North, 1986). Ocorre o aumento de cauda dobrada e ruptura das membranas plasmáticas e acrossomais externas (Jones e Stewart, 1979), mudanças na fluidez da membrana (Holt e North, 1986) e desregulação do influxo de Ca^{2+} (Robertson et al., 1990), além de mudanças nas atividades enzimáticas (Holt e North, 1986; Watson, 1981).

Jeyendran et al. (1984) encontraram correlação 0,90 entre espermatozoides que reagiram ao teste e a taxa de penetração na zona pelúcida. Rota et al. (1999) e Brito et al. (2003) não encontraram correlação ($p>0,05$) entre o HO e taxa de clivagem, mórula ou blastocisto, ao passo que Correa et al. (1997) encontraram correlação 0,57 ($p<0,05$) entre HO e índice de prenhez.

2.7. NUTRIÇÃO E REPRODUÇÃO

No Brasil, as forragens devem ser conservadas para uma produção intensiva de carne ou leite, porque as gramíneas forrageiras somente encontram condições para o desenvolvimento durante a estação chuvosa. Desta forma, sob condições naturais, ocorrem períodos alternados em que os animais têm alimentação à vontade e períodos de restrição alimentar, muitas vezes severos e com efeitos adversos sobre o sistema produtivo, inclusive sobre os índices de fertilidade (Nunes, 1998; Corrêa, 2005).

Embora os mecanismos que influenciam a função testicular de animais, alimentados com níveis nutricionais abaixo das exigências, não tenham sido ainda totalmente esclarecidos, sabe-se que o processo é

mediado, pelo menos em parte, pela hipófise anterior (Brown, 1994).

Os mais recentes estudos apontam íntima relação entre as concentrações séricas de leptina e características ligadas à reprodução. Garcia et al., (2002) identificaram aumento da leptina sérica no período da pré-puberdade em novilhas; Amstalden et al (2003) demonstraram experimentalmente aumento da liberação basal de LH em extratos de adenohipófise oriundos de vacas submetidas à restrição alimentar e tratados com leptina recombinante ovina (oleptin), comparados a extratos de adenohipófise de vacas normo-alimentadas submetidos ao mesmo tratamento.

Existe a ação moduladora direta da leptina sobre a adenohipófise. Neste sentido, Maciel et al (2004) demonstraram que a administração exógena de leptina pode prevenir reduções na frequência de pulsos de LH em novilhas sexualmente imaturas, submetidas à restrição alimentar.

Ao trabalharem com *Bos taurus taurus* no Canadá, Nkrumah et al., (2005) determinaram associação genética entre microssatélites presentes na região promotora do gene da Leptina (identificadores da expressividade gênica) com as seguintes características: espessura de gordura de cobertura no trem posterior, marmoreio, aumento no consumo, taxa de crescimento e peso vivo metabólico de bovinos. Por fim, e reforçando o papel da leptina na fisiologia reprodutiva bovina, Chelikani et al (2003) identificaram RNA mensageiro para receptores de leptina em vários tecidos bovinos, em especial nos testículos (formas longas Ob-Rb) e na hipófise (formas longas Ob-Rb e formas curtas Ob-Ra).

Como a leptina é produzida pelos adipócitos brancos (Hafez, 1995; Nkrumah et al., 2005), torna-se fundamental suplementação alimentar de qualidade no período da seca para que os animais não percam condição corporal e garantam maior expressividade gênica para as características reprodutivas.

Dentre as alternativas de suplementação existentes, o milho (na forma de silagem), tem sido utilizado por suas principais características, tais quais: grande variabilidade na porcentagem de grãos e na composição da planta, além de resistência aos estresses ambientais (Aseltine, 1988) permitindo muitas opções de híbridos e de variedades que se adaptam às mais diversas condições, como híbridos destinados à maior produção de grãos (graníferos) ou à maior produção de matéria seca por hectare (forrageiros) (Antunes, 2001).

Uma planta considerada ideal para a produção de silagem deve ter teores adequados de matéria seca e carboidratos hidrossolúveis, além de um poder tampão (capacidade de evitar as variações de pH) relativamente baixo (Freitas, 2002). Além disso, a planta deve possuir estrutura física que permita compactação adequada do silo (McDonald et al., 1991). Segundo Ferret et al. (1997) o milho preenche adequadamente todos estes pré-requisitos.

Costa et al (2002) verificaram maiores espessuras de gordura de cobertura nos animais tratados com silagem de milho como volumoso comparados aos animais do mesmo grupamento genético alimentados com feno de aveia; já Savastano (2000), ao trabalhar nas mesmas condições, para avaliar o desempenho de animais alimentados com silagem de milho como volumoso e silagem de grãos úmidos de milho

como concentrado energético, registrou variação de 10,58 a 2,85mm para maior e menor espessura de gordura subcutânea, respectivamente, o que evidencia ampla variação entre indivíduos dentro do mesmo grupo racial.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. CARACTERIZAÇÃO DA PROPRIEDADE

O estudo foi desenvolvido entre fevereiro e outubro de 2006, na Fazenda Experimental Getúlio Vargas (FEGV), Unidade de Pesquisa da EPAMIG – Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – localizada no município de Uberaba (MG), com tourinhos produzidos pela própria fazenda.

A cidade de Uberaba está localizada a 19° 44' 13,4" de latitude sul e 47° 56' 59" de longitude oeste, numa altitude de 738,14 m. O clima da região é do tipo tropical semi-úmido e a temperatura média é 21,9° C, sendo que nos meses mais quentes apresenta média 23,6° C em janeiro e nos mais frios, média 18,5° C em julho. A precipitação anual média é 1589,4 mm. A umidade relativa média do ar é 73,4%, BRASIL (1992).

3.2. CARACTERIZAÇÃO DOS ANIMAIS

O lote experimental foi constituído por 22 tourinhos contemporâneos da raça Gir Leiteiro (*Bos taurus indicus*) pré-selecionados em função de características clínicas, andrológicas e zootécnicas, caracterizadas respectivamente por: higidez e cumprimento do calendário sanitário previsto; integridade do aparelho reprodutor, simetria dos testículos (aferida por paquímetro) e CE mínima

de 23 cm; 210 Kg de peso mínimo e por idades equivalentes.

As idades apresentaram variação máxima de 133 dias ou 4,4 meses. A média das idades no início do experimento foi $545,4 \pm 33,7$ dias (18,2 \pm 1,1 meses) e $750,4 \pm 33,7$ dias (25,0 \pm 1,1 meses) no final do mesmo.

Dos 22 tourinhos experimentais, 16 (72,7%) eram animais registrados como Puros de Origem (P.O.) e 06 (27,3%) como Livro Aberto (L.A.) pela Associação Brasileira de Criadores de Zebu (ABCZ), sendo filhos de 12 diferentes padreadores e 22 matrizes (quatro P.O. e 18 L.A.) A média de produção de leite das mães, calculada com base na segunda lactação com produção de no mínimo 150 dias, a pasto com suplementação na seca, é 2648,98 Kg (Apêndice 1).

Foram realizadas avaliações andrológicas e zootécnicas, com intervalo médio de $34,2 \pm 7,2$ dias entre as coletas de dados. O período experimental total, incluindo-se as avaliações para a formação do grupo contemporâneo, foi de 09 meses.

3.3 MANEJO ALIMENTAR

Do nascimento (principalmente concentrados nos meses de setembro e outubro de 2004) aos três meses de idade, os animais receberam o leite materno e suplementação com feno de *Tyfton sp.* + ração comercial peletizada *ad libitum*. Os animais foram definitivamente separados de suas mães aos 10 meses, o que ocorreu nos meses de julho e agosto de 2005.

No período entre três e 14 meses de idade, o manejo foi realizado em piquete constituído de 80% de *Braquiaria decumbens* e de 20% de capim *Andropogon (Hyparrhenia rufa)*,

tendo os animais recebido, no período da seca, suplementação leve com silagem de sorgo. Finalmente, nos quatro meses imediatamente anteriores ao início do experimento, os animais foram manejados exclusivamente em piquetes de *Braquiaria brizhanta*.

A partir do início das coletas em 15 de março, aos 18,2 meses, até 20 de junho (período de 95 dias), os animais continuaram submetidos a um manejo alimentar exclusivamente extensivo em pastagens de *Brachiaria brizhanta*, com suplementação mineral (Manejo 1).

De 20/06/2006 até 05/07/2006 (15 dias), os animais foram confinados coletivamente para adaptação à dieta fornecida na etapa subsequente, definida pelo confinamento individualizado com fornecimento de dieta completa (Manejo 3). O manejo alimentar está representado no quadro 1.

Quadro 1 – Representação dos manejos alimentares empregados por coleta, data e idade média

ORDEM COLETA	DATA COLET	IDADE (meses)	MANEJO ALIMENTAR
01	15 MAR	18,2	01
02	28 ABR	19,6	01
03	23 MAI	20,4	01
04	30 JUN	21,7	01 e 03
05	26 JUL	22,5	03
06	05 SET	23,8	03
07	10 OUT	25,0	03

No período compreendido entre 05 de julho e 10 de outubro (95 dias) os animais foram confinados individualmente em baias não cobertas de 4,5 m², com fornecimento de água *ad libitum* e de dieta completa, tendo como

concentrado um núcleo preparado na própria fazenda (Tabela 2) e como volumoso a silagem de milho (Tabela 3).

