

ESTIMATIVA DA VARIÂNCIA PARA A QUALIDADE ESPERMÁTICA DE TOUROS NELORE COM DEGENERAÇÃO TESTICULAR EXPERIMENTAL

AUTORES

Carlos Eurico Fernandes¹; Antônio Emídio D. F. Silva¹; Simone C.P. Lopes¹, Sheila S. Moraes²

¹ FMVZ-UNESP, Botucatu CEP18618-000, Distrito de Rubião Jr, Botucatu, SP

² Embrapa Gado de Corte, Rodovia BR 262, Km 4, CEP 79002-970, Campo Grande, MS

RESUMO

O objetivo deste estudo foi estimar os efeitos dos períodos pré e pós-indução da degeneração testicular sobre o espermiograma de touros Nelore. Foram selecionados quatro touros da raça Nelore, com idade entre dois e três anos e clinicamente sadios. A degeneração testicular experimental foi feita com base na insulação testicular por cinco dias. O sêmen de cada touro foi colhido por eletroejaculação e avaliado antes (P0) e depois, 7 (P7), 14 (P14) e 21 dias (P21) após a retirada do insulto testicular. A indução da degeneração testicular foi efetiva para os quatro touros tratados. No P7 não foram detectadas alterações no quadro seminal, com exceção do vigor ($4,5 \pm 0,28 \times 3,5 \pm 0,06$ para P0 e P7, respectivamente, $p < 0,05$). As diferenças mais marcantes foram evidências nos defeitos de cabeça e, especialmente, no percentual de fragmentação nuclear. A proporção de espermatozoides com esta alteração foi superior aos defeitos de cabeça (P14, $31,5 \pm 1,42\% \times 9,5 \pm 0,90\%$; P21, $27,4 \pm 1,63\% \times 17,4 \pm 2,31\%$), sugerindo que estas alterações podem estar presentes mesmo sem alterações no formato da cabeça espermática e, portanto, não identificadas nos exames convencionais. Conclui-se com estes resultados que os defeitos de cabeça aos 21 dias após o insulto testicular representam a maior proporção dos defeitos morfológicos, porém os níveis de fragmentação nuclear são expressivos e podem ocorrer antes mesmo das alterações de forma ou tamanho da cabeça espermática.

PALAVRAS-CHAVE

Bovino, reprodução, semen

TITLE

VARIANCE STIMATIVE FOR SPERM QUALITY OF NELORE BULLS WITH EXPERIMENTAL TESTICULAR DEGENERATION

ABSTRACT

The objective of this study was estimate the effects of the periods before and after the induction of the testis degeneration on the epermiogram of Nelore bulls. Four bulls were selected, with age between two and three years and clinically healthy. The experimental testis degeneration was made by insulation (insulation of the scrotum) for five days. Semen of each bull was collected by eletroejaculation and evaluated before (P0) and seven (P7), 14 (P14) and 21 days (P21) after the retreat of the testicular insult. The induction of the testis degeneration was effective for all treated bulls. In P7, were not ($p > 0,0$) detected alterations in the seminal profile, except for the vigor ($4,5 \pm 0,28 \times 3,5 \pm 0,06$ for P0 and P7, respectively). The higher differences were evidenced in head's defects and, especially, in the nuclear fragmentation percentile. The proportion of spermatozoa with this alteration was higher to head's defects (P14, $31,5 \pm 1,42\% \times 9,5 \pm 0,90\%$; P21, $27,4 \pm 1,63\% \times 17,4 \pm 2,31\%$), suggesting that these alterations can be present even without alterations in the format of the sperm head and, therefore, not identified in conventional exams. It is concluded with these results that head's defects at 21 days after the testicular insult represent the most proportion of the morphologic defects, however the levels of nuclear fragmentation are expressive and they can emerge before of the form alterations or size of the sperm head.

KEYWORDS

Bovine, reproduction, semen

INTRODUÇÃO

A degeneração testicular é a principal causa de redução na qualidade seminal do touro. Dentre os diversos fatores responsáveis por essa patologia, a elevação da temperatura do parênquima testicular (distúrbio na termoregulação), tem sido o mais estudado no sentido de estabelecer a dinâmica das alterações seminais (Kastelic et al., 1997). Embora os zebuínos sejam considerados mais resistentes ao estresse térmico ambiental, alterações na irrigação testicular e epididimal explicam parte da elevação das formas anormais encontradas no exame de sêmen de animais mantidos a campo, resultando na presença de quadros degenerativos transitórios ou recorrentes (Brito et al., 2003).

