



# **Estudo das características físicas do sémen de touros de raças autóctones portuguesas**

**Andre Luis Priester**

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para  
obtenção do grau de Mestre em Tecnologias da Ciência Animal

**Bragança**

**2020**

**Andre Luis Priester**



# **Estudo das características físicas do sémen de touros de raças autóctones portuguesas**

Dissertação apresentada ao Instituto Politécnico de Bragança, como requisito para o grau de Mestre em Tecnologias da Ciência Animal, no âmbito da dupla-diplomação com a Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientado por

**Prof. Dr. Vasco Augusto Pilão Cadavez – IPB**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Juliana Morini Küpper Cardoso Perseguini - UTFPR**

Bragança

2020

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)



# Agradecimentos

Aos professores Doutor Vasco Cadavez e Doutora Juliana Morini Küpper Cardoso Perseguini, em primeiro lugar agradeço por aceitarem esse desafio ao meu lado, e por me orientarem durante toda a realização deste trabalho. Minha sincera gratidão por todo o apoio, amizade, colaboração e disponibilidade para a concretização deste trabalho.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná e ao Instituto Politécnico de Bragança, pela oportunidade de realizar o programa de Dupla Diplomação, agregando muito conhecimento e aprendizado em minha jornada.

Às Associações de criadores de Bovinos e a Federação Nacional das Associações de Raças Autóctones que colaboraram e disponibilizaram os dados necessários para a realização deste trabalho.

Ao Centro de Testagem e Colheita de Sêmen da Federação Nacional das Associações de Raças Autóctones, em especial a Paula Martins, pela disponibilização dos dados e também por sempre se mostrar disponível quando necessitei.

A minha família, que nunca mediram esforços para me ajudar a concretizar meus sonhos, sempre me apoiando e incentivando em tudo o que me proponho.

Aos meus amigos, em especial Luana, Samira, Jean, Tatiane, Marianne, Cintia, Laila, Letícia, Douglas, Ingrid e Maria, que sempre estiveram presentes durante o decorrer deste trabalho, prestando conselhos e apoio, meus sinceros agradecimentos.

# Resumo

O objetivo global deste trabalho foi avaliar a qualidade do sémen de touros candidatos a reprodutores das raças bovinas autóctones portuguesas: Alentejana, Arouquesa, Barossã, Cachena, Maronesa, Mertolenga, Minhota, Mirandesa e Preta. Foram efectuadas 1247 colheitas de sémen, das quais se avaliaram as seguintes características: Idade do touro, número de colheitas efectuadas, volume do ejaculado, densidade, actividade, número de espermatozóides (mortos, vivos e total) e termorresistência. As colheitas foram realizadas no Centro de Colheita de Sémen da Federação Nacional das Associações de Raças Autóctones (FERA), localizado em São Torcato, Guimarães, Portugal. Os dados foram analisados com o Software R, segundo modelo linear que incluía como variáveis dependentes as características de qualidade do sémen e como variáveis independentes a raça do touro, a idade do touro, o número de colheitas efectuadas e o mês e que a colheita foi realizada. Sempre os efeitos das variáveis independentes se mostraram significativos as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%. Conclui-se com este trabalho que as variáveis analisadas tem efeito sobre a qualidade do sémen. Pode-se concluir que o sémen de primeira colheita apresenta maior quantidade de espermatozóides viáveis. Além disso, foi possível notar a superioridade do sémen de animais mais velhos em comparação aos animais mais novos.

*Palavras Chave: Bovinos; Qualidade do Semen; Reprodução Animal.*

# Abstract

The aim of this study was to evaluate the semen quality of bulls that are candidates for breeding of Portuguese native bovine breeds: Alentejana, Arouquesa, Barossã, Cachena, Maronesa, Mertolenga, Minhota, Mirandesa e Preta. A total of 1247 semen collection procedures were performed, of which the following characteristics were evaluated: Bull age, number of collection, ejaculated volume, density, activity, number of sperm (dead, alive and total) and thermoresistance. The semen collection procedures were carried out at Centro de Pesquisa de Sémén da Federação Nacional de Associações de Raças Autóctones, located in São Torcato, Guimarães, Portugal. The collected data was analyzed using the R software package, according to a linear model that included as dependent variables the characteristics of semen quality and as independent variables the breed, bull age, number of collections and the month of the collection was taken. Whenever the effects of the independent variables were significant, the means were compared using Tukey test with an significance level of 5%. It is concluded in this work that the analyzed variables have an effect on semen quality. It can be concluded that semen from the first collection has higher viable sperm. In addition, it was possible to notice the superiority of the semen of older animals in comparison to the younger animals.