Tab.2 - Porcentagem de nutrientes e composição bromatológica do concentrado

Ingredientes	(%)
<i>Milho grão</i>	74,1
<i>Farelo soja</i>	21,8
<i>Uréia</i>	3,3
<i>Sulfato de amônio</i>	0,4
<i>Fosfato bicálcico</i>	0,4
Composição bromatológica	
Proteína Bruta	27,4
Matéria Seca	91,1
Fibra Detergente Neutro	12,7
Fibra Detergente Ácida	4,8
Hemicelulose	7,9
Extrato Etéreo	3,8
Matéria Mineral	2,8
Nutrientes Digestíveis Totais	83,2

Tab.3 - Composição bromatológica da Silagem de Milho experimental, em %

MS	36,0
PB	7,2
MM	4,1
FDN	49,5
FDA	19,3
Hemicel.	28,7
Celulose	17,2
Lignina	2,8

MS= Matéria Seca; PB= Proteína bruta; MM= Matéria mineral; FDN= Fibra Detergente Neutra; FDA= Fibra Detergente Ácida; Hemicel.= hemicelulose.

A dieta foi ofertada aos animais três vezes ao dia: às 07:00h (silagem de milho + 0,9% do peso vivo de concentrado); às 12:00h (0,9% do peso vivo de concentrado) e às 16:00 horas (silagem de milho + 0,9% do peso vivo de concentrado).

3.4. AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA

Os animais foram avaliados na primeira coleta quanto à puberdade (baseada na ausência ou presença de espermatozoides móveis no ejaculado), de acordo com Garcia et al. (1987) e também quanto ao peso, valores de CE e quanto à maturação sexual incompleta ou completa (defeitos maiores < 15% e

defeitos totais < 30%), segundo Vale Filho (1989).

Da segunda à sétima coleta, os animais foram novamente avaliados quanto ao peso, CE e maturidade sexual. Logo que identificados como sexualmente maduros, os animais foram pontuados pela Classificação Andrológica por Pontos (CAP), de acordo com Vale Filho (1989, 2001).

A circunferência escrotal foi medida com auxílio de fita métrica flexível, na posição mediana do escroto, no ponto de maior diâmetro. A contenção dos animais foi realizada em brete, assegurando-se a segurança do animal, do avaliador e da equipe de trabalho.

Para a coleta de sêmen, adotou-se o método da eletro-ejaculação, com esvaziamento prévio do reto e massagem manual das glândulas anexas. Nas coletas iniciais, utilizou-se eletrodo de dimensões menores (45 mm) devido ao menor espaçamento pélvico na grande maioria dos animais, para minimizar o estresse e evitar quaisquer riscos à saúde dos tourinhos. Com a evolução do experimento e maior desenvolvimento dos animais, sempre sob acurada avaliação médica veterinária, adotou-se eletrodo de 60 mm.

Imediatamente após a ejaculação completada, realizou-se a avaliação dos seguintes aspectos físicos do sêmen: motilidade, vigor e turbilhonamento. Para as avaliações de motilidade e vigor dos espermatozoides, uma gota de sêmen foi depositada entre lâmina e lamínula previamente aquecidas a 37°C e analisada sob microscopia convencional em aumentos de 100 a 400 vezes. O turbilhonamento foi expresso numa escala de zero a cinco, conforme intensidades menores ou maiores do movimento de massa, sem a

utilização de lamínula. A motilidade foi expressa como percentual de espermatozoides móveis, tendo sido o vigor representado pela força do movimento (velocidade dos espermatozoides para atravessar o campo), o qual foi classificado numa escala de zero a cinco, em que zero caracteriza ausência de movimento e cinco, o movimento vigoroso e veloz dos espermatozoides, conforme descrito pelo COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL (1998).

Para as análises morfológicas do sêmen, alíquotas do ejaculado foram acondicionadas em micro tubos contendo 1 ml de solução formol-salina tamponada (Hancock, 1957) e conduzidas ao Laboratório de Andrologia da UFMG para análise sob microscopia de contraste de fase e para quantificar as porcentagens de espermatozoides normais, com defeitos maiores, com defeitos menores e porcentagem do total de defeitos espermáticos, de acordo com metodologia descrita por Blom (1973).

3.5. CONGELAÇÃO DO SÊMEN

Duas semanas após a última coleta, 08 tourinhos foram selecionados para o teste de congelamento, levando-se em consideração a qualidade física e/ou morfológica do sêmen e o CAP > 60 (referenciados da coleta imediatamente anterior). Utilizaram-se dois diferentes diluidores seminais crioprotetores (Apêndice 2 e 3) sendo um tradicional, baseado em gema de ovo-lactose-glicerol, (Nagase & Niwa, 1964) e outro comercial - Bioxcell[®] (IMV, IVP, Brasil), além da máquina de congelação CRYOGEN[®] (NEOVET, Uberaba, Brasil).

Após a lavagem externa e interna da bainha prepucial com água corrente em abundância, procedeu-se a lavagem da

parte interna do prepúcio com soro fisiológico. A secagem da bainha foi realizada com o auxílio de papel toalha. Logo após a completa ejaculação dos animais, o sêmen foi novamente avaliado para as características físicas de motilidade e vigor (pré-congelação), sendo estes valores utilizados como referências comparativas aos obtidos pós-descongelação (banho-maria, 37°C por 30 segundos). Realizou-se também a contagem espermática em câmara de Neubauer, para estabelecer concentração, pós diluição, de 30×10^6 de espermatozoides por dose inseminante, obtendo-se um máximo de 20 palhetas de 0,5 ml por tourinho coletado.

As palhetas previamente identificadas com nome e número dos touros foram envasadas logo após a coleta e diluição do sêmen, sob temperatura ambiente (30°C), lacradas com álcool polivinílico e mantidas refrigeradas a 5°C, para um período de estabilização mínimo de quatro e máximo de seis horas.

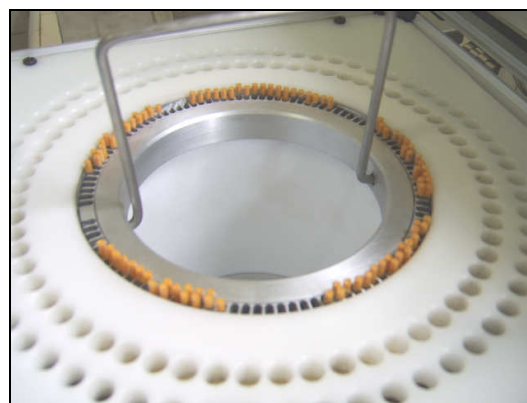


Fig.1 - Estrutura removível para acoplamento de palhetas da CRYOGEN[®].

A transferência das palhetas já resfriadas para a máquina de congelação, também previamente resfriada a 5°C, se deu em laboratório climatizado e com auxílio de câmara fria. A partir desse momento seguiu-se o protocolo de congelação oferecido pela CRYOGEN[®], após acoplamento da estrutura removível (que contém as

palhetas na sua face externa) à máquina (Figura 1).

Seguiu-se com a deposição do nitrogênio líquido na sua parte interna, até um limite pré determinado, de modo a se obter curva padronizada de congelação com taxa de queda média da temperatura de 0,26 °C / segundo, até um tempo total de 8' 45'' (Figura2). Após atingirem a temperatura de -135°C, as palhetas foram removidas da máquina e mergulhadas no nitrogênio líquido, a -196 °C.

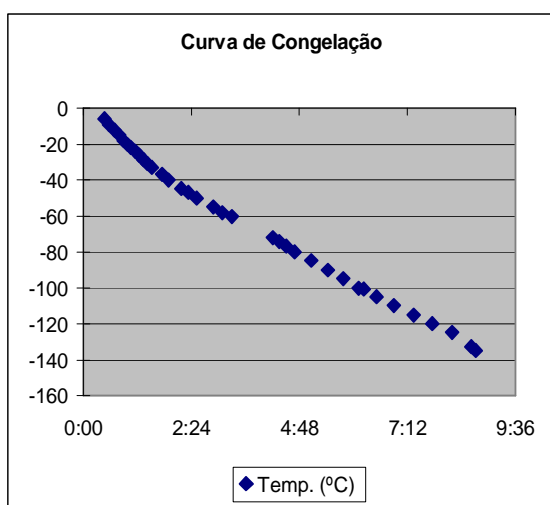


Fig.2 Curva de congelação aplicada ao sêmen

3.6. TESTE HIPO-OSMÓTICO (HO)

A metodologia para o HO, consistiu na elaboração de mistura de 20 microlitros (μ l) de sêmen em 200 μ l de solução contendo citrato de sódio e frutose, a 100 mOsmol/ml (aferida em osmômetro), mantida a 37°C por 1 hora em banho maria. Após este período as amostras foram fixadas em 0,2 ml de solução formol-salina tamponada, para leitura em microscopia de contraste de fase sendo o total de caudas dobradas aferido após o teste, subtraído do número de caudas dobradas obtidas antes da incubação em solução hiposmótica (Correa et al., 1997; Melo, 1999). O resultado obtido foi tomado como o percentual de espermatozoides

reativos, com membrana espermática funcional.

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Análises de variância foram realizadas para verificar o efeito de faixas etárias sobre as características dos tourinhos (PC e CE), características físicas e morfológicas do sêmen e CAP, utilizando-se para comparação de médias o teste Student- Newman- Keuls (SNK) ao nível de 5% de significância. As comparações de médias entre categorias (maturo x imaturo) para as diversas características do animal e do sêmen foram feitas pelo teste de Fisher também ao nível de 5% de significância.

