

Kastelic, J.P.<sup>1,2</sup>; Feliciano Silva, A.E.D.<sup>3</sup>; Unanian, M.M.<sup>3</sup>; Barbosa, R.T.<sup>1</sup>; Freitas, A.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa - CPPSE, São Carlos, SP

<sup>2</sup> Agriculture and Agri-Food Canada, Lethbridge Research Centre, Lethbridge, AB

<sup>3</sup> Embrapa - CENARGEN, Brasília, DF

### Introdução

O diagnóstico ultrasonográfico usa ondas sonoras de alta frequência para avaliar tecidos e órgãos (Ginther, 1995) e é um método não invasivo para avaliação dos testículos do touro (Pechman & Eilts, 1987). Exames ultrassônicos repetidos dos testículos não ter efeito na qualidade do sêmen (Coulter & Bailey, 1988). Em um estudo (Eilts & Pechman 1988), a avaliação visual do exame ultrassônico dos testículos não mostrou superioridade em relação ao exame andrológico padrão. Entretanto, a análise de imagem computadorizada para determinar a intensidade de resolução (ecotextura ultra-sônica) proporciona informações muito mais detalhadas (Pierson et al., 1995). O principal propósito deste artigo é revisar dois estudos recentes que usaram ultrasonografia testicular em pesquisa envolvendo puberdade (Feliciano Silva et al., 1997) e exame andrológico (Kastelic et al., 1997) de touros Nelore.

### Puberdade

Setenta e seis machos da raça Nelore, PO, de dez a 17 meses de idade, com média de 13,9 meses, pertencentes a duas fazendas (A, com 53 animais e B, com 23 animais) foram submetidos à ultrasonografia testicular. Destes, 17 foram considerados púberes (apresentação no ejaculado de um mínimo de 50 milhões de espermatozoides/ml e no mínimo, de 10% de motilidade). Para exame ultrasonográfico dos testículos foi utilizado um aparelho "B-mode" munido de transdutor transretal de 7,5 Mhz. As imagens ultra-sonográficas foram subseqüentemente digitalizadas e a intensidade de resolução média de cada testículo foi determinada por meio de um software específico para análise de imagens (National Institutes of Health). A média da intensidade (consistência) entre ambos os testículos, designada como PIm, foi usada para a análise estatística, sendo os resultados mostrados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Análise de variância das variáveis PIm, circunferência escrotal (CE) e idade (ID) dos efeitos principais de fazenda (F), estágio da puberdade (P) e interação FxP.

Variável	Prob > F			Quadrado		Médio	
				Fazenda A		Fazenda B	
el	F	P	FxP	Não	Sim	Não	Sim
PIm	0,120	0,005	0,300	179,0	156, 0	181, 0	171, 0
CE	0,006	0,001	0,120	18,9	24,4	22,3	25,4
ID	0,270	0,040	0,030	13,1	16,0	15,3	15,3
Não - Pré-púbere					Sim - Púbere		

Tabela 2 - Regressão linear  $y = a + bx$  e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) das variáveis dependentes: Plm, circunferência escrotal (CE), Fazendas A e B. Variáveis independentes: CE e idade (ID) dos efeitos principais de fazenda (F), estágio da puberdade (P) e interação FxP.

	x	a	b	Prob > F	$R^2$
Plm	CE	228,8	-2,51	0,0001	0,23
Plm	ID	221,4	-3,21	0,0001	0,17
CE	ID				
	Fazenda	6,5	0,96	0,0001	0,68
A					
	Fazenda	12,1	0,74	0,03	0,16
B					

Comparados com tourinhos pré-púberes, estes machos mostraram, em média, intensidade de resolução mais baixa (180,0 vs. 163,7 unidades), eram mais velhos (14,2 vs 15,6 meses) e tinham maior CE (20,6 vs. 24,9 cm), respectivamente. O aumento da idade foi acompanhado de desenvolvimento de CE, período em que os machos atingiram a puberdade, resultado consistente com estudos prévios (Unanian, 1997). A análise de regressão revelou diminuição significativa ( $P < 0,05$ ) na intensidade de resolução média para ambas variáveis - idade ( $b = -3,21$  unidades/mês) e CE ( $b = -2,51$  unidades/cm).

#### Exame Andrológico

Cinquenta e dois touros da raça Nelore foram submetidos a exame andrológico padrão, incluindo a medida da CE e coleta de sêmen por eletroejaculação.

