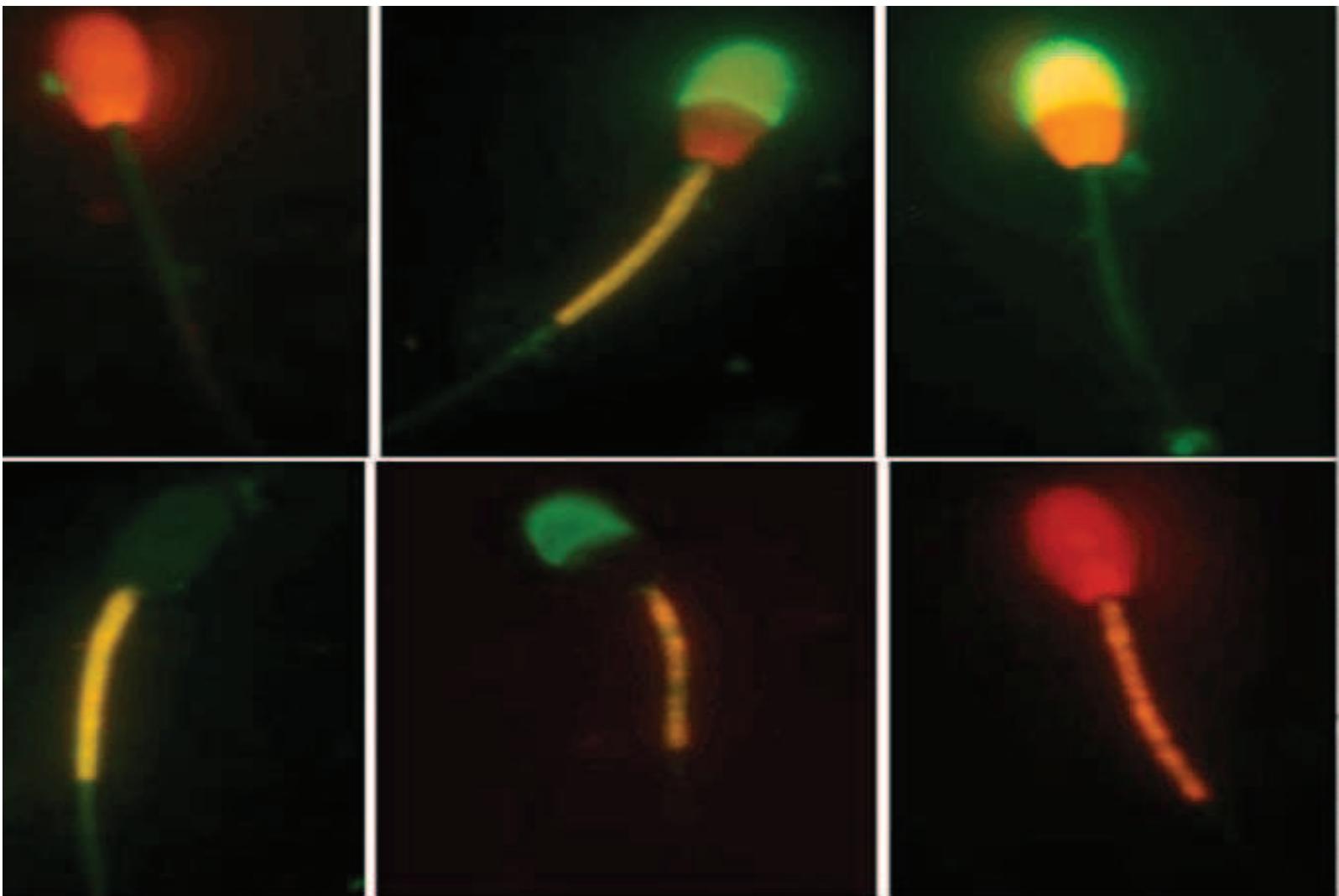


## 2ª Reunião da Associação Brasileira de Andrologia Animal (ABRAA) ANAIS



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Pantanal  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