De modo geral, os defeitos oriundos desse distúrbio são os mais importantes em relação a fertilidade. Modificações na estrutura espermática desde a organização e integridade da membrana plasmática até a quebra ou má formação da cromatina nuclear (fragmentação nuclear) estão diretamente associados aos diferentes estágios da espermiogênese (Boissonneault, 2002). Portanto, a prevalência dessas alterações no exame de sêmen ocorre espaçadamente, incluindo o grau de comprometimento epitelial após o início do insulto testicular.

O objetivo deste estudo foi estimar os efeitos dos períodos pré e pós-indução da degeneração testicular sobre o espermiograma, incluindo a integridade acrossomal e nuclear dos espermatozoides.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados quatro touros da raça Nelore, com idade entre dois e três anos e clinicamente sadios. Os touros foram submetidos a insulação por cinco dias, e o sêmen foi avaliado antes (P0) e depois da indução da degeneração testicular nos dias, 7 (P7), 14 (P14) e 21 (P21), respectivamente. Após a colheita, os ejaculados foram avaliados quanto a motilidade (%) e vigor (0-5). A morfologia espermática foi determinada a partir de amostras previamente fixadas em formol-salino 1% e estimada em microscopia de contraste de fase (1000x/200 células), considerando os espermatozoides normais, defeitos de cabeça, acrossomo, peça intermediária, gota citoplasmática proximal, cauda e cabeça isolada normal. Todas as formas avaliadas seguiram os critérios de Barth & Oko (1989). A fragmentação nuclear foi determinada pelo método de Fuelgen, segundo Miller et al. (1982) e Barth & Oko (1989). Considerou-se fragmentado, o núcleo que apresentava halos ou vacúolos visíveis geralmente na coloração branca, células com pouca ou nenhuma coloração (fantasmas), núcleos com a presença de grânulos ou vesículas. Nesta análise, a frequência de núcleos fragmentados foi estimada em 500 espermatozoides avaliados em microscopia de contraste de fase sob imersão para cada touro/período.

A análise estatística baseou-se em três repetições (lâminas) por touro para cada período. O efeito do período foi estimado pela análise de variância (teste de Duncan, $p < 0,05$) com modelo inteiramente casualizado decomposto em polinômios ortogonais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises estão descritos na Tabela 1. A indução da degeneração testicular foi efetiva para os quatro touros tratados. O efeito individual (covariância) foi significativo apenas para os defeitos de cauda. No sétimo dia (P7), após a retirada do insulto, não foram detectadas alterações no quadro seminal, com exceção do vigor. Isto reflete, em parte, as condições de armazenamento e trânsito epididimal que, neste caso, ainda mantiveram a maioria das células com características normais.

As alterações morfológicas mais evidentes foram detectadas nos períodos P14 e P21 mostrando o efeito direto do insulto sobre a população de espermátides e conseqüentemente sobre a espermiogênese. No entanto, as diferenças mais marcantes foram evidenciadas nos defeitos de cabeça e, especialmente, no percentual de fragmentação nuclear. A proporção de espermatozoides com esta alteração foi superior aos defeitos de cabeça (P(14), $31,5 \pm 1,42\% \times 9,5 \pm 0,90\%$; P(21), $27,4 \pm 1,63\% \times 17,4 \pm 2,31\%$), sugerindo que estas alterações ocorreram antes dos 14 dias após insulto testicular e, portanto, não identificadas nos exames convencionais. Isto sugere ainda, que o insulto testicular afetou estágios restritos da espermiogênese, ou seja, aqueles envolvidos com a organização e compactação nuclear (Berndston & Desjardins, 1974).

Outros defeitos considerados importantes tanto do ponto de vista patológico (epitélio seminífero) quanto da capacidade reprodutiva como gota citoplasmática proximal, peça intermediária e acrossomo embora tenham sido superiores ($p < 0,05$) no P21, não apresentaram percentuais elevados, mantendo-se dentro de padrões aceitáveis.