*Keywords: animal breeding; bull; semen quality.*

# Índice

---

<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>I</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>II</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>III</b>
<b>ÍNDICE.....</b>	<b>IV</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>VI</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1 CONTEXTO E MOTIVAÇÃO .....	1
1.2 ORIGEM E DOMESTICAÇÃO DOS BOVINOS .....	1
1.3 RAÇAS BOVINAS AUTÓCTONES PORTUGUESAS .....	2
1.3.1 Raça Alentejana.....	2
1.3.2 Raça Arouquesa.....	3
1.3.3 Raça Barrosã.....	4
1.3.4 Raça Cachena.....	5
1.3.5 Raça Maronesa.....	6
1.3.6 Raça Mertolenga .....	6
1.3.7 Raça Minhota .....	7
1.3.8 Raça Mirandesa.....	8
1.3.9 Raça Preta.....	9
<b>CAPÍTULO 2: FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
2.1 APARELHO REPRODUTIVO DO MACHO .....	10
2.2 PUBERDADE .....	11
2.2.1 Idade à puberdade.....	11
2.2.2 Genética.....	12
2.2.3 Nutrição.....	12
2.2.4 Clima .....	13
2.2.5 Factores Sociais .....	14
2.3 ESPERMATOGÉNESE .....	14
2.4 O SÉMEN .....	15
2.4.1 O espermatozoide .....	16
2.4.2 Defeitos dos espermatozóides.....	17
2.5 FERTILIDADE.....	17
2.6 FATORES QUE CONDICIONAM A CAPACIDADE REPRODUTIVA DOS MACHOS .....	18
2.6.1 Nutrição.....	18
2.6.2 Adaptabilidade ao ambiente .....	19

---

<b>CAPÍTULO 3: MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>20</b>
3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS DADOS .....	20
3.2 COLHEITA E AVALIAÇÃO DO SÉMEN .....	20
3.2.1 <i>Método de colheita</i> .....	21
3.2.2 <i>Avaliação do sémen</i> .....	22
3.2.3 <i>Diluição do ejaculado</i> .....	24
3.2.4 <i>Processamento do sémen</i> .....	24
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	25
<b>CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>26</b>
4.1 VOLUME DO EJACULADO .....	26
4.2 NÚMERO DE ESPERMATOZÓIDES .....	30
4.3 NÚMERO DE ESPERMATOZÓIDES VIVOS .....	32
4.4 NÚMERO DE ESPERMATOZÓIDES MORTOS.....	35
4.5 NÚMERO DE ESPERMATOZÓIDES TOTAL (CONCENTRAÇÃO DO EJACULADO) .....	37
4.6 TERMO RESISTÊNCIA.....	39
4.7 CONCLUSÕES.....	42
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>43</b>

# Lista de Figuras

---

Figura 1 - Pinturas rupestres do Auroque encontradas na caverna de Lascaux na França (Araujo, 2010). .....	1
Figura 2 – Bovino da raça Alentejana. Fonte: bovinoalentejano.pt .....	3
Figura 3 – Bovino da raça Arouquesa. Fonte: ancra.pt .....	4
Figura 4 – Bovino da raça Barrosã. Fonte: amiba.pt.....	4
Figura 5 – Bovino da raça Cachena. Fonte: cachena.pt .....	5
Figura 6 – Bovinos da raça Maronesa. Fonte: marones.pt .....	6
Figura 7 – Bovino da raça Mertolenga. Fonte: mertolenga.com.....	7
Figura 8 – Bovino da raça Minhota. Fonte: minhota.com.pt .....	8
Figura 9 – Bovinos da raça Mirandesa. Fonte: mirandesa.pt .....	9
Figura 10 – Bovino da raça Preta. Fonte: racapreta.com.pt .....	9
Figura 11 – Esquema espermatogénese .....	15
Figura 12 – Tricotomia - prepúcio .....	21
Figura 13 – Sala de colheita de sémen .....	22
Figura 14 – Ejaculados nos tubos de colheita em banho-maria .....	22
Figura 15 – Vista microscópica dos espermatozóides .....	23
Figura 16 – Efeito da raça do touro no volume do ejaculado .....	29
Figura 17 – Efeito da idade do touro no volume do ejaculado. ....	29
Figura 18 – Efeito da repetição no volume do ejaculado.....	30
Figura 19 – Efeito da raça do touro no número de espermatozóides .....	31
Figura 20 – Efeito da raça do touro no número de espermatozóides .....	31
Figura 21 – Efeito da repetição no número de espermatozóides.....	32
Figura 22 – Efeito da raça do touro na percentagem de espermatozóides vivos .....	33
Figura 23 – Efeito da idade do touro na percentagem de espermatozóides vivos. ....	34
Figura 24 – Efeito da repetição na percentagem de espermatozóides vivos.....	34
Figura 25 – Efeito da raça do touro na percentagem de espermatozóides mortos .....	35

---

Figura 26 – Efeito da idade do touro na percentagem de espermatozóides mortos .....	36
Figura 27 – Efeito da repetição na percentagem de espermatozóides mortos.....	36
Figura 28 – Efeito da raça do touro no número total de espermatozóides .....	38
Figura 29 – Efeito da idade do touro no número de espermatozóides .....	38
Figura 30 – Efeito da repetição no número de espermatozóides.....	39
Figura 31 – Efeito da raça do touro na termo resistência .....	40
Figura 32 – Efeito da idade do touro na termo resistência .....	41
Figura 33 – Efeito da repetição na termo resistência.....	41

## **Lista de tabelas**

---

Tabela 1 – Efeito da raça (média ± erro padrão) nas características do ejaculado dos touros reprodutores.....	26
Tabela 2 – Efeito do número de repetição de colheita (média ± erro padrão) nas características do ejaculado dos touros reprodutores .....	27
Tabela 3 - Efeito da classe de idade (média ± erro padrão) nas características do ejaculado dos touros reprodutores .....	27

# Capítulo 1: Introdução

---

## *1.1 Contexto e motivação*

São conhecidas atualmente aproximadamente 800 raças bovinas, em uma população de bilhões de animais. Destas raças, cerca de 480 são taurinos e encontram-se na Europa (Jorge, 2013). Em Portugal existem oficialmente 15 raças de bovinos autóctones (que são animais com elevado grau de adaptação no ambiente em que vivem, sejam eles provenientes desse local ou de outras regiões), sendo elas: Alentejana, Arouquesa, Barrosã, Brava, Marinhola, Maronesa, Mertolenga, Mirandesa, Preta, Cachena, Minhota, Garvonesa, Ramo Grande, Algarvia e Jarmelista (Afonso, 2007).