## **Documentos 146**

### **2ª Reunião da Associação Brasileira de Andrologia Animal (ABRAA) ANAIS**

Juliana Corrêa Borges Silva  
Luiz Alfredo Garcia Deragon  
Marco Antônio Carstens Mendonça

*Organizadores*

**Embrapa Pantanal**  
Corumbá, MS  
2017

Exemplares dessa publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Pantanal**

Rua 21 de Setembro, 1880, CEP 79320-900, Corumbá, MS  
Caixa Postal 109  
Fone: (67) 3234-5800  
Fax: (67) 3234-5815  
Home page: [www.embrapa.br/pantanal](http://www.embrapa.br/pantanal)  
Email: [www.embrapa.br/fale-conosco/sac/](mailto:www.embrapa.br/fale-conosco/sac/)

**Unidade Responsável pelo conteúdo**

Embrapa Pantanal

**Comitê Local de Publicações da Embrapa Pantanal**

Presidente: *Ana Maria Dantas de Maio*  
Secretária: *Marilisi Jorge da Cunha*  
Membros: *Ana Helena B. M. Fernandes*  
*Fernando Rodrigues Teixeira Dias*  
*Juliana Corrêa Borges Silva*  
*Márcia Furlan N. Tavares de Lima*  
*Sandra Mara Araújo Crispim*  
*Viviane de Oliveira Solano*

Supervisora editorial: *Ana Maria Dantas de Maio*  
Tratamento de ilustrações: *Marilisi Jorge da Cunha*  
Editoração eletrônica: *Marilisi Jorge da Cunha*  
*Foto da capa: ABMVZ, v. 62, n.3, Belo Horizonte, June 2010.*

**1ª edição**

Formato digital (2017)

**Todos os direitos reservados.**

**A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,  
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Embrapa Pantanal**

---

Reunião da Associação Brasileira de Andrologia Animal (ABRAA) (2. : 2017 : Uberlândia, MG).

Anais da 2ª Reunião da Associação Brasileira de Andrologia Animal (ABRAA), Uberlândia, MG, 09 a 10 de junho de 2017 [recurso eletrônico] / organizado por Juliana Corrêa Borges Silva ... [et al.]. – Dados eletrônicos. – Corumbá: Embrapa Pantanal, 2017.

201 p. (Documentos / Embrapa Pantanal, ISSN 1981-7223 ; 146).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: <[www.embrapa.br/pantanal/publicacoes](http://www.embrapa.br/pantanal/publicacoes)>

Título da página da Web (acesso em 26 de set. 2017)

1. Reprodução animal. 2. Andrologia animal. 3. Pesquisa. I. Silva, Juliana Borges da., org. II. Deragon, Luis Alfredo Garcia, org. III. Mendonça, Marco Antônio Carstens, org. VI. Embrapa Pantanal. Série.

---

CDD 636.082 (21. ed.)

© Embrapa 2017

## Influência da insulação testicular em touros bubalinos (*Bubalus bubalis*) e mudanças no padrão da morfologia espermática

Arnaldo Algaranhar Gonçalves<sup>4\*</sup>, Thiago Velasco Guimarães Silva<sup>1</sup>, Eduardo Baia de Souza<sup>1</sup>, Dayana Neves De Melo<sup>5</sup>, Sebastião Tavares Rolim Filho<sup>2</sup>, Alexandre Rossetto Garcia<sup>6</sup>, Otávio Mitio Ohashi<sup>1</sup>