CONCLUSÕES

Defeitos de cabeça aos 21 dias após o insulto representam a maior proporção dos defeitos morfológicos, sendo que os percentuais de fragmentação nuclear podem ocorrer antes das alterações de forma ou tamanho da cabeça espermática. Métodos diretos para determinação da fragmentação nuclear devem ser introduzidos na avaliação seminal visando maior segurança quanto a fertilidade potencial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARTH, A. D.; OKO, R. J. Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa. Iowa State University Press. Ames, Iowa. 285 p. 1989.
2. BERNDSTON, W. E. & DESJARDINS, C. The cycle of the seminiferous epithelium and spermatogenesis in the bovine testis. American Journal of Anatomy, vol. 140, p.167-180. 1974.
3. BOISSONNEAULT, G. Chromatin remodeling during spermiogenesis: a possible role for the transition proteins in DNA strand break repair. FEBS Letters, vol. 514, p. 111-114. 2002.
4. BRITO, L. F. C.; SILVA, A. E. D. F.; BARBOSA, R.; KASTELIC, J. Testicular thermoregulation in Bos indicus, crossbred and Bos taurus bulls: relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm production. Theriogenology, vol. 61, p. 511-528. 2004.
5. KASTELIC, J. P. COOK, R. B. & COULTER, G. H. Scrotal/testicular thermoregulation and the effects of increased testicular temperature in the bull. Veterinary Clinics of North America: food animal practice, vol. 13, n. 2, p. 271-282. 1997.
6. MILLER, D. M.; HRUDKA, F.; CATES, W. F. & MAPLETOFT, R. J. Infertility in a bull with a nuclear sperm defect: a case report. Theriogenology, vol. 17, p.611-620. 1982.

Tabela 1. Efeito de touro, coeficiente de determinação (R^2) e efeito do período antes (0) e após (7, 14 e 21 dias) degeneração testicular experimental.

Variáveis	R^2	Período			
		0	7	14	21
Motilidade	0,81 ^{*1}	77,5 ±4,02 ^a	75,0 ±3,31 ^a	50,0 ±3,91 ^b	51,0 ±3,43 ^b
Vigor	0,95 ^{*2}	4,5 ±0,28 ^a	3,5 ±0,06 ^b	2,9 ±0,17 ^{bc}	3,2 ±0,10 ^c
Normais	0,95 ^{*1}	84,6 ±4,74 ^a	78,9 ±3,08 ^a	63,4 ±1,37 ^b	45,7 ±6,47 ^c
Def. de cabeça	0,84 ^{*1}	5,0 ±1,23 ^a	5,7±1,09 ^a	9,5 ±0,90 ^b	17,4 ±2,31 ^c
Def. de acrossomo	0,82 ^{*2}	3,0 ±0,29 ^a	3,2 ±0,23 ^a	1,5±0,73 ^b	8,4 ±1,25 ^c
Def. de PI	0,63 ^{**1}	0,1 ±0,21 ^a	0,3 ±0,25 ^a	0,2 ±0,19 ^a	3,0 ±0,65 ^b
GCP	0,95 ^{*2}	0,1 ±0,21 ^a	0,3 ±0,25 ^a	0,2 ±0,19 ^a	3,0 ±0,65 ^b
Def. de cauda	0,46 ^{*2}	2,9 ±1,10 ^a	3,5 ±0,95 ^a	15,4 ±2,48 ^b	5,4 ±0,41 ^a
CIN	ns	3,0 ±0,59 ^a	6,3 ±0,34 ^a	2,5 ±0,71 ^a	8,6 ±1,02 ^a
Fragmentação Nuclear	0,77 ^{*1}	6,3 ±1,41 ^a	8,7 ±1,40 ^a	31,5 ±1,42 ^b	27,4 ±1,63 ^b

^aanálise de covariância; ns=não significativo; * $p<0,01$ e ** $p<0,05$ para decomposição em polinômios ortogonais; ¹efeito linear; ²efeito quadrático; ³efeito cúbico; ^{ABC}=letras distintas entre colunas representam diferença significativa ($p<0,05$, Duncan). PI=peça intermediária; GCP=gota citoplasmática proximal; CIN=cabeça isolada normal.