Diversos países possuem sociedades específicas para promover o desenvolvimento na área de conservação, melhoramento e promoção desses animais (Carolino & Castro, 2009). É de grande importância para a conservação dessas raças que sejam realizadas ações que visem a caracterização das raças autóctones, mantendo assim a diversidade genética do efectivo nacional, preservando dessa maneira genes úteis e contribuindo assim para a manutenção da biodiversidade (Afonso, 2007; Carvalho, 2000a).

Em conjunto com a importância de se preservar e promover essas raças, começou-se a valorização dos aspectos reprodutivos desses animais. A fertilidade e o sucesso reprodutivo são o começo de uma criação lucrativa, por isso é de grande interesse avaliar e melhorar as suas características reprodutivas, como qualidade do ejaculado, taxa de fertilidade mais alta, entre outras (Pacheco, Rezende, & Peñagaricano, 2020).

Neste trabalho pretendeu-se avaliar qual o efeito da raça, da idade e do número de colheitas efectuadas nas características físicas do sêmen de touros candidatos a reprodutores de raças bovinas autóctones portuguesas.



## 1.2 Origem e domesticação dos bovinos

A domesticação dos bovinos foi um processo de grande impacto na história da humanidade, principalmente na agricultura (Beja-Pereira *et al.*, 2006). Esse processo ocorre de maneira gradual, e ainda não é compreendido na sua totalidade (Ginja, 2009).

O Auroque, *Bos primigenius* (Figura 1), é considerado o ancestral comum das espécies bovinas actuais, e há relatos da domesticação desses animais por todo o mundo (Carvalho, 2000). Apesar desse ancestral comum, a diferença genética entre as raças taurinas (*Bos taurus*) e zebuinas (*Bos indicus*) evidencia processos de domesticação diferentes (Fernandes, T. A., Costa, P. T., Farias, G. D., Vaz, R. Z., Silveira, I. D. B., Moreira, S. M., Silveira, 2017), sendo hoje possível diferencia-las facilmente através da presença ou não de cupim ou giba (Jorge, 2013).



Figura 1 - Pinturas rupestres do Auroque encontradas na caverna de Lascaux na França (Araujo, 2010).

A domesticação dos bovinos conduziu a uma grande mudança na história, provocando alterações no comportamento, na dieta e nas estruturas sociais em diferentes culturas (Beja-Pereira *et al.*, 2006). Essas mudanças também conduziram a uma modificação nas características das populações de bovinos, que com o decorrer do tempo foram sendo selecionados para diferentes aptidões provocando mudanças genéticas importantes, como

---

animais mais dóceis e mais produtivos (Fernandes, T. A., Costa, P. T., Farias, G. D., Vaz, R. Z., Silveira, I. D. B., Moreira, S. M., Silveira, 2017; Zeder, 2015).

### ***1.3 Raças bovinas autóctones portuguesas***

As raças bovinas conhecidas sofreram diversos processos de seleção com o passar das décadas, por motivos económicos, ambientais e sociais. Essa seleção priorizou raças com maiores rendimentos produtivos e reprodutivos, o que acabou por ocasionar um decréscimo na população de algumas raças autóctones (Carvalho, 2000a).

Apesar desse preocupante decréscimo da população ocorrido nas últimas décadas, tem-se, nos últimos anos, procurado reverter essa situação, com a conservação dessas raças. É de grande importância que se realize a preservação dessas raças para que não ocorra a perda de genes valiosos e também para manter a biodiversidade e evitar a erosão genética. As raças possuem combinações únicas de genes pois desenvolveram-se em ambientes diferentes desde a sua domesticação (Azevedo & Vitali, 2016; Cañón *et al.*, 2011).

Existem atualmente em Portugal 13 raças bovinas autóctones, que são criadas em diferentes regiões do país e cada qual com características distintas (Ginja, 2009). Contudo, por não possuírem um grande número de indivíduos, essas raças sofrem com a perda de variabilidade genética, podendo assim levar ao declínio da população (Cañón *et al.*, 2011).

Neste trabalho coletou-se dados de sêmen de 9 das 13 raças autóctones portuguesas que estão, seguidamente, descritas sucintamente:

#### ***1.3.1 Raça Alentejana***

A raça alentejana (Figura 2) foi assim denominada devido a sua região de criação, e os primeiros registos de criação da mesma iniciaram-se por volta de 1870. Os animais desta raça são considerados rústicos, dóceis e eram utilizados principalmente como força de trabalho, e com o advento da mecanização, a sua criação foi reduzida até que a sua produção teve com objectivo a produção de carne (Dias, 2008). É hoje considerada uma das mais importantes raças bovinas de Portugal, e suas características principais são a pelagem

---

vermelha e uma garupa bem desenvolvida, os machos são facilmente diferenciados pela presença de um cachaço no pescoço (Barata, 2013).

Desde 2003 a raça Alentejana vem sendo selecionada e melhorada geneticamente visando a sua capacidade materna, longevidade e para características reprodutivas e de qualidade de carcaça (Barata, 2013).