**Resumo:** Este estudo teve como objetivo compreender a morfologia espermática em touros bubalinos sobre a influência do estresse térmico testicular, mantido durante 48 horas, induzido por uma bolsa insuladora. O sêmen foi coletado no tempo de 7, 14 e 21 dias após o início do isolamento testicular. Cinco touros bubalinos, com uma média de 6,5 anos, foram mantidos em barracão com acesso à sombra e ao sol. Observou-se que houve aumento significativo ( $P < 0,05$ ) aos dias 14 e 21 após isolamento testicular para gota citoplasmática proximal ( $10,1 \pm 9,1\%$  e  $8,1 \pm 5,5\%$ ) e que embora o aumento não tenha sido significativo ( $P > 0,05$ ), aumentou a observação de patologia de cauda fortemente dobrada e/ou enrolada aos 14 dias, deste modo, esses dados podem caracterizar um perfil espermático diferente encontrado em bovinos (*Bos Taurus indicus*) causados pelo estresse térmico testicular. Portanto, pode-se sugerir que o estresse térmico testicular por 48 horas foi capaz de modificar o padrão de morfologia espermática em touros bubalinos, enfatizando um perfil de patologias espermáticas diferentes em um possível quadro inicial de degeneração testicular.

**Palavras-chave:** Búfalo. Perfil espermático. Degeneração testicular.

### Influence of testicular insulation on buffalo bulls (*Bubalus bubalis*) and changes in sperm morphology pattern

**Abstract:** This study aimed to understand the sperm morphology in buffalo bulls on the influence of testicular thermal stress maintained for 48 hours induced by an insulating bag. Semen was collected at the time of 7, 14 and 21 days after the onset of testicular insulation. Five buffalo bulls with a mean of 6.5 years old were kept in stalls with access to shade and sun. It was observed that there was a significant increase ( $P < 0.05$ ) at days 14 and 21 after testicular insulation for proximal cytoplasmic gout ( $10.1 \pm 9.1\%$  and  $8.1 \pm 5.5\%$ ). There was a numerically increase ( $P > 0.05$ ) in strongly folded and/or curled tail pathology over 14 days, thus, these data may characterize a different spermatic profile found in bovine (*Bos taurus indicus*) caused by testicular thermal stress. Therefore, it can be suggested that testicular insulation for 48 hours was able to modify the pattern of sperm morphology in buffalo bulls, emphasizing a profile of different sperm pathologies in a possible initial testicular degeneration.

**Keywords:** Buffalo. Spermatic profile. Testicular degeneration.

## Introdução

O Brasil é detentor do maior rebanho bubalino das Américas. O estado do Pará possui o maior rebanho bubalino do país, com aproximadamente 493 mil cabeças, dentre um rebanho nacional de 1,32 milhões de animais. Isso proporciona uma atividade econômica geradora de emprego e renda, que desempenha forte papel de fixação do homem no campo. A bubalinocultura está inserida em um sistema de produção agropecuário que sofre influências do meio ambiente. Por isso, o estresse térmico é um fator importante no estabelecimento de novas unidades de produção de bubalinos para carne e leite, principalmente, considerando que 85% dos búfalos são criados em áreas intertropicais, caracterizadas por altas temperaturas e umidade relativa do ar (GARCIA, 2013). A condição climática desfavorável exercida pelas altas temperaturas influencia negativamente a estação reprodutiva em propriedades na pecuária de corte (SINGH et al., 2013). Em bovinos, já foi demonstrado que o aumento da temperatura testicular exerce efeito deletério nas diferentes

<sup>4</sup> Universidade Federal do Pará, 66075-110, Belém, Pará.

<sup>5</sup> Universidade Federal Rural da Amazônia, 66077-830, Belém, Pará.

<sup>6</sup> Embrapa Pecuária Sudeste, Caixa Postal 339, 13560-970, São Carlos, São Paulo.

\* algaranhar.vet@gmail.com

fases da espermatogênese, induzindo aumento de patologias espermáticas e dificultando o uso de inseminação artificial (GABALDI; WOLF, 2002; HANSEN, 2009; OHASHI et al., 2011). Em seres humanos, o estresse térmico também aumenta a porcentagem de anormalidades espermáticas e, conseqüentemente, resulta em falha na fecundação e morte embrionária (ESTEVES, 2015). Alguns estudos em bovinos reportaram que o estresse térmico prejudica a morfologia espermática, havendo relação direta com menor taxa de fecundação e qualidade de embrião, mensurada na contagem do número de células nos estádios de blastocisto (WALTERS et al., 2005; LEIVAS et al., 2011). No entanto, o objetivo deste estudo foi compreender através do estresse térmico testicular em búfalos um quadro inicial de morfologia espermática que caracterize um estágio de degeneração testicular.