Os efeitos das condições do ejaculado (*in natura*, pós - congelamento em Nagase e pós - congelamento em Bioxcell) foram avaliados por meio de análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste SNK ao nível de 5% de significância, exceto para a característica vigor, para qual foi utilizada análise não paramétrica, com o teste de Kruskal-Wallis, nível de significância de 5%.

Foram também estimadas correlações (Pearson) entre características do animal, características físicas e morfológicas do sêmen e CAP, todos testados ao nível de significância de 5%. As análises foram realizadas com o auxílio do programa Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas – SAEG (Sistema..., 2001).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 4 é apresentada a prevalência de tourinhos Gir Leiteiro púberes e não púberes na primeira e segunda coletas, aos 18,2 e 19,6 meses, respectivamente.

Tabela 4. Prevalência de machos da raça Gir Leiteiro púberes e não púberes, à primeira e segunda coletas de sêmen, aos 18,2 e 19,6 meses de idade

	Idade média (meses)	
	18,2	19,6
	Porcentagem (%) e número (n)	
Púberes	86,4% (19)	100,0% (22)
Não púberes	13,6% (3)	--- (0)
Total de animais	100% (22)	100,0% (22)

Púberes: presença de espermatozóides móveis no ejaculado (Garcia et al., 1987)

Observou-se que, mesmo sob manejo exclusivamente a pasto, 86,4% dos animais se apresentaram púberes à primeira coleta. Sob condições semelhantes de manejo Freneau et al. (2006), ao estudarem a puberdade em animais da raça Nelore, relataram o aparecimento dos primeiros espermatozóides móveis no ejaculado tão precocemente quanto 13,6 meses, com 82,6% dos animais atingindo a puberdade aos 16 meses de idade. Neste trabalho os primeiros espermatozóides móveis foram observados tão precocemente quanto 15,6 meses de idade. Torres Junior (2004) identificou, na raça Guzerá, a presença de puberdade em 91,9% do grupo experimental dos 22,0 aos 24,9 meses de idade. Pode-se verificar também na tab. 4 que, já aos 19,6 meses, 100% dos animais Gir Leiteiro avaliados neste experimento encontravam-se púberes, o que demonstra a rusticidade e precocidade sexual do lote trabalhado.

A tab. 5 apresenta as porcentagens de machos da raça Gir Leiteiro, sexualmente maduros e imaturos, submetidos à coletas de sêmen em diferentes faixas etárias. Observa-se que há aumento progressivo no número de animais sexualmente maduros com o aumento da idade, tendo ocorrido uma inversão entre a porcentagem de imaturos no início do experimento e a porcentagem de maduros ao final do mesmo.

Corrêa (2005) observou uma prevalência de 33% em animais da raça Tabapuã sexualmente maduros, dentro da faixa etária de 21,0-22,9 meses, resultados ligeiramente inferiores aos obtidos neste estudo. Já para a faixa etária de 25,0 a 27,0 meses, os resultados obtidos por aquele autor (63,8%) foram ainda mais baixos aos obtidos neste (86,66%).

A alta porcentagem de animais maduros (68,57%) aos 24 meses de idade é decorrente do fornecimento da dieta estratégica (estação seca) associada ao componente genético, sendo similar à encontrada por Corrêa (2005) para animais Tabapuã de dois anos estabulados desde a desmama e bem superior à encontrada por Dias (2004), em animais Nelore a pasto.

Corrêa (2005), ao analisar a influência de três diferentes manejos alimentares em tourinhos tabapuã, de dois anos de idade, obteve 55% de animais maduros em regime exclusivo de pastejo, 60,27% em regime de pastejo com suplementação na seca e 70,31% em regime estabulado. Dias (2004), ao analisar 901 touros Nelore, de dois anos de idade em regime de pasto, obteve 237 animais (26,3%) sexualmente maduros contra 527 (58,5%) imaturos, considerando ainda o descarte voluntário de 137 animais (15,2%).

É importante salientar que dois tourinhos (9%), maduros na faixa etária 15,6 a 18,9 meses, alcançaram a

maturidade sexual aos 17,7 e 18,8 meses, respectivamente. Estes tourinhos foram mantidos exclusivamente em pastagens (*Brachiaria brizhanta*) nos quatro meses que antecederam a primeira observação. Ambos atingiram, ao final do experimento, CAP 92, o que ratifica o apontado por Mathevon et al (1998), ou seja, que os animais andrológicamente superiores em idades precoces serão os de maiores potenciais reprodutivos à maturidade sexual. Segundo Picard-Hagen et al (2002), avaliações andrológicas precoces são importantes formas de se avaliar a função sexual de touros jovens, permitindo o seu melhor uso como futuros reprodutores das centrais de inseminação.

A análise da associação entre maturidade sexual dos machos jovens da raça Gir Leiteiro e os intervalos de circunferência escrotal (Tab. 6), indicou maior porcentagem (65,71%) de animais sexualmente maduros, com CE entre 30,0-31,9 cm, com aumento desta porcentagem para 100% no intervalo de 38,0-39,9 cm.

Vários autores ressaltam a importância da circunferência escrotal como critério de seleção de reprodutores, em razão de sua relação com a precocidade sexual da progênie à primeira cobertura, e também de sua qualidade espermática (Martins Filho e Lobo, 1991; Carter et al., 1980; Vale Filho, 1997; 2001). Observa-se que quanto maior a CE, maior a porcentagem de animais sexualmente maduros, o que sugere relação benéfica entre esta característica e a qualidade espermática.

Tabela 5. Percentual de machos da raça Gir Leiteiro, sexualmente maduros e imaturos, submetidos à coleta de sêmen em diferentes faixas etárias

	Faixa etária (meses)				
	15,6-18,9	19,0-20,9	21,0-22,9	23,0-24,9	25,0-26,9
	Porcentagem				
Maturos	9,00	17,95	34,15	68,57	86,66
Imaturos	91,00	82,05	65,85	31,43	13,33
Total de animais	22	39	41	35	15

Maturos sexualmente: Defeitos maiores < 15% e Defeitos totais < 30% (Vale Filho, 1989)

Tabela 6. Percentagem de machos da raça Gir Leiteiro, sexualmente maduros e imaturos, submetidos à coleta de sêmen em diferentes intervalos de circunferência escrotal

	Circunferência Escrotal (cm)						
	23,0-24,9	25,0-27,9	28,0-29,9	30,0-31,9	32,0-34,9	35,0-37,9	38,0-39,9
	Porcentagem(n)						
Maturos	— (0)	15,79 (6)	20,51 (8)	65,71 (23)	70,00 (14)	75,00 (6)	100 (2)
Imaturos	100 (9)	84,21 (32)	79,49 (31)	34,29 (12)	30,00 (6)	25,00 (2)	— (0)
Total de animais	9	38	39	35	20	8	2

Maturos sexualmente: Defeitos maiores < 15% e Defeitos totais < 30% (Vale Filho, 1989)

Não houve diferença ($p < 0,05$) entre os valores de CE nas faixas etárias de 15,6-18,8 e 19,0-20,9 meses (Tabela 7). Os parâmetros encontrados para as características do sêmen (motilidade, vigor, turbilhonamento, defeitos maiores, defeitos menores e defeitos totais) nessas mesmas faixas etárias, foram indicativos de baixa qualidade seminal, o que era naturalmente esperado por se tratarem de animais adolescentes, em processo de organização e evolução da espermatogênese (Fonseca et al., 1997). No entanto, a partir da faixa etária 21,0-22,9 até 25,0-26,9 meses, a CE aumentou, com diferenças significativas entre estes períodos.

meses, entre as quais, no entanto, não houve diferença ($p > 0,05$).

A motilidade espermática apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) do primeiro ao último intervalo de faixa etária estudado. Isto, associado à diminuição progressiva e significativa dos defeitos maiores e defeitos totais e ao aumento dos valores de vigor e turbilhonamento, resultou em melhora geral no quadro espermático dos animais.

Tabela 7. Médias de peso corporal (PC), circunferência escrotal (CE), características seminais e classificação andrológica por pontos (CAP) em machos jovens da raça Gir Leiteiro, em diferentes faixas etárias

Variáveis	Faixas etárias (meses)				
	15,6-18,8	19,0-20,9	21,0-22,9	23,0-24,9	25,0-26,9
	X ± DP	X ± DP	X ± DP	X ± DP	X ± DP
PC (Kg)	264,36 ± 32,34 d	276,72 ± 30,38 d	303,91 ± 43,85 c	344,23 ± 37,53 b	368,47 ± 31,79 a
CE (cm)	26,84 ± 2,38 d	27,73 ± 2,00 d	29,26 ± 2,27 c	31,39 ± 2,27 b	34,39 ± 2,94 a
Mot (%)	23,81 ± 14,91 e	34,59 ± 16,81 d	44,05 ± 15,07 c	51,36 ± 14,96 b	59,00 ± 8,49 a
Vig (1-5)	2,19 ± 1,20 d	3,22 ± 1,29 c	4,00 ± 1,06 b	4,48 ± 0,83 a	4,60 ± 0,63 a
Turb (1-5)	0,38 ± 0,92 c	0,65 ± 0,86 c	1,17 ± 1,19 b	1,82 ± 1,49 a	2,27 ± 1,22 a
DM (%)	54,82 ± 30,65 bc	60,00 ± 37,85 c	44,42 ± 32,03 b	24,62 ± 20,59 a	13,47 ± 8,72 a
Dm (%)	9,94 ± 6,43	12,30 ± 8,26	10,50 ± 8,38	10,87 ± 9,51	9,53 ± 7,18
DT (%)	64,76 ± 32,99 bc	72,30 ± 35,82 c	54,92 ± 33,07 b	35,5 ± 24,20 a	23,00 ± 14,32 a
CAP (0-100)	60 a	63 a	68,6 a	71,1 a	75,1 a
Total de animais	17	37	39	32	15

Letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$).