Figura 2 – Bovino da raça Alentejana. Fonte: bovinoalentejano.pt

### *1.3.2 Raça Arouquesa*

O “arouquês” (Figura 3) é considerado um animal rústico e robusto, tipicamente encontrado no meio rural. Considera-se que existam três divisões dentro da raça, o gado de São Pedro do Sul, os paivotos e os caramuleiros, sendo o de São Pedro do Sul o mais comum e o que é considerado como o animal “padrão” para a raça (Rocha, 2015).

São animais de pequeno porte e com boa musculatura, de pelagem castanha clara, dóceis e energéticos, e são utilizados em regiões onde a mecanização é inviabilizada pelo terreno (Rocha, 2015).



Figura 3 – Bovino da raça Arouquesa. Fonte: ancra.pt

### *1.3.3 Raça Barrosã*

Os animais da raça Barrosã (Figura 4) são encontrados sobretudo em zonas montanhosas. Sendo uma região de difícil exploração agrícola, parte da população se dedica a criação do gado (Carvalho, 2000b).

A raça barrosã tem dupla aptidão, sendo usado principalmente como força de trabalho, mas também produzindo carne de excelente qualidade. No fim do séc. XIX e início do séc. XX houve um grande impulso na criação desta raça, devido principalmente a procura dos produtos pelos mercados estrangeiros, onde eram muito apreciados (Almeida, 2014).



Figura 4 – Bovino da raça Barrosã. Fonte: amiba.pt

---

#### 1.3.4 Raça Cachena

A raça Cachena (Figura 5) é considerada uma raça de montanha, vivendo a altitudes acima dos 800m, sendo uma das raças mais adaptadas da Península Ibérica. É uma raça de pequeno porte (sendo uma das menores raças de bovinos do mundo), com cornos longos e atualmente encontra-se em risco de extinção, apesar de serem bem adaptadas ao clima da região (Brito *et al.*, 2005; Rocha, 2015). Sua população é pequena e concentra-se no norte de Portugal (Brito *et al.*, 2005).

A sua principal aptidão é a produção de carne, sendo utilizada pelos produtores pela sua grande adaptabilidade ao clima e às condições físicas das montanhas. O primeiro registo de um animal da raça, em 1994, era ainda considerada um subtipo da raça Barrosã, e apenas em 1998 foi classificada como uma raça autóctone portuguesa (Araújo, Cerqueira, Dantas, Pires, & Araújo, 2011).



Figura 5 – Bovino da raça Cachena. Fonte: cachena.pt

---

### 1.3.5 Raça Maronesa

O bovino da Raça Maronesa (Figura 6) tem sua criação natural concentrada nas serras do Alvão, Marão e Padrela. São animais de grande rusticidade e com grande facilidade de adaptação a terrenos montanhosos e com muitas pedras, onde a mecanização tem dificuldades em alcançar, por isso antigamente era muito utilizada como força de trabalho. Além disso, produz carne de excelente qualidade e as fêmeas são boas produtoras de leite, por vezes excedendo a necessidade da cria e produzindo a mais no primeiro mês (Almeida, 2014; Carvalho, 2000a).

É de estatura média, possui esqueleto leve e unhas duras, o que ajudam a permanecer em terrenos mais acidentados. Possui pelagem cor castanha escura, cabeça pequena com cornos com inserção média de cor branca com as pontas escuras, e seu temperamento é considerado astuto (Almeida, 2014; Rocha, 2015).



Figura 6 – Bovinos da raça Maronesa. Fonte: marones.pt

### 1.3.6 Raça Mertolenga

Os animais da raça Mertolenga (Figura 7) eram inicialmente encontrados em Mértola, Alcoutim e Martilongo, sendo posteriormente levados à outras localidades, onde possivelmente foram cruzados com outras raças, sendo que actualmente apresentam uma morfologia diferente do que era considerada inicialmente, sendo que em cada região apresentam características (como pelagem) diferentes, mas são semelhantes quanto as suas funções (Carvalho, 2000a).

Apresentam tamanho mediano, pelagem que pode variar do vermelho, rosilho, vermelho-malhada até malhada de vermelho. Tem temperamento nervoso, cabeça média e

---

com cornos finos. Apresenta também boas características maternas, mesmo quando em deficit alimentar (Carvalho, 2000a; Rocha, 2015).



Figura 7 – Bovino da raça Mertolenga. Fonte: mertolenga.com

#### *1.3.7 Raça Minhota*

A raça Minhota (Figura 8) é originária dos concelhos de Viana do Castelo, Ponte de Lima, Vila Nova de Cerveira e Caminha, mas se encontram hoje em todo o noroeste de Portugal, devido ao seu bom desempenho produtivo (Pimenta, Malheiro, Dores, Dantas, & Mateus, 2013).

Os bovinos dessa raça têm aptidão para carne, leite e trabalho, sendo que a função leiteira já foi considerada a principal, já que a produção de carne se dava principalmente pelos vitelos e das vacas substituídas, mas agora o foco da produção se volta novamente principalmente para a carne (Rocha, 2015).



Figura 8 – Bovino da raça Minhota. Fonte: minhota.com.pt

### *1.3.8 Raça Mirandesa*

Os bovinos da raça Mirandesa (Figura 9) foram grandemente utilizados em todo o território Portugal até meados da década de setenta, tendo chegado ao número de mais de 200 mil animais. Entretanto, com o aumento da mecanização na agricultura bem como a importação de raças exóticas que eram mais produtivas, fez com que houvesse um declínio da raça (Almeida, 2014).