## Material e Métodos

Foram utilizados cinco touros bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah com média de idade de 6,5 anos mantidos em baias com área sombreada e não sombreada. As coletas de sêmen foram realizadas uma vez a cada sete dias, utilizando vagina artificial pré-aquecida a 42°C adaptada para espécie bubalina (VALE et al., 1984). Para a indução do estresse térmico testicular, foi usada bolsa insuladora que permaneceu fixa à região escrotal por 48 horas. Cada touro passou por 5 coletas de sêmen, uma coleta a cada 7 dias, sendo duas coletas antes da insulação testicular e três coletas após a insulação testicular. A avaliação da morfologia espermática foi realizada com microscópio de contraste de fase, e, aumento de 1000X, sendo avaliadas 200 células por amostra, que foram classificadas de acordo com Blom (1973). Os dados foram submetidos a comparação de médias pelo teste Tukey, utilizando o programa estatístico BioEstat 5.0. O nível de significância previamente adotado foi de 5%.

## Resultados e Discussão

A análise comparativa da morfologia espermática permitiu identificar que houve influência do aumento da temperatura testicular decorrente da insulação sobre a incidência de defeitos morfológicos dos espermatozoides (Tabela 1).

**Tabela 1.** Morfologia espermática com valores em porcentagem (média  $\pm$  desvio padrão) no sêmen bubalinos que sofreram insulação testicular por 48 horas e avaliados em microscópio de contraste de fase. Valores com letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha diferem significativamente (A-C,  $P < 0,05$ ). G.C.P.: gota citoplasmática proximal; C.F.D./Enrolada: cauda fortemente dobrada ou enrolada; C.D./Enrolada: cauda dobrada ou enrolada; G.C.D.: gota citoplasmática distal.

Morfologia espermática	Controle	7 dias pós insulação	14 dias pós insulação	21 dias pós insulação
Defeitos Maiores	19,3 $\pm$ 13,4 <sup>A</sup>	25,6 $\pm$ 14,5 <sup>AB</sup>	39,4 $\pm$ 7,0 <sup>B</sup>	30,6 $\pm$ 11,1 <sup>AB</sup>
Defeitos Menores	3,8 $\pm$ 4,1	5,4 $\pm$ 4,6	1,7 $\pm$ 2,1	7,5 $\pm$ 9,4
Defeitos Totais	21,6 $\pm$ 14,0 <sup>A</sup>	31,0 $\pm$ 10,5 <sup>AB</sup>	41,1 $\pm$ 5,3 <sup>B</sup>	38,1 $\pm$ 8,2 <sup>AB</sup>
Acrossoma	0,1 $\pm$ 0,3	0,0 $\pm$ 0,0	0,3 $\pm$ 0,4	0,7 $\pm$ 0,7
G.C.P.	1,1 $\pm$ 0,9 <sup>A</sup>	1,5 $\pm$ 1,0 <sup>AB</sup>	10,1 $\pm$ 9,1 <sup>C</sup>	8,1 $\pm$ 5,5 <sup>BC</sup>
C.F.D./Enrolada	16,5 $\pm$ 14,5	23,7 $\pm$ 15,5	25,7 $\pm$ 14,5	18,3 $\pm$ 9,2
C.D./Enrolada	3,3 $\pm$ 3,9	3,6 $\pm$ 4,9	0,9 $\pm$ 1,4	0,6 $\pm$ 1,3
G.C.D.	0,4 $\pm$ 0,6	1,5 $\pm$ 2,5	0,7 $\pm$ 0,8	5,8 $\pm$ 8,3

Fonte: Elaborado pelos autores.