Mot = motilidade, Vig = vigor, Turb = turbilhonamento, DM = defeitos maiores, Dm = defeitos menores, DT = defeitos totais

CAP (0-100) = somente para animais maduros dentro de cada faixa etária

A análise revelou que os testes para comparação das faixas etárias para peso corporal foram bem semelhantes aos obtidos para circunferência escrotal, o que demonstra íntima associação entre as duas características. Observa-se que os animais na faixa etária 25,0-26,9 foram mais pesados, seguidos pelos animais das faixas etárias imediatamente anteriores (23,0-24,9 e 21,0-22,9 meses), com todas diferindo entre si ($p < 0,05$) e também das faixas etárias 15,6-18,9 e 19,0-20,9

Todas as características apresentadas na tabela 7 para a faixa etária 21,0-22,9 apresentaram diferença ($P < 0,05$), comparadas às da faixa contígua 23,0-24,9 meses.

Guimarães (1993), também ao trabalhar com animais da raça Gir, porém alimentados com ração de alto valor protéico-energético durante todo o experimento, encontrou na idade de 20,3 meses os seguintes valores de peso corporal (324,5 Kg); circunferência

escrotal (28,5 cm); motilidade (69,5%); vigor (3,5); defeitos maiores (9,7%); defeitos menores (9,2%) e defeitos totais (18,9%).

Dentro da faixa etária que contempla aquela idade, porém com manejo alimentar exclusivo a pasto, observou-se nos animais trabalhados neste experimento os seguintes valores de peso corporal (276,72 Kg); circunferência escrotal (27,73 cm); motilidade (34,59%); vigor (3,22); defeitos maiores (60,0 %); defeitos menores (44,42%) e defeitos totais (72,30%).

Na tabela 8 estão resumidos os resultados da comparação entre médias para tourinhos jovens da raça Gir Leiteiro maduros e imaturos sexualmente, em diferentes faixas etárias.

médios obtidos e sua importância na determinação da maturidade sexual.

Os pesos corporais dos animais maduros foram maiores ($p < 0,05$) que os pesos dos animais imaturos nas faixas etárias 21,0-22,9 e 23,0-24,9 meses, assim como os valores para motilidade, vigor e turbilhonamento espermáticos. Houve diferença entre CE ($p < 0,05$) para as faixas etárias 19,0-20,9 e 21,0-22,9 meses, o mesmo sendo observado para turbilhonamento, defeitos maiores e defeitos totais, além de motilidade (somente na faixa etária de 21,0-22,9) e vigor (somente na faixa etária 19,0-20,9).

Tabela 8. Médias de peso corporal (PC), circunferências escrotais (CE) e características seminais de touros sexualmente maduros e imaturos, da raça Gir Leiteiro, nas faixas etárias de 15,6 a 26,9 meses de idade

Faixa etária	Categoria	PC (Kg)	CE (cm)	Mot	Vig	Turb	DM	Dm	DT
15,6-18,9	Maturos	253,50	29,00	35,00	3,00	1,50	13,50 a	6,00	19,50 a
	Imaturos	266,93	27,41	27,33	2,53	0,33	60,33 b	10,47	70,80 b
19,0-20,9	Maturos	292,83	29,87 a	44,17	4,33 a	1,67 a	13,83 a	11,17	25,00 a
	Imaturos	273,26	27,24 b	32,74	3,00 b	0,45 b	68,93 b	12,52	81,45 b
21,0-22,9	Maturos	332,72 a	30,67 a	54,54 a	4,27	2,18 a	11,81 a	7,63	19,45 a
	Imaturos	228,68 b	28,52 b	40,00 b	3,96	1,47 b	58,32 b	11,82	70,14 b
23,0-24,9	Maturos	354,19 a	31,80	56,43 a	4,62	2,29 a	12,24 a	7,95 a	20,19 a
	Imaturos	324,00 b	31,02	43,64 b	4,36	1,09 b	48,27 b	16,45 b	64,73 b
25,0-26,9	Maturos	369,61	34,05	59,61	4,61	2,46	10,46 a	7,46 a	17,92 a
	Imaturos	361,00	36,55	55,00	4,5	1,73	21,73 b	23,00 b	56,00 b

Letras diferentes na mesma coluna, em cada faixa etária, diferem estatisticamente pelo teste Student ($P < 0,05$)

Mot = motilidade, Vig = vigor, Turb = turbilhonamento, DM = defeitos maiores, Dm = defeitos menores, DT = defeitos totais

Maturos sexualmente: Defeitos maiores < 15% e Defeitos totais < 30% (Vale Filho, 1989)

Observou-se que os defeitos maiores e defeitos totais foram diferentes ($p < 0,05$) em todas as faixas etárias avaliadas, o que demonstra queda progressiva nos valores

Observou-se correlação positiva entre CE e qualidade seminal, portanto os melhores resultados para características do sêmen foram decorrentes da maior

circunferência escrotal. O aumento da CE na faixa etária 19,0-22,9 foi acompanhado por maior produção espermática (demonstrada por maior turbilhonamento, motilidade e vigor) e por redução na incidência de patologias espermáticas, como observado previamente por Ott (1986).

Na tabela 9 encontram-se representadas as correlações fenotípicas entre as diferentes características seminais, peso corporal, CE e CAP de tourinhos da raça Gir Leiteiro com idade média de 18,2 a 25 meses.

É provável que um *status* metabólico positivo e favorável à gametogênese tenha sido atingido nos machos jovens da raça Gir Leiteiro estudados, pelo fato de terem tido acabamento de carcaça precoce, com boas reservas de gordura de cobertura, (uma vez que a energia anabólica para a produção de carne para esses animais não acontece na mesma intensidade que nos machos bovinos selecionados para corte).

Tabela 9. Correlações fenotípicas (Pearson) entre peso corporal, circunferência escrotal (CE), características andrológicas e Classificação Andrológica por Pontos (CAP) de tourinhos da raça Gir Leiteiro de 18,2 a 25 meses de idade

	CE	Peso	Mot	Vig	Turb	DM	Dm	DT	CAP
CE	1								
Peso	0,64*	1							
Mot	0,59*	0,51*	1						
Vig	0,53*	0,46*	0,78*	1					
Turb	0,54*	0,54*	0,68*	0,61*	1				
DM	-0,56*	-0,46*	-0,56*	-0,51*	-0,54*	1			
Dm	0,04	-0,07	-0,11*	-0,05	-0,16*	0,00	1		
DT	-0,54*	-0,46*	-0,57*	-0,50*	-0,57*	0,97*	0,23	1	
CAP	0,61*	0,24*	0,48*	0,25*	0,41*	-0,62*	-0,23*	-0,47*	1

Mot = motilidade, Vig = vigor, Turb = turbilhonamento, DM = defeitos maiores, Dm = defeitos menores, DT = defeitos totais

* = significativo ao nível de 5% de probabilidade

Observou-se que as correlações entre CE e as demais características avaliadas, exceto defeitos menores (0,04), foram significativas e de média magnitude, o que indica que a co-variável está diretamente associada à qualidade do sêmen nesses animais.

Houve correlação significativa de média magnitude entre o peso corporal e as demais características, exceto defeitos menores (-0,07). Peso e CE foram correlacionados positiva (0,64) e significativamente ($p < 0,05$). Estes resultados são semelhantes aos observados em trabalhos prévios (Quirino et al., 1999b; Martinez et al., 2000; Ferreira et al., 2006).

Assim, os processos mitogênicos e reducionais para a produção dos gametas teriam transcorrido mais precoce e adequadamente, gerando espermatozóides com menores índices de patologias, condizentes com o sêmen de animais que atingem a maturidade sexual mais precocemente.

A motilidade, vigor e turbilhonamento apresentaram correlações negativas e de média magnitude com defeitos maiores e defeitos totais (-0,56; -0,51; -0,54 e -0,57; -0,50; -0,57, respectivamente). A CAP apresentou correlações favoráveis com todas as variáveis estudadas, o que ratifica a importância deste índice para a seleção indireta das qualidades morfo-

físico-funcionais do sêmen de tourinhos zebuínos jovens.

A tabela 10 apresenta a porcentagem de tourinhos classificados acima e abaixo de 60 pontos pela CAP para os 22 tourinhos da raça Gir Leiteiro avaliados neste experimento, aos 25 meses.

apresentaram CAP < 60 pontos. Ainda, um único tourinho (4,54%) não apresentou maturidade sexual completa aos 25 meses e, por isso, não foi classificado pela CAP. Isto demonstra a existência de variabilidade genética para a característica e a necessidade de identificação dos indivíduos andrológicamente mais competentes para fins de seleção e melhoramento dos plantéis em geral.