Atualmente a raça encontra-se principalmente na região norte e a sua criação é voltada à produção de carne. Os animais são caracterizados por serem corpulentos e musculados, com pelagem castanha, escurecendo nas extremidades. As fêmeas dessa raça apresentam boa capacidade materna (Almeida, 2014; Rocha, 2015).



Figura 9 – Bovinos da raça Mirandesa. Fonte: mirandesa.pt

### *1.3.9 Raça Preta*

A origem da raça Preta (Figura 10) ainda é controversa, sendo defendido que seja resultado de cruzamentos de algumas raças da região ibérica. Como animais de tração, tiveram importante papel na agricultura pré mecanização, pois tem alta capacidade de trabalho, além de boa adaptação às variações de alimentos (Rocha, 2015).

A raça apresenta pelagem preta uniforme, podendo também ter, em alguns casos, pelagens parda ou atigrada (sendo essas colorações pretende-se eliminar através da seleção dos animais) (Gonçalves & Rodrigues, 2002).



Figura 10 – Bovino da raça Preta. Fonte: racapreta.com.pt

## Capítulo 2: Fisiologia da reprodução

---

### 2.1 *Aparelho reprodutivo do macho*

O sistema reprodutivo do macho é desenvolvido e adaptado para a produção, armazenamento e nutrição do espermatozoide, está também ligado à produção/secreção de hormonas, tais como a testosterona (Cunningham & Klein, 2009; Tartaglia & Waugh, 2005).

Anatomicamente, o sistema reprodutor masculino apresenta-se externa e internamente no animal. Externamente estão presentes o pénis e os testículos. Já internamente, o testículo é formado por túbulos seminíferos, que é onde ocorre a produção dos espermatozoides e da hormona testosterona.

Para além do testículo, estão presentes os túbulos seminíferos, tubulo reto, rede tesis, ductos eferentes e o epidídimo, que é a região onde ocorre a maturação do espermatozoide. Durante o restante do caminho até a uretra, há ligações com as vesículas seminais, a próstata e as glândulas bulbouretrais, que são estruturas acessórias produtoras de substâncias que, juntamente com os espermatozoides, formam o sémen (Albuquerque, 2015; Cunningham & Klein, 2009; Simões, 1984).

Nas paredes dos túbulos seminíferos estão presentes as células de Sertoli, que transportam as células germinativas. No entorno destas células se encontram as células de Leydig, produtoras de testosterona, a hormona que atua sobre as células de Sertoli, que irá fazer a secreção da ABP, aumentando a concentração de testosterona nos túbulos seminíferos e também pode converter a testosterona em estradiol (Albuquerque, 2015).

A testosterona é a principal hormona ligada a reprodução nos machos, é produzida nos testículos, mais especificamente nas células de Leydig. Esta hormona está associada principalmente com o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários dos machos, com o desenvolvimento muscular, bem como na produção de espermatozoides. A produção de testosterona é regulada pelo eixo hipotálamo-hipófise, que liberam LH e FSH. A liberação destas hormonas varia devido a impulsos de feedback negativo e influenciam na maior ou menor produção de testosterona (Albuquerque, 2015; Cunningham & Klein, 2009).

---

## 2.2 Puberdade

A puberdade pode ser definida como o período de transição em que o animal passa da imaturidade do período pós-natal, começa a segregar hormonas, libertar gâmetas e apresentar comportamento sexual completo até então atingir a maturidade sexual, que é entendida como a capacidade de gerar descendentes (Nepomuceno, 2013). Nos machos, os sinais que mostram que já atingiram a puberdade são a alteração do perfil de secreção de hormonas sexuais, o interesse sexual, a produção espermática com presença de espermatozóides no ejaculado e o evidente crescimento testicular (Mello, 2014).

Este período é considerado de grande importância na produção pois tem grande influência nas características de crescimento, como o ganho de peso, na reprodução, podendo, através da idade à puberdade alavancar a eficiência produtiva selecionando animais mais precoces, diminuindo assim o intervalo entre gerações e que são interessantes para a produção porque começam a depositar gordura a um menor peso, conseguindo assim atingir um grau de acabamento de carcaça mais cedo (Mello, 2014).

Nos sistemas de criação alguns factores contribuem para que ocorra a manifestação da puberdade, factores estes que se relacionam entre si e também relacionados ao crescimento e também ao desenvolvimento sexual (Mello, 2014). Alguns desses factores são:

### 2.2.1 Idade à puberdade

A puberdade é o início da fase reprodutiva nos animais, por isso a idade a puberdade é considerada uma característica de grande importância económica pois indica a precocidade sexual e é através da sua caracterização que é possível maximizar a utilização de animais com genética superior (Neto *et al.*, 2011). Em machos, a idade à puberdade é considerada a partir do momento em que os primeiros espermatozóides aparecem no ejaculado (Mello, 2014).

A idade a puberdade é considerada uma característica de herdabilidade alta, sendo possível reduzi-la através de seleção genética. Essa característica é de grande importância nos programas de melhoramento visto que, touros precoces podem ser utilizados mais cedo em monta natural ou como doadores de sêmen, permitindo assim um manejo de rebanho

---

mais eficiente, utilizando o máximo da sua eficiência reprodutiva (Freneau, Vale Filho, Marques, & Maria, 2006; Mello, 2014; Neto *et al.*, 2011).