Uma amostra de sêmen foi preservada em formol salina, uma montagem úmida preparada e 100 espermatozóides foram avaliados em microscopia de contraste de fase (1200x). As anormalidades espermáticas foram apontadas como defeitos maiores ou menores, como previamente descrito (Fonseca et al., 1992). A avaliação da libido foi também feita como descrito por Pineda et al., 1997.

A fim de complementar esta avaliação, foi realizada ultrassonografia testicular, analisando-se as imagem das áreas de intensidade por meio de computador (Pixel intensity), para determinar a consistência testicular. A análise regressão linear tendo os defeitos maiores, menores e totais como variáveis dependentes não mostrou diferenças ( $P > 0,05$ ); contudo a variável independente - idade, foi significativa ( $P < 0,05$ ) para a consistência testicular (Plm). Quando consideraram os defeitos maiores, defeitos totais, a média da consistência testicular (Plm) e CE, como variáveis independentes, estas foram significantes ( $P < 0,05$ ). Por isso, o aumento na média da consistência, intensidade de Plm dos testículos, foi indicativo de alta porcentagem de espermatozóides anormais.

Para o exame ultrasonográfico dos testículos foi utilizado um aparelho "B-mode" com um transdutor transretal de 7,5 Mhz. Cada estículo foi examinado separadamente, com o transdutor orientado verticalmente e paralelo ao eixo longitudinal do mesmo. A seguir, imagem ultrasonográfica (ultrasonograma) de cada testículo foi congelada e subsequentemente gravada. Os ultrasonogramas foram subsequentemente digitalizados e a intensidade de resolução (escala de zero a 255) foi determinada por meio de um software para análise de imagens (National Institutes of Health, U.S.A.). Para cada touro, a média e o desvio padrão da intensidade de resolução foi determinada separadamente para os dois

testículos e calculada a média de intensidade de resolução (MPI) e o desvio padrão (DP), os quais foram usados para análise estatística.

Inicialmente, foram determinadas correlações entre anormalidades espermáticas menores, maiores e totais, idade (em meses), CE, MPI e DP, e correlações entre classificação de libido e defeitos maiores, menores e totais, MPI, DP e CE. Regressões lineares múltiplas tendo como variáveis dependentes os defeitos maiores, menores e totais e idade, CE, MPI, DP e classificação de libido como variáveis independentes foram também obtidas. Somente foram usadas as variáveis independentes que foram correlacionadas ( $P < 0,10$ ) com a variável dependente. A variável independente mais altamente correlacionada com a variável dependente, foi usada. Os dados de idade, CE, MPI, DP e percentagem de anomalias espermáticas são mostrados na Tabela 3, coeficientes de correlação (Tabela 4) e os resultados da análise de regressão linear na Tabela 5).

Tabela 3. Idade (meses), circunferência escrotal (CE, cm), média, desvio padrão da amplitude da intensidade de resolução (MPI e DP), e percentagem de defeitos espermáticos maiores, menores e totais.

Variável	Média	Desvio padrão	Amplitude
Idade	28,8	6,2	23 - 51
CE	31,0	2,5	27 - 38
MPI	185,0	12,5	151 - 220
DP	25,8	2,2	21 - 34
Defeitos maiores	6,2	2,9	1 - 13
Defeitos menores	1,9	1,8	0 - 9
Defeitos totais	8,0	4,0	2-16

Tabela 4. Coeficientes de correlação para idade, circunferência escrotal (CE), média e desvio padrão da intensidade de resolução (MPI e DP) com a percentagem de defeitos espermáticos maiores, menores e totais.

Variável	Defeitos maiores	Defeitos menores	Defeitos totais
Idade	0,37c	0,10	0,32b
CE	0,27b	-0,04	0,18
MPI	0,03	-0,04	0,01
DP	0,23a	0,12	0,22a

<sup>a</sup>  $P < 0,1$ ; <sup>b</sup>  $P < 0,05$ ; <sup>c</sup>  $P < 0,01$

Houve algumas correlações significativas para defeitos espermáticos maiores totais. A média da avaliação da libido foi  $8,2 \pm 2,0$ . Correlações entre avaliação da libido defeitos espermáticos, MPI, DP e CE foram baixas ( $P > 0,15$ ), consistente com um estudo prévio (Pineda & Lemos, 1994).