Tabela 10. Avaliação andrológica de tourinhos Gir Leiteiro avaliados aos 25 meses de idade

	CAP		Com distúrbios nos órgãos genitais e sêmen
	> 60 pontos	< 60 p	Não avaliados pela CAP
Porcentagem	81,81	13,64	4,54
N[umero de animais	18	3	1

CAP = Classificação Andrológica por Pontos (Vale Filho, 1989)

CAP > 60 pontos = animais sugeridos como andrológicamente mais fortes

CAP < 60 pontos = animais sugeridos como andrológicamente menos fortes

A média da CAP para os tourinhos pontuados acima de 60 pontos (18) foi 79,4 pontos, valor considerado alto para animais dessa faixa etária, indicando que o potencial andrológico do grupo classificava-se como muito bom e que o manejo a que os animais foram submetidos nesse período (estrategicamente) permitiu a boa expressão das características que compõem esse índice: CE, motilidade, turbilhonamento e vigor, além dos defeitos maiores e defeitos totais, sempre em função da idade. A média da CAP dos animais pontuados abaixo dos 60 pontos (03) foi de 56,7, ligeiramente menor que o mínimo preconizado (Vale Filho, 1989).

Observou-se que 81,81% (18) dos animais haviam atingido a maturidade sexual, com CAP > 60 pontos, e que 13,64% (03) dos tourinhos, apesar de serem sexualmente maduros,

Como uma das fontes importantes de receita da FEGV é a venda de tourinhos, o manejo alimentar estratégico, associado à idade, determinou que 86,6% dos animais estivessem maduros sexualmente aos 25-26,9 meses, com 81,8% apresentando CAP > 60 pontos, aprovados portanto, para iniciarem o serviço a campo. Isto acelera a entrada de ativos e gira o capital investido na fazenda. Na figura 3 observa-se a evolução do CAP durante o período experimental.

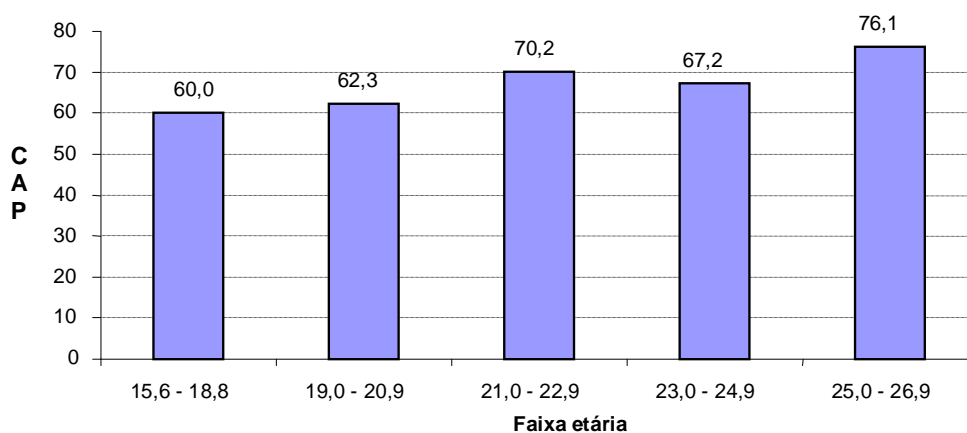


Fig.3. Evolução da CAP de acordo com a faixa etária

É necessário ressaltar que o CAP é um índice dinâmico e, já que a CE somente atinge um platô de crescimento nos bovinos zebuínos em torno dos 40 meses (Quirino et al., 1999a), os valores de CAP tendem a aumentar com o avançar da idade. Neste estudo, no entanto, três tourinhos atingiram o CAP = 100 pontos aos 26 meses de idade, demonstrando a importância da avaliação andrológica precoce para fins de seleção de reprodutores.

Na tabela 11 encontram-se as médias de idade, peso corporal (PC), circunferência escrotal (CE), características seminais e classificação andrológica por pontos (CAP) de oito machos jovens da raça Gir Leiteiro selecionados para a criopreservação de sêmen. Observa-se que todos os animais apresentaram valores mínimos recomendados pelo CBRA (1998) para doadores de sêmen. Além disso, apresentaram-se com CE de valores excelentes (Vale Filho, 1997), apesar do peso corporal mediano, porém já esperado em função de se tratarem de reprodutores de raça leiteira.

Tabela 11. Médias de idade, peso corporal (PC), circunferência escrotal (CE), características seminais e Classificação Andrológica por Pontos (CAP) de oito tourinhos da raça Gir Leiteiro, selecionados para criopreservação do sêmen

Idade (meses)	PC (Kg)	CE (cm)	Mot (%)	Vig (5)	(1-5)	Turb (0-5)	DM (%)	DT (%)	CAP (0-100)
Média	25,7	354,8	34,4	66,87	4,62	3,88	10,75	17,37	84,4

Mot = motilidade, Vig = vigor, Turb = turbilhamento, DM = defeitos maiores, Dm = defeitos menores, DT = defeitos totais CAP (Vale Filho, 1989)

A tabela 12 mostra os efeitos deletérios da criopreservação sobre os ejaculados, diluídos em ambos os diluidores, para todas as características avaliadas, exceto defeitos maiores. Para todas as outras variáveis, no entanto, houve diferença ($p < 0,05$) entre o sêmen *in natura* e o pós-congelado.

Quando se comparou a eficiência dos dois diluidores em manter a viabilidade dos espermatozoides pós-congelação, observou-se que o diluidor proposto por Nagase & Niwa (1964), aqui tratado somente como Nagase, constituído a base de gema de ovo, lactose e glicerol, foi mais eficiente que o diluidor Bioxcell® para as características motilidade (37,50% x 13,75%), vigor (3,56 x 1,81), cauda dobrada (10,75% x 14,75) e espermatozoides reagentes ao teste hiposmótico (37,62% x 16,62%).

Tabela 12. Características do sêmen de oito machos jovens da raça Gir Leiteiro, com média de idade de 25 meses

Condição dos ejaculados	Características seminais									
	Mbt (%)	Vig (5)	(1 DM (%)	Dm (%)	DT (%)	Acros (%)	Cdob (%)	Thos (%)	Normais (%)	
<i>In natura</i> pré-congelação	66,87 a	4,62 a	10,75	6,62 a	17,37 a	1,25 a	2,37 a	—	82,62 a	
Pós-congelação em Nagase	37,50 b	3,56 b	10,25	14,00 b	24,25 b	4,87 b	10,75 b	37,62 a	75,75 b	
Pós-congelação em Bioxcell®	13,75 c	1,81 c	10,87	17,00 b	27,87 b	4,37 b	14,75 c	16,62 b	72,12 b	

Mbt = motilidade, Vig = vigor, Turb = turbilhonamento, DM = defeitos maiores, Dm = defeitos menores, DT = defeitos totais, Acros = defeitos de acrossoma, Cdob = cauda dobrada, Thos = espermatozoides reagidos no teste hiposmótico

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si por análise de variância SNK ($p < 0,05$).

Análise não-paramétrica foi realizada para vigor (Vig) com o teste Kruskal-Wallis ($P < 0,05$)

Resultados também significativos para valores de motilidade pós-congelação, utilizando diluidores a base de gema de ovo, foram encontrados por Aboagla e Terada (2004), Chen et al., (1993). Aires et al. (2003), ao contrário, encontraram menores valores de motilidade para o sêmen criopreservado em TRIS-gema comparado ao diluidor comercial à base de lecitina de soja ($p < 0,05$), sem diferenças, no entanto, para os testes de adesão à zona pelúcida e reação acrossômica induzida ($p > 0,05$).

Não houve diferença entre as condições pré e pós-congelamento para defeitos menores, defeitos totais, defeitos de acrossoma e porcentagem de espermatozoides normais ($p < 0,05$).

Aboagla e Terada (2004), ao trabalharem com sêmen caprino, encontraram valores menores ($p < 0,05$) para lesões de acrossoma em diluidores que não continham gema de ovo, principalmente os que possuíam trealose como base; no entanto, não encontraram diferenças entre glicerol e gema de ovo, associados ao Tris, para porcentagem de defeitos de acrossoma. Determinaram ainda que, a adição de trealose a meios que contêm gema de ovo melhora significativamente ($p < 0,05$) a preservação do acrossoma pós-congelação. Jones e Martin (1973), por outro lado, ao trabalharem com sêmen de carneiros, demonstraram que a gema de ovo foi eficiente em preservar as características ultra - estruturais dos

espermatozoides, especialmente as do acrossoma.

No teste hiposmótico (HO) maior porcentagem ($p < 0,05$) de espermatozoides reativos pós-congelação foi observada com o uso do diluidor Nagase (37,62%) em relação ao diluidor Bioxcell® (16,62%). As células crioprotegidas pelo primeiro diluidor sofreram menores taxas de ruptura de membranas espermáticas, portanto, apresentaram maior viabilidade pós-congelação e melhores perspectivas em relação à fertilização do oócito (Jeyendran et al., 1984).

Os resultados do HO indicaram associação entre motilidade e vigor espermático pós-congelação, o que aumenta sua importância como teste funcional complementar a ser utilizado, pelo menos pelas Centrais de Inseminação Artificial e, de maneira complementar, ratifica a importância das características motilidade e vigor pós-congelação como indicadores do poder fecundante do sêmen (Casagrande et al., 1979; Vale Filho, 1989; CBRA, 1998).