### 2.2.2 *Genética*

Uma das principais diferenças entre as duas espécies de bovinos (zebuínos e taurinos) encontra-se nas suas características reprodutivas, sendo a idade em que atingem a puberdade um dos diferenciais. Os animais das raças zebuínas apresentam menor precocidade sexual, atingindo a puberdade entre 30 e os 36 meses. Já os animais das raças taurinas atingem a puberdade entre os 13 e os 20 meses, como principal fator limitante o clima.

Estas diferenças podem se dar também pelo grau de heterose das raças (que é maior quanto mais distantes geneticamente forem as raças) e de adaptabilidade ao ambiente. (Mello, 2014; Nepomuceno, 2013).

### 2.2.3 *Nutrição*

O manejo alimentar é um dos principais responsáveis pelos custos de produção e também está diretamente ligado ao desempenho animal. Os bovinos tem respostas diferentes aos diferentes tipos e níveis de alimentação e de suplementação, e essas respostas variam de acordo com a genética, bem-estar e a fisiologia destes animais (Ferreira *et al.*, 2013).

A nutrição tem um importante papel na idade à puberdade, e deve-se pensar em uma nutrição adequada desde o começo da vida dos animais, respeitando as suas diferentes fases para que se consiga tirar o maior proveito de uma precocidade sexual (Ferreira *et al.*, 2013; Kenny & Byrne, 2018).

Segundo Kenny e Byrne (2018), uma nutrição adequada a partir dos 6 meses de idade até os primeiros sinais da puberdade é a peça chave para que o animal atinga grande parte do seu potencial genético. Ainda segundo o autor, nesta fase a nutrição é importante pois está relacionada ao crescimento escrotal e assim, também relacionado a idade à puberdade.

Bollwein, Janett e Kaske (2017) mostram que, um aumento na nutrição através de suplementação energética após o aumento da concentração de gonadotrofina no organismo

---

dos animais afeta positivamente o aumento da circunferência escrotal, mas não tem interferência na produção de espermatozoides e na qualidade do sémen. Ainda segundo o autor, um excesso de suplementação pode ocasionar efeitos indesejados, como o aumento da camada de gordura no testículo, fazendo com que a termorregulação da área seja prejudicada, ocasionando a redução da produção de espermatozoides e diminuindo a qualidade do sémen.

#### 2.2.4 *Clima*

As variações de temperatura influenciam na espermatogênese. O estresse ocasionado pelo aumento da temperatura fazem com que ocorra uma diminuição na motilidade dos espermatozoides vivos, além de ocasionar alterações morfológicas e diminuição da qualidade do sémen (Silva *et al.*, 2015).

A termorregulação é uma resposta do organismo para regular a temperatura corporal do animal, que pode ter sido demasiadamente elevada por exposição ao calor ao a alta humidade (estresse térmico). Essa resposta do organismo faz com que o animal diminua a ingestão de alimentos, diminuindo o ganho de peso, e utilizando a energia que seria direcionada para outras funções (como a reprodução) para eliminar o calor excedente do corpo (Morrell, 2020).

Os efeitos ocasionados na reprodução e mais especificamente na puberdade variam de acordo com o tempo em que o animal foi exposto ao estresse térmico, mas, machos expostos a períodos recorrentes de estresse térmico tendem a ter uma idade à puberdade mais tardia que o normal, além de que tem uma menor qualidade espermática e de sémen por um período de tempo pois, devido a baixa disponibilidade de alimento os animais se alimentam menos, prejudicando assim o seu crescimento (Morrell, 2020).

As estações do ano também afetam significativamente a idade à puberdade. Em seu estudo, Nogueira (2001) descreve que novilhos nascidos no outono obtiveram menor idade a puberdade dos nascidos na primavera. Ainda segundo o autor, este fato acontece principalmente pela disponibilidade de alimento e duração do dia e noite nas diferentes estações mas também se deve a diferença entre as raças e práticas de manejo.

---

### 2.2.5 *Factores Sociais*

Ao chegarem a fase da puberdade, os animais começam a demonstrar alguns comportamentos que estão relacionados a reprodução. Nos touros, devido ao aumento da carga hormonal bem como o instituto de reprodução, começa-se os comportamentos de dominância e hierarquia, onde os animais começam a querer dominar o território em que estão inseridos, bem como os comportamentos de monta (De Oliveira *et al.*, 2007; Mello, 2014).

Além disso, o sexo dos animais também tem influência no comportamento. Em rebanhos criados ao modo mais natural possível, os touros tendem a pastejar menos e a ruminar mais, ficando mais atentos ao seu entorno. Dependendo do local em que estão inseridos isto pode ocasionar picos de estresse, podendo influenciar o momento da idade à puberdade, bem como nas características do sémen (Albandes *et al.*, 2017).

### 2.3 *Espermatogénese*

A espermatogénese é um processo cíclico, que regula a divisão e a diferenciação celular pelo qual os espermatozóides são produzidos nos testículos. Este processo depende do eixo hipotálamo-hipófise-testículo pois requer a produção da hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) pelo hipotálamo e seguido por ações da hormona folículo estimulante (FSH) e da hormona luteinizante (LH) além dos feedbacks da testosterona. Este processo ocorre nos túbulos seminíferos e tem duração de 40 a 60 dias (Aguiar, Araújo, & Moura, 2006; Ferraz & Oliveira, 2007).

A diferenciação envolve três tipos de células germinativas: Os espermatogónios, os espermatócitos e as espermátides. Este processo é contínuo, sendo comumente dividido em três fases: fase mitótica, fase meiótica e a espermiogénese; cada uma destas é caracterizada (Figura 11) por mudanças morfológicas e bioquímicas distintas (Costa & Paula, 2003).