O aumento da temperatura do escroto afetou principalmente o processo de maturação epididimária, onde os espermatozoides sofrem mudança conformacional pela retirada dos resíduos citoplasmáticos do espermatozoide, por ação do epitélio ciliar (ANGRIMANI et al., 2017). O tempo de maturação epididimária dura, em média, 8 a 12 dias [12], ou seja, no momento da insulação testicular, os espermatozoides que foram coletados até 14 dias (10,1  $\pm$  9,1%,  $P < 0,05$ ) pós-insulação apresentaram alto percentual de gota citoplasmática proximal, o que pode ser reflexo de uma alteração da fisiologia do epitélio epididimário.

Constatou-se também que houve um aumento de gotas citoplasmáticas proximais aos 21 dias (8,1  $\pm$  5,5,  $P < 0,05$ ) pós-insulação, em relação ao grupo controle demonstrando um prejuízo na fase de espermiogênese, quando transcorria o alongamento das espermatides (RAHMAN et al., 2011). Com isso, foi possível notar forte aumento nos defeitos maiores e totais nos espermatozoides, principalmente 14 dias (39,4  $\pm$  7,0% e 41,1  $\pm$  5,3,  $P < 0,05$ ) pós-insulação. Esses valores observados excederam o limite estipulado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013) para a aceitação de ejaculados *in natura* de touros bubalinos.

Mesmo não se observando diferença estatística no valor absoluto ( $25,7 \pm 14,5\%$ ,  $P > 0,05$ ) para caudas fortemente dobradas e/ou enroladas a sua frequência aumentou no décimo quarto dia pós-insulação, chamando atenção, haja vista sua relação com o padrão de movimentação dos espermatozoides, podendo também indicar um quadro inicial de degeneração característico do touro bubalino. Nossos resultados diferiram dos achados de Fernandes et al. (2008), em bovinos (*Bos taurus indicus*) que encontraram um quadro de morfologia espermática diferente realizando insulação testicular por 120 horas em touros Nelore encontrando  $3,1 \pm 0,2\%$ ,  $1,5 \pm 0,7\%$  e  $8,3 \pm 1,2\%$ , de defeito acrossomal,  $0,7 \pm 0,2\%$ ,  $14,0 \pm 5,0\%$  e  $12,3 \pm 2,3\%$  de *knobbed sperm*, aos 7, 14 e 21 dias após a insulação testicular, respectivamente ( $P < 0,05$ ). Já para gotas citoplasmáticas proximais encontraram  $0,4 \pm 0,1\%$ ,  $2,8 \pm 1,0\%$  e  $2,6 \pm 0,7\%$  e cauda fortemente dobrada e/ou enrolada  $6,1 \pm 3,0\%$ ,  $4,6 \pm 1,7\%$  e  $4,5 \pm 1,5\%$ , sendo valores inferiores, aos 7, 14 e 21 dias após a insulação testicular respectivamente ( $P > 0,05$ ), ou seja, o inverso quando comparado aos touros bubalinos deste estudo onde as patologias de acrossoma, patologias de cauda fortemente dobrada e/ou enrolada ( $P > 0,05$ , respectivamente) e gotas citoplasmáticas proximais ( $P < 0,05$ ) foram mais altas. Nosso resultado foi similar ao encontrado por Garcia (2009), que observou alto valor de patologia de cauda fortemente dobrada e/ou enrolada (16,2%) pós-insulação testicular em touros bubalinos (*Bubalus bubalis*) submetidos ao estresse térmico por 168 horas, observando também baixo índice de patologia de cabeça, ratificando com os dados encontrados neste estudo.

## Conclusões

Como observado neste trabalho pode-se sugerir que o estresse térmico testicular por 48 horas foi capaz de modificar o padrão de morfologia espermática em touros bubalinos, enfatizando um perfil de patologias espermáticas diferentes em um possível quadro inicial de degeneração testicular.