O valor de CAP médio desses animais (84,4 pontos) foi muito alto para a idade. Destaca-se, contudo, que só foram utilizados animais que oferecessem padrões de sêmen de excelência para a comparação da congelabilidade entre os dois diluidores empregados.

Os resultados obtidos sugerem que os ejaculados de bovinos jovens da raça Gir Leiteiro encontraram melhor complementariedade quando se utilizou o diluidor Nagase, quer pela maior taxa de glicerol e de lactose, quer pelas características das macro-moléculas da gema do ovo em relação às macro-moléculas presentes no Bioxcell®;

sugerem ainda que houve melhor adequação do sêmen diluído em Nagase ao processo de congelação realizado pela máquina CRYOGEN®.

Com relação às normas estabelecidas pelo CBRA (1998) para características físicas do sêmen congelado, quais sejam motilidade ($>30\%$) e vigor ($>3,0$), todas as doses criopreservadas em Nagase (100%) foram aprovadas. Ao contrário, nenhuma dose (zero) criopreservada com Bioxcell®, nas mesmas condições experimentais, obteve o mesmo êxito.

6. CONCLUSÕES

A variação na expressão da puberdade e maturidade sexual de tourinhos Gir Leiteiro, avaliados dos 15,6 aos 26,9 meses de idade, sob regime alimentar estratégico (confinamento na seca), permite a seleção de tourinhos andrológicamente mais competentes.

Taxa de recuperação de 100% de doses viáveis pós-congelação são obtidas ao se utilizar diluidor à base de lactose-gema-glicerol para tourinhos com CAP > 60 pontos, criados em condições tropicais, sob manejo alimentar estratégico. Ao contrário, quando da utilização do diluidor à base de lecitina de soja, a taxa de recuperação foi significativamente menor.

Índices relacionados à fertilidade de tourinhos Gir Leiteiro, como a circunferência escrotal e Classificação Andrológica por Pontos, devem ser incorporados a programas de melhoramento genético da raça a fim de melhorar a fertilidade dos rebanhos Núcleos, Multiplicadores e Comerciais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOAGLA, E. M. E.; TERADA, T. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology*, v. 62, p. 1160–1172, 2004.
- AIRES, V. A.; HINSCH, K.D.; MÜLLER-SCHLÖSSER, F. et al. In vitro and in vivo comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology*, v. 60, p. 269, 2003.
- ALMQUIST, J. O.; AMANN, R. P. Effect of a high ejaculation frequency on sperm characteristics of Holstein bulls from puberty to two years of age. *J. Dairy Sci.*, v.45, p.688-689, 1962.
- ALVES, B. C. A.; UNANIAN, M. M.; SILVA, E. et al. Use of RAPD markers for identifying Nelore bulls with early reproductive maturation onset. *Anim. Reprod. Sci.* v.85, n.3-4, p.183-191, 2005.
- AMANN, R. P. Endocrine changes associated with onset of spermatogenesis in Holstein bulls. *J. Dairy Sci.*, v. 66, n.12, p. 2606-2622, 1983.
- AMANN, R. P.; WALKER, O. A. Changes in the pituitary-gonadal axis associated with puberty in Holstein bulls. *J. Anim. Sci.*, v. 57, n.2, p. 433-442, 1983.
- AMANN, R. P.; SEIDEL, G. E.; MORTIMER, R. G. Fertilizing potential in vitro of semen from young beef bulls containing high or low percentage of sperm with a proximal droplet. *Theriogenology*, v. 54, n.9, p. 1499-1515, 2000.
- AMSTALDEN, M.; ZIEBA, D. A.; EDWARDS, J. F. et al. Leptin Acts at the Bovine Adenohypophysis to Enhance Basal and Gonadotropin-Releasing Hormone-Mediated Release of Luteinizing Hormone: Differential Effects Are Dependent upon Nutritional History. *Biol. Reprod.* v.69, p. 1539-1544, 2003.
- ANCHIETA, M. C. *Características do sêmen de touros de raças zebuínas e taurinas, em central de inseminação artificial no Brasil.* 2003. 52f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- ANTUNES, R. C. *Padrão de fermentação das silagens de seis genótipos de milho (Zea mays L.).* 2001. 49f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais, 2001.
- ASBIA 2004. Evolução da Inseminação Artificial no Brasil e perspectiva para o mercado de trabalho no setor. In: SEMANA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL DA ASBIA, 1, 2004. Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: ASBIA, 2004, Cd-Rom.
- ASELTINE, M. S. Corn silage quality can vary depending on hybrid planted. *Feedstuffs*, v.60, n.4, p. 13-15, 1998.
- BARBOSA, V.; MAGNABOSCO, C. U.; FARIA, C. U. et al. Implementação da amostragem de Gibbs no estudo da correlação genética entre as características espessura de gordura e perímetro escrotal em tourinhos da raça Nelore. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005. Goiânia. *Anais...* Goiânia: Cd-Rom.

- BARTH, A. D.; OKO, R. J. *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*, Ames: Iowa State University Press, 1989, 285 p.
- BASTIDAS-MENDOZA, P. S. Puberdade en novillas y toros Brahman. *Rev. Fac. Agron. Univ. Zulia*. v.16, n.6, p. 690-707, 1999.
- BERGMANN, J.A.G. et al. Estimativas de parâmetros genéticos do perímetro escrotal e do peso corporal em animais da raça Nelore. *Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.*, v.48, p.69-78, 1996.
- BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. *Nord. Vet. Med.*, v.25, p.383-391, 1973.
- BOUSSEAU, S.; BRILLARD, .P.; MARQUANT-LE GUIENNE, B. et al. Comparison of bacteriological qualities of various egg yolk sources and the in vitro and in vivo fertilizing potential of bovine semen frozen in egg yolk or lecithin based diluents. *Theriogenology*, v. 50, p.699-706, 1998.
- BRASIL. *Normais climatológicas* (1961-1990), Brasília, 1992, 84p.
- BRAUNDMEIER, A. G.; MILLER, D. J. Invited review: The search is on: finding accurate molecular markers of male fertility. *J. Dairy. Sci.*, v. 84, p. 1915-1925, 2001.
- BRITO, L. F. C.; SILVA, A. E. D. F.; UNANIAN, M. M. et al. Sexual development in early- and late-maturing *Bos indicus* and *Bos indicus* _ *Bos taurus* crossbred bulls in Brazil. *Theriogenology*, v. 62, p. 1198-1217, 2004.
- BROWN, B. W. A review of nutritional influences on reproduction in boars, bulls and rams. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.34, p. 89-114, 1994.
- CARDOSO, F. M. *Desenvolvimento dos órgãos genitais masculinos de zebus (Bos indicus), da raça Nelore, do período fetal aos 36 meses de idade*. 1977. 113p. Dissertação (Mestrado em Morfologia) – Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, Belo Horizonte.
- CARTAXO, W.O.; PENA-ALFARO, C.E.; BACALHAU, A.; ALBUQUERQUE, et al. Parâmetros seminais e circunferência escrotal de touros jovens da raça Guzerá criados no estado da Paraíba. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v. 25, n.2, p. 214-215, 2001.
- CASTRO, V.M. et al. Puberdade e maturação sexual em tourinhos nelore criados a pasto na região de Montes Claros, Minas Gerais. In: CONGRESSO MINEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 4., 1990. P.18.
- CASAGRANDE, J.F. et al. A influência da motilidade e da velocidade espermática sobre a fertilidade do sêmen. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.3, n.2, p.31-35, 1979.
- CBRA 1998. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal, 2ed.. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p.:il.
- CELEGHINI, E. C. C. *Efeitos da criopreservação do sêmen bovino sobre as membranas plasmática, acrossomal e mitocondrial e estrutura da cromatina dos espermatozoides utilizando sondas fluorescentes*. 2005. 186p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) –

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo.

CHASE JR, C. C.; CHENOWETH, P. J.; LARSEN, R. E. et al. Growth and reproductive development from weaning through 20 months of age among breeds of bulls in subtropical Florida. *Theriogenology*, v. 47, n. 3, p. 723-745, 1997.

CHELIKANI, P.K.; GLIMM, D. R.; KENNELLY, J. J. Short Communication: Tissue distribution of leptin receptor and leptin receptor mRNA in the bovine. *J. Dairy. Sci.*, v. 86, p.2369-2372, 2003.

CHENOWETH, P. J.; BALL, L. Breeding soundness evaluation in bulls. In: MORROW, D.A. Current Therapy in Theriogenology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1980. p. 330-339.

CORRÊA, A. B. Características do sêmen e maturidade sexual de touros jovens da raça Tabapuã (*Bos taurus indicus*) em diferentes manejos alimentares. 2005.48p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

CORREA, J.R.; PACE, M.M., ZAVOS, P.M. Relationship among frozen-thawed sperm characteristics assessed via the routine semen analysis, sperm functional tests and fertility of bulls in an artificial insemination program. *Theriogenology*, v. 48, p. 721-731, 1997.

COSTA, C.; ARRIGONI, M. B.; SILVEIRA, A. C. et al. Desempenho de bovinos superprecoces alimentados com silagem de milho ou feno de aveia e grãos de milho ensilados ou secos. *Acta Scientiarum*, v. 24, n.4, p. 1175-1183, 2002.

COULTER, G. H.; KOZUB, G. C. Efficacy of methods used to test fertility of beef bulls used for multiple sire breeding under range conditions. *J. Anim. Sci.*, v. 67, p.1757-1766, 1989.