Nos túbulos seminíferos encontram-se as espermatogónias ( $2n$ ), estas multiplicam-se por mitoses. Após a mitose ocorre a fase de crescimento, em que as espermatogónias crescem e dividem-se, transformando-se em espermatócitos primários ( $2n$ ). Os espermatócitos sofrem meiose, originando duas células haplóides chamadas de espermatócitos secundários

(n), que sofrem outra meiose, dando origem a quatro células haploides, chamadas espermatídes. As espermatídes começam então seu processo de transformação em espermatozóides, perdendo quase todo o citoplasma e desenvolvendo um flagelo a partir do centríolo (Costa & Paula, 2003; Ferraz & Oliveira, 2007; Tartaglia & Waugh, 2005).

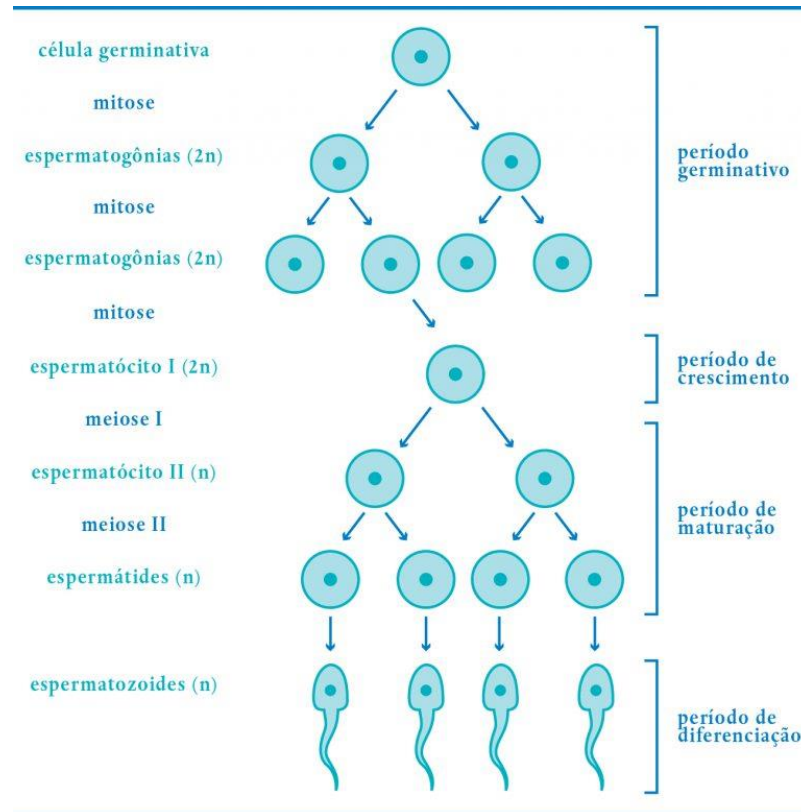


Figura 11 – Esquema espermatogênese fonte: ipgo.com.br

## 2.4 O sémen

O sémen é um fluido produzido pelos machos com a função de transportar os espermatozóides até a fêmea para que ocorra a fertilização, também inclui as secreções epididimais. Este fluido tem grande importância para a indústria agropecuária pois é utilizado em métodos de cruzamento, como a inseminação artificial (Kumar Yata *et al.*, 2020). O volume do sémen é composto por duas partes, os espermatozóides e o líquido (ou plasma) seminal. O plasma seminal é rico em proteínas e em energia, essenciais para que o espermatozóide percorra o seu caminho até a fecundação (Olsen, Heringstad, & Klemetsdal, 2020). Além disso, também está ligado diretamente à fisiologia do espermatozóide,

---

prevenindo a sua capacitação prematura e protegendo-o do stress oxidativo (Pereira *et al.*, 2020).

A qualidade do sémen está diretamente ligada à taxa de concepção, com o avanço das técnicas reprodutivas, como a inseminação artificial, os parâmetros de qualidade do sémen tornaram-se ainda mais importantes para aumentar a lucratividade da produtor, com animais mais férteis e precoces (Carvalho Filho *et al.*, 2019). Com esses avanços, uma maneira para se preservar o sémen teve de ser desenvolvida, logo, na década 40, a criopreservação do sémen teve grandes avanços, principalmente pela descoberta da função crioprotetora do glicerol (Siqueira *et al.*, 2007).

A avaliação da qualidade do sémen é de grande importância para a indústria para que seja possível selecionar os animais aptos para a reprodução. A utilização de sémen com qualidade superior conduz a uma produção eficiente dos subprodutos bovinos (Kumar Yata *et al.*, 2020). Os parâmetros convencionais utilizados para se verificar essa qualidade (volume do ejaculado (VE), número de espermatozoides (SPZ), percentagem de espermatozoides vivos (SPZV), percentagem de espermatozoides mortos (SPZM), número total de espermatozoides (concentração espermática) (SPZT), Termo resistência (TR), motilidade e morfologia) se mostram limitantes ao predizer a fertilidade do macho, pois o espermatozoide contém diferentes funções a serem avaliadas, desse modo, testes como o de termorresistência, ganharam cada vez mais espaço. (Kumar Yata *et al.*, 2020; Siqueira *et al.*, 2007).

#### 2.4.1 O espermatozoide

Os espermatozoides são os gâmetas masculinos responsáveis pela reprodução e carregam a informação genética. São formados nos testículos, a partir da espermatogénese. São células haploides, possuindo metade do número de cromossomas de uma espécie (Santos, 2020).