Tabela 5 - Modelos de regressão para percentagens de defeitos espermáticos maiores, menores e totais como variáveis dependentes com idade (meses) e desvio padrão da intensidade de resolução (DP) como variáveis independentes.

Variáveis dependentes / independentes	coeficiente b	Probab.
Defeitos maiores ( $R^2 = 0,19$ ; intercepto = -1,9)		
Idade	3,3	0,002
DP	2,3	0,03
Defeitos totais ( $R^2 = 0,14$ ; intercepto = -1,7)		
Idade	2,7	0,01
DP	2,1	0,04

Prob,= probabilidade; y-int,= y menos intercepto.

As regressões para defeitos maiores e totais foram semelhantes; ambas, DP e idade foram significantes com inclinações positivas. Portanto, como o DP aumentou, a percentagem de defeitos espermáticos maiores e totais decresceu. A inclinação positiva para idade foi inesperada; em geral o número de espermatozóides anormais declina com a idade (coincidindo com um aumento em CE), como previamente descrito (Smith et al., 1981). Porém, no presente estudo, a percentagem de espermatozóides anormais foi relativamente baixa e alguns touros mais velhos com uma percentagem de espermatozóides defeituosos ligeiramente mais alta foi responsável por estes resultados.

#### Conclusão

A ultrasonografia testicular tem considerável potencial para a avaliação da puberdade e em exames andrológicos de touros Nelore. As imagens devem ser armazenadas e devem ser feitas análises computadorizadas das mesmas para melhor interpretação. Mais estudos são necessários para confirmar e ampliar estes resultados.

Talvez no futuro, um simples, relativamente barato aparelho pode ser construído para permitir ampla utilização da ultrasonografia para avaliação dos testículos.

#### Referências Bibliográficas

- COULTER, G.H; BAILEY, D.R.C; Effects of ultrasonography on the bovine testis and semen quality. **Theriogenology**, v.30:743-749, 1988.
- EILTS, B.E; PECHMAN, R.D; B-mode ultrasound observations of bull testes during breeding soundness examinations. **Theriogenology**, v. 30, p.1169-1175, 1988.
- FELICIANO SILVA, A.E.D; KASTELIC, J.P; UNANIAN, M.M.; FREITAS, A.R; COOK, R.B; Ultra-sonografia de machos Nelore na fase peri-puberal. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, p.34-36, 1997.
- FONSECA, V.O; VALE FILHO, V.R; MIES FILHO, A; et al. Procedimentos para exame andrológico e avaliação de semen animal. 1a. ed. **CBRA**. 79p. 1992

- GINTHER, O.J; Ultrasonic imaging and animal reproduction: fundamentals (Book 1). Equiservices Publishing, Cross Plains, WI, U.S.A., p.225.,1995.
- KASTELIC, J.P; FELICIANO SILVA A.E.D; BARBOSA, R.T; PINEDA, N.R; FREITAS, A.R.; COOK, R.B; Relationships between pixel intensity of testicular ultrasonograms and semen morphology in Nelore and crossbred Zebu bulls. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, p.40-42, 1997.
- PECHMAN, R.D; EILTS, B.E; B-mode ultrasonography of the bull testicle. **Theriogenology**, v. 27, p.431-441, 1987.
- PIERSON, R.A; ADAMS, G.P; RAWLINGS, N.C; Computer assisted image analysis, diagnostic ultrasonography and ovulation induction: Strange bedfellows. **Theriogenology**, v. 43, p.105-112, 1995.
- PINEDA, R.A; LEMOS, P.F; Contribuição ao estudo da influência da libido e da capacidade de serviço sobre a taxa de concepção em Nelore. **B. Industr. Anim** v. 51, n. 1, p.61-68, 1994.
- PINEDA, N.R; FONSECA, V.O; LEMOS, P.F; Comparação entre dois sistemas de avaliação da libido em touros da raça Nelore. Influencia na taxa de concepcao do rebanho. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v. 21, n. 1/2, 1997.
- SMITH, M.F; MORRIS, D.L; AMOSS, M.S; PARISH, N.R; WILLIAMS, J.D; WILTBANK, J.N; Relationships among fertility, scrotal circumference, seminal quality and libido in Santa Gertrudis bulls. **Theriogenology**, v. 16, p.379-397, 1981.
- UNANIAN, M.M; Precocidade sexual em machos da raça Nelore. **Nelore**, ano VI, n.43, p.66-68, 1997.