CRUDELI, G. A. et al. Proposição de um método de avaliação da aptidão reprodutiva de touros Nelore em serviço de monta natural e seu efeito sobre a prenhez aos 50 dias do início da estação de monta. In: CONGRESSO MINEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 3., 1998, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Escola de Veterinária – UFMG, 1988. p.42.

DIAS, J. C. *Aspectos andrológicos, biometria testicular e parâmetros genéticos de características reprodutivas de touros nelore, de dois e três anos de idade, criados extensivamente no Mato Grosso do Sul*. 2004. 52p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

EVANS, A. C. O.; DAVIES, F. J.; NASSER, L. F. et al. Differences in early patterns of gonadotrophin secretion between early and late maturing bulls and changes in semen characteristics at puberty. *Theriogenology*, v. 43, p. 569-578, 1995.

FERREIRA, M.B.D.; LOPES, B.C.; FERREIRA, J.J. Sustentabilidade do sistema de produção de leite com animais F1: perspectivas e pesquisa In: MADALENA, F.E.; MATOS, L.L.; HOLANDA Jr., E.V.(Org.). Produção de Leite e Sociedade: FEPMVZ, Belo Horizonte, 2001, p.383-404.

FERREIRA, M. B. D. ; VALE FILHO, V. R. ; FELIPE-SILVA, A. S. et al. Pearson's correlations among andrological and zootechnical parameters

- in dairy Gyr breed (*Bos Taurus indicus*). *Animal Reproduction*, v.3, n.1, p. 260, 2006.
- FERRET, A.; GASA, J.; PLAIXATS, J., et al. Prediction of voluntary intake and digestibility of maize silages given to sheep from morphological and chemical composition, *in vitro* digestibility or rumen degradation characteristics. *Animal Science*, v. 64, n.3, p. 493-501, 1997.
- FONSECA, V. O. et al. Classificação andrológica de touros zebus (*Bos taurus indicus*) com base na biometria testicular e características morfo-físicas do sêmen. Uma nova proposição. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Supl.1, p.187, 1989.
- FONSECA, V. O. et al. Aptidão reprodutiva de touros da raça Nelore. Efeito das diferentes estações do ano sobre as características seminais, circunferência escrotal e fertilidade. *Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.*, v.44, n.1, p. 7-15, 1992.
- FONSECA, V. O. O touro no contexto da eficiência reprodutiva do rebanho. *Inf. Agropec.*, v.21, n. 205, p. 48-63, 2000.
- FOSTER, D. L.; NAGATANI, S. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. *Biol. Reprod.*, v.60, p.205-215, 1999.
- FOOTE, R. H. Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. *Anim. Reprod. Sci.*, v.75, n.1-2, p. 119-139, 2003.
- FRANÇA, L. R. *Desenvolvimento reprodutivo de suínos da raça Piau, do nascimento aos 12 meses de idade*. 1987. p.79. Dissertação (Mestrado em Morfologia) – Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, Belo Horizonte.
- FREITAS, G. A. R. *Consumo e digestibilidade aparente das silagens de cinco genótipos de milho (Zea mays L.)*. 2002. 50p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.
- FRENEAU, G. E. *Desenvolvimento reprodutivo de tourinhos Holandeses-PB e mestiços Holandeses-Gir desde os seis aos 21 meses de idade (Puberdade e pós-puberdade)*. 1991. 194p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.
- FRENEAU, G. E. *Biópsia testicular em touros nelore na puberdade e pós-puberdade e sua consequência na espermatogênese e sêmen*. 1996. 187p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- FRENEAU, G. E.; VALE FILHO, V. R.; MARQUES Jr. A. P. et al. Puberdade em touros Nelore criados a pasto no Brasil: características corporais, testiculares, seminais e índice de capacidade andrológica por pontos (ICAP). *Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.* v. 58, n.6, p. 1107-1115.
- GARCIA, J. M.; PINHEIRO, L. E. L.; OKUDA, H. T. Body development and sêmen physical and morphological characteristics of Young Guzará bulls. *Ars Vet.*, v.3, n.1, p. 47-53, 1987.
- GARCIA, M. R.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, S.W. et al. Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. *J. Anim. Sci.* v. 80, n.8, p. 2158-2167, 2002.

- GIL, J.; JANUSKAUSLAS, A.; HAARD, M. et al. Functional sperm parameters and fertility of bovine semen extended in Biociphos Plus_ and Triladyl. *Reprod. Dom. Anim.* v. 35, n. 69, 2000.
- GRAVANCE, C. G.; VISHWANATH, R.; PITT, C. et al. Effects of cryopreservation on bull sperm head morphometry. *J. Andrology.* v. 19, n. 6, 1998.
- GUIMARÃES, J. D. et al. Testicular biopsy correlated with testicular growth and sêmen characteristics in Gir bulls, in Brazil. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 12, 1992.
- GUIMARÃES, J. D. Puberdade e maturidade sexual em touros da raça Gir criados em condições semi-extensivas. 1993. 85p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.
- GUIMARÃES, P.H.; MADALENA, F.E.; CEZAR, I.M. Produzir bezerros de corte ou bezerras F1? In: ENCONTRO DE PRODUTORES DE GADO LEITEIRO F1, 4, 2002. Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: FEPMVZ, 2002, p.20-34.
- GRESSLER, S. L. et. al. Estudo das associações genéticas entre perímetro escrotal e características reprodutivas de fêmeas da raça Nelore. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. *Anais...* Botucatu: SBZ, 1998. p. 368-370.
- HAFEZ, E.S.E. *Reprodução animal*, 6.ed., Manole Ltda: São Paulo, 1995.
- HANCOCK, J. L. The morphology of boar spermatozoa. *J. Roy. Micro. Soc.*, v.76, p. 84-97, 1957.
- HOLT, W. V.; North, R. D. Thermotropic phase transitions in the plasma membrane of ram spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, v. 78, p. 447-457, 1986.
- HOLT, W.V. Basic aspects of frozen storage of semen. *Animal Reproduction Science*, v.62, p. 3-22, 2000.
- JOHNSON, W. H. The significance to bull fertility of morphologically abnormal sperm. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* V.13, n.2, p. 255-270, 1997.
- JONES, R. C.; MARTIN, I. C. A. The effects of dilution, egg yolk and cooling to 5 °C in the ultrastructure of ram spermatozoa. *J. Reprod. Fétil.* v. 35, p. 311–20, 1973.
- LOBREIRO, J. C. T.; MACIEL, A. S.. Proposta de tabelas para avaliar a aptidão fecundante de reprodutores Nelore criados em regime extensivo no centro-oeste brasileiro. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* v.11, n.2, p. 77-80, 1987.
- MACIEL, M. N.; ZIEBA, D. A.; AMSTALDEN, M. et al. Leptin prevents fasting-mediated reductions in pulsatile secretion of luteinizing hormone and enhances its GnRH-mediated release in peripubertal heifers. *Biol. Reprod.* v.70, p.229–235, 2004.
- MADALENA, F.E. Sistema de reposição continua do rebanho leiteiro com fêmeas F1 de *Bos Taurus x Bos indicus* no Brasil. In: MADALENA, F.E.; MATOS, L.L.; HOLANDA Jr., E.V.(Org.). *Produção de*

Leite e Sociedade: FEPMVZ, Belo Horizonte, 2001, p.333-364.

MARCATTI, NETO, A.M.; RUAS, J.R.M.; AMARAL, R. Vaca de leite, bezerro de corte. *Informe Pecuário*, v.21, n.205, p.64-69, Belo Horizonte, 2000.

MARTINEZ, M.L; VERNEQUE, R.S.; TEODORO, R.L. et al. Correlações entre características da qualidade do sêmen e a circunferência escrotal de reprodutores da raça Gir. *Rev. Bras. Zootec.*, v.29, n.3, p. 700-706, 2000.

MARTINEZ, M. L.; VERNEQUE, R. S.; TEODORO, R. L.; et al. *Programa Nacional de Melhoramento do Gir Leiteiro – Sumário Brasileiro de Touros – Resultado do Teste de Progênie*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2006.

MATHEVON, M. et. al. Environmental, management and genetic factors affecting sêmen production in Holstein bulls. *J. Dairy Sci.*, v.81, p. 3321 – 3330, 1998.

McCARTHY, M. S.; HAFS, H. D.; CONVEY, E. M. Serum hormone patterns associated with growth and sexual development in bulls. *J. Anim. Sci.*, v.49, n.4, p. 1012-1020, 1979.

McDONALD, P.; WHITTENBURY, R. The ensilage process. In: BUTLER, G. W., BAILEY, R. W. (Eds.) *Chemistry and biochemistry of herbage*. London: Academic, 1973, v.3, p. 33-66.

MELO, M.I.V. *Teste hiposmótico na avaliação do sêmen equino*. 1999. 67f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MOLINA, R., BOLAÑOS, I., GALINA, C.S., PEREZ, E., PANIAGUA, G., ESTRADA, S. Sexual behaviour of zebu bulls in the humid tropics of Costa Rica: simple versus multiple-sire groups. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 64, p. 139-148, 2000.

MORANI, E. S. C.; RONCOLETTA, M.; FRANCESCHINI, P. H. et al. Polimorfismo da transferrina e albumina e as associações com precocidade sexual em bovinos da raça Nelore doadores de sêmen. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 1998, v. 35, n.6, p.00-00. ISSN 1413-9596.