## Agradecimentos

À CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

## Referências

- ANGRIMANI, D. S. R.; LOSANO, J. D. A.; LUCIO, C. F.; VEIGA, G. A. L.; LANDRIM, F. C.; NICHI, M.; VANNUCCHI, C. I. Cytoplasmic droplet acting as a mitochondrial modulator during sperm maturation in dogs. **Animal Reproduction Science**, v. 181, p. 50-56, 2017.
- BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nordisk Veterinary Medicine**, v. 25, n. 7-8, p. 383-391, 1973.
- CBRA – Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3. ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013. 104 p.
- ESTEVES, S. C. Male infertility due to spermatogenic failure: current management and future perspectives. **Animal Reproduction**, v. 12, n. 1, p. 62-80, 2015.
- FERNANDES, C. E.; DODE, M. A. N.; PEREIRA, D.; SILVA, A. E. D. F. Effects of scrotal insulation in Nelore bulls (*Bos taurus indicus*) on seminal quality and its relationship with in vitro fertilizing ability. **Theriogenology**, v. 70, n. 9, p. 1560-1568, 2008.
- GABALDI, S. H.; WOLF, A. A importância da termorregulação testicular na qualidade do sêmen em touros. **Ciências Agrárias e da Saúde**, v. 2, n. 2, p. 66-70, 2002.
- GARCIA, A. R. Conforto térmico na reprodução de bubalinos criados em condições tropicais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 2, p. 121-130, 2013.
- GARCIA, O. S. **Estudo experimental da insulação testicular em bubalinos**. 2009. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Pará, Belém.
- HANSEN, P. J. Effects of heat stress on mammalian reproduction. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1534, p. 3341-3350, 2009.
- LEIVAS, F. G.; BRUM, B. D. FIALHO, S. S.; SALIBA, W. P.; ALVIM, M. T. T.; BERNARDI, M. L.; RUBIN, M. I. B.; SILVA, C. A. M. Fetal calf serum enhances in vitro production of *Bos taurus indicus* embryos. **Theriogenology**, v. 75, n. 3, p. 429-433, 2011.

- OHASHI, O. M.; SANTOS, S. S. D.; MIRANDA, M. S.; CORDEIRO, M. S.; COSTA, N. N.; SILVA, T. V. G. Morfologia do sistema genital, distúrbio reprodutivo e manejo do macho bubalino (*Bubalus bubalis*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, n. 2, p. 88-94, 2011.
- RAHMAN, M. B.; VANDAELE, L.; RIJSSELAERE, T.; MAES, D.; HOOGEWIJS, M.; FRIJTERS, A.; NOORDMAN, J.; GRANADOS, A.; DERNELLE, E.; SHAMSUDDIN, M.; PARRISH, J. J.; VAN SOOM, A. Scrotal insulation and its relationship to abnormal morphology, chromatin protamination and nuclear shape of spermatozoa in Holstein-Friesian and Belgian Blue bulls. **Theriogenology**, v. 76, n. 7, p. 1246-1257, 2011.
- SINGH, M.; CHAUDHARI, B. K.; SINGH, J. K.; SINGH, A. K.; MAURYA, P. K. Effects of thermal load on buffalo reproductive performance during summer season. **Journal of Biological Sciences**, v. 1, n. 1, p. 1-8, 2013.
- VALE, W. G.; RIBEIRO, H. F. L.; SOUSA, J. S.; OHASHI, O. M. Inseminação artificial em búfalos (*Bubalus bubalis*) na região amazônica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 21., 1984, Belém, PA. **Anais...** Belém, PA: CBMV, 1984. p. 91.
- WALTERS, A. H.; EYESTONE, W. E.; SAACKE, R. G.; PEARSON, R. E.; GWAZDAUSKAS, F. C. Bovine embryo development after IVF with spermatozoa having abnormal morphology. **Theriogenology**, v. 63, n. 7, p. 1925-1937, 2005.