MOURA, A.A.A.; RODRIGUES, G.C.; MARTINS-FILHO, R. Desenvolvimento ponderal e testicular, concentrações periféricas de testosterona e características de abate em touros da raça Nelore. *Rev. Bras. Zootec. (Suplemento)* v.31, n.2, p. 934-943, 2002.

NAGASE, H; NIWA, T. Deep freezing of bull semen. Factors affecting survival of spermatozoa. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 5, 1964. Trento. Proceedings... Trento: ICAR, 1964, v.4, p. 410-415.

NKRUMAH, J. D.; LI, C.; YU, J. et al. Polymorphisms in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit. *J Anim Sci.*, v.83, n. 1 p. 20 – 28, 2005.

NUNES, I. J. *Nutrição animal básica*. Belo Horizonte: FEP-MVZ, 1998. 388p.

OTT, R. S. Breeding soundness examination of bulls. In: MORROW, D.A. *Current therapy in theriogenology*,

2 ed. Philadelphia: Saunders co., 1986. p.125-36.

PEREIRA, J. C. C. *Melhoramento genético aplicado à produção animal*. 4.ed. Belo Horizonte: FEP-MVZ, 2004.

PICARD-HAGEN, N.; SOURBE, O.; LYAZRHI, F. et. al. Effect of precocious collection on sêmen output and quality in young Holstein bulls. *Theriogenology*, v. 57, n. 5, p. 1551-1562, 2002.

PIMENTEL, C.A. et al. Desenvolvimento testicular e corporal em touros de corte. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.8, n.1, p.27-33, 1984.

PINTO, P.A.; SILVA, P.R.; ALBUQUERQUE, M.G. Avaliação da biometria testicular e capacidade de monta em bovinos das raças Guzerá e Nelore. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.13, n.3, p.151-156, 1989.

QUIRINO, C. R., BERGMANN, J.A.G.; VALE FILHO, V.R.; et. al. Relação fenotípica entre características físicas do sêmen, perímetro escrotal e libido, em touros Nelore. XVI ENC. PESQ. ESC. VET. UFMG, 16, 1998, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: FEP-MVZ, v.1, p.38, 1998.

QUIRINO, C.R.; BERGMANN, J.A.G.; VALE FILHO, V.R. et al. Evaluation of four mathematical functions to describe scrotal circumference maturation in nellore bulls. *Theriogenology*, v.52, n.1, p.25-34, 1999a.

QUIRINO, C.R. *Herdabilidades e correlações genéticas entre medições testiculares, características seminais e libido em touros Nelore*. 1999b. 78p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) –

Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

ROBERTSON, L.; BAILEY, J. L.; BUHR, M. M. Effects of cold shock and phospholipase A2 on intact boar spermatozoa and sperm head plasma membranes. *Mol Reprod Dev* v. 26, p. 143-149, 1990.

RONCOLETTA, M.; FRANCESCHINI, P. H.; LIMA, V. F. M. H. et al. Perfil em SDS-PAGE das proteínas do plasma seminal e sua relação com a congelabilidade do sêmen de touros doadores da raça gir. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* v.36 n.2, 1999.

RUCKEBUSH, Y.; PHANEUF, L.P.; DUNLOP, R. *Physiology of small and large animals*. Philadelphia: B. C. Decker, 1991. 672p.

SALVADOR, D.F. *Perfis andrológicos, de comportamento sexual e desempenho reprodutivo de touros nelore desafiados com fêmeas em estro sincronizado*. 2001. 53f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

SANCHES, A.C. et al. Efeito do manejo nutricional sobre medidas lineares e níveis de testosterona em touros zebuínos jovens. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998. Botucatu. *Anais...* Botucatu: SBZ, 1998, p.46-48.

SARREIRO, L.C.; BERGMANN, J.A.G.; QUIRINO, C.R. et al. Herdabilidade e correlação genética entre perímetro escrotal, libido e características seminais de touros Nelore. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.54, n.6, p. 602-608, 2002.

SAVASTANO, S. *Efeito da castração sobre o desempenho e características de*

carcaça e de carne do bovino *superprecoce*. 2000. Tese (Doutorado) - FCAV, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SENGER, P. I. *Puberty*. In: SENGER, P. I., Pathways to pregnancy and parturition. Current Conceptions, 1999, p. 100-115.

SCHMIDT-HEBBEL, J.; TONIOLLO, G. H.; LEITE, F. G. et al. Características físicas e morfológicas de sêmen de touros jovens das raças Gir, Guzera, Nelore (*Bos taurus indicus*) e Caracu (*Bos taurus taurus*). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.52, n.5, p. 461-467, 2000.

TEODORO, R. L.; MADALENA, F. E.; SMITH, C. The value of F1 dairy taurus-indicus for milk production in poor environments. *J. Anim. Breed. Genet.* v. 113, p. 471-482, 1996.

TOELLE, V.D.; ROBISON, O.M. Estimates of genetic correlations between testicular measurements and female reproductive traits in cattle. *J. Anim. Sci.*, v.60, n.1, p.89-100, 1985.

TORRES JÚNIOR, J. R. S. *Desenvolvimento ponderal e sexual de machos da raça Guzera (Bos taurus indicus)*. 2004. 44p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

TROCÓNIZ, J. F.; BELTRÁN, J.; BASTIDAS, H. et al. Testicular development, body weight changes, puberty and semen traits of growing guzerat and Nelore bulls. *Theriogenology.*, v. 35, n. 4, p. 815-826, 1991.

VALE FILHO, V.R. Desenvolvimento testicular em touros: aspectos clínicos. In:

CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7, 1988. Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1988, v.1, p. 418-438.

VALE FILHO, V. R. Padrões de sêmen bovino, para o Brasil. Análise e sugestões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 8, 1989, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1989. p.94-118.

VALE FILHO, V. R. et al. Desenvolvimento testicular e maturidade sexual em bovinos. *Cad. Téc. Vet. Zootec.*, n.8, p.63-75, 1993.

VALE FILHO, V.R. Andrologia no touro: avaliação genital, exame do sêmen e classificação por pontos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.21, n.3, p.7-13, 1997

VALE FILHO, V. R.; QUIRINO, C. R.; ANDRADE, V. J. et al. Parâmetros genéticos da classificação andrológica por pontos (CAP), em touros da raça Nelore. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.23, n.3, p.253-255, 1999.

VALE FILHO, V. R. Subfertilidade em touros: parâmetros para avaliação andrológica e conceituação geral. *Cad. Téc. Vet. Zootec.*, n.35, p. 81-87, 2001.

VAN WAGTENDONK-LEEUEW, A. M.; HARING, R. M.; KAAL-LANDSBERGEN, L. M. T. E. et al. Fertility results using bovine semen cryopreserved with extenders based on egg yolk and soybean extract. *Theriogenology*, v. 54, n. 57, 2000.

WATSON, P. F. The effects of cold shock on sperm cell membranes In: MORRIS, G. J., CLARKE, A. (eds), *The Effects of Low Temperatures on*

Biological Membranes. London: Academic Press, 1981; p. 189-218.

WATSON, P. F. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod. Fertil. Dev.* V.7, p.871-891, 1995.

WILLIAMS, G.L.; AMSTALDEN, M.; GARCIA, M. R. et al. Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. *Dom. Anim. Endocrin.*, v. 23, p. 339-349, 2002.

WOLF, F. R.; ALMQUIST, J. O.; HALE, E. B. Prepuberal behavior and puberal characteristics of beef bulls on high nutrient allowance. *J. Anim. Sci.* V.24, n.2, p. 761-765, 1965.

APÊNDICE 2

DILUIDOR Nagase e Niwa, 1964

Lactose.....11%

APÊNDICE 1 - Produção leiteira das matrizes, por ordem de lactação

	ORDEM	N	MÉDIA	MINIMO	MAXIMO	
	1	13	2347.17	1152.00	3779.00	
	2	16	2648.98	1436.84	3858.00	
	3	11	2586.44	1663.30	3682.00	
Gli	4	7	2955.09	1799.00	4101.00	
cer	5	5	3064.42	1955.90	3691.20	
ol...	6	6	2996.82	1744.90	4093.00	
.....	7	3	3872.67	3299.00	4635.00	
.....	8	2	3590.50	3314.00	3867.00	
.....	9	1	3509.00	3509.00	3509.00	AP
.....	10	2	3893.00	3749.00	4037.00	ÊN
6%	11	2	3320.50	2798.00	3843.00	DI
Ge	12	1	1128.00	1128.00	1128.00	CE
ma	13	1	2749.00	2749.00	2749.00	3
de						

ovo.....20%

Estreptomicina.....1mg/ml

Penicilina potássica...1 x 10⁶ UI/ml

Água destilada..... q.s.p. 100ml

BIOXCELL (IMV Technologies, IVP do Brasil)

Composição química por Litro

Tris.....2,3 g
 Citrato de sódio.....6,2 g
 Cloreto de Potássio.....0,8 g
 Frutose.....1,2 g
 Monohidrato de lactose.. 0,8g
 Glicina..... 0,2 g
 Glicose anidra..... 0,2 g
 Taurina.....0,005g
 Sulfato de gentamicina...0,24g
 Tartrate de tilosina.....0,33g
 Lincospectina 100.....0,383g
 Glicerol.....40,2 g
 Hidrato de cálcio lactato.. 0,7 g
 Lecitina de soja.....1,5 g
 Monohidrato de ácido cítrico.. 2,5g
 Água ultra-pura.....0,065L