Sua estrutura básica é dividida em três partes: cabeça, corpo e cauda. Na cabeça encontra-se o núcleo e o acrossoma, que é a estrutura responsável pelo transporte de enzimas para que o espermatozoide consiga penetrar no ovócito, realizando a fecundação. O corpo do espermatozoide ou peça intermediária é a porção de junção da cabeça e cauda e onde se

---

encontram as mitocôndrias, que realizam a respiração celular e fornecem energia para que o gâmeta consiga se locomover. Já a cauda do espermatozoide têm função locomotora, onde impulsiona o espermatozoide até a fecundação (Olivera Ángel, Ruíz, Tarazona Morales, & Giraldo Echeverri, 2006; Santos, 2020).

#### 2.4.2 Defeitos dos espermatozoides

Durante sua formação, alguns defeitos podem surgir ocasionando espermatozoides anormais. Aproximadamente 10% dos espermatozoides do ejaculado possuem algum defeito, mas caso essa percentagem seja elevada, a fecundação e toda a reprodução em si podem ser afetadas negativamente. Algumas das modificações mais comumente observadas são espermatozoides com tamanhos acima ou abaixo da média, com duas cabeças, tamanhos anormais da cabeça e com motilidade afetada (Olivera Ángel *et al.*, 2006; Olsen *et al.*, 2020; Santos, 2020).

### 2.5 Fertilidade

A fertilidade dos touros é considerada um dos fatores mais críticos na produção animal, uma vez que condiciona o potencial reprodutivo e, portanto, produtivo e económico das empresas agropecuárias. Além disso, taxas de fertilização baixa é um dos elementos principais que contribuem para reduzir a eficiência reprodutiva nos sistemas de produção (Menezes *et al.*, 2019).

Tradicionalmente, os programas de reprodução tinham como prioridade os dados reprodutivos das fêmeas. A seleção dos touros era exclusivamente para crescimento e qualidade de carcaça, e muita pouca importância se dava aos dados reprodutivos dos machos, mas com o tempo se viu necessário as análises de qualidade do sêmen do macho, pois esses tem grande importância para a produção (Carvalho Filho *et al.*, 2019).

Taxas de fertilidade adequadas/ótimas/máximas são essenciais à produção animal lucrativa, tendo um grande impacto económico para os produtores (Martínez-Velázquez *et al.*, 2020). A ineficiência reprodutiva causada por taxas baixas de fertilidade pode levar a

---

intervalos entre partos maiores, perdas embrionárias, mortalidade dos bezerros após o nascimento (Pacheco *et al.*, 2020).

A alimentação está diretamente ligada as taxas de fertilidade. A disponibilidade de alimento afeta positiva ou negativamente a reprodução animal, caso essa não seja adequada para suprir as necessidades fisiológicas primárias do touro, ocorrerá diminuição na taxa de fertilidade, ocasionada pela má qualidade do sémen pois o animal usará a sua energia para sobrevivência, fazendo com que os processos reprodutivos parem ou ocorram com menos frequência, até que a demanda energética seja atendida (Carvalho Filho *et al.*, 2019; Nieto-Espinet, Valenzuela-Lamas, Bosch, & Gardeisen, 2020).

Além da melhoria da alimentação, a taxa de fertilidade pode ser melhorada utilizando técnicas reprodutivas tais como a inseminação artificial, a seleção e o melhoramento genético (Martínez-Velázquez *et al.*, 2020).

## ***2.6 Fatores que condicionam a capacidade reprodutiva dos machos***

Nos sistemas de produção de bovinos a eficiência produtiva é um dos objetivos principais a serem alcançados, e para que seja possível tal feito, diversos fatores influenciam e determinam o potencial que os animais poderão alcançar (E. Nogueira, 2009). Podemos citar alguns fatores, como:

### ***2.6.1 Nutrição***

A nutrição tem grande importância na capacidade produtiva dos animais. São muitos os efeitos de um planejamento nutricional, tanto na quantidade em que ocorrem os processos reprodutivos quanto na qualidade dos mesmos (E. Nogueira, 2009).

Para se obter o máximo proveito sob o ciclo reprodutivo dos animais, é de extrema importância que este esteja ajustado também à um ciclo de produção de pastagem (caso os animais não sejam criados confinados). Desta forma é necessário conhecer a época de disponibilidade das pastagens a serem utilizadas ao longo do ano para determinar a fase produtiva com maior disponibilidade de alimento e, caso necessário, que se utilize também

---

suplementação via alimentos concentrados em épocas com menor disponibilidade (Luz Ferreira, 2014; E. Nogueira, 2009).

A nutrição tem efeito direto na fisiologia da reprodução, por isso se faz necessário um acompanhamento mais rigoroso nas fases em que a demanda nutricional é maior, como nas épocas de cobrição, pré e pós-parto e o período de amamentação até o desmame. Nestas fases, o mal manejo nutricional pode ocasionar subnutrição e doenças de teor debilitante ou infectocontagiosas, prejudicando assim a performance reprodutiva, causando danos à produção, e também podendo interferir no progresso genético do rebanho (Luz Ferreira, 2014).

Os requisitos nutricionais para que os touros tenham uma boa produção espermática se dá em torno de 5% a 10% acima da sua manutenção. Caso esses requisitos não sejam supridos, a produção espermática fica prejudicada, além de afetar também o crescimento testicular, prejudicando o desenvolvimento dos túbulos seminíferos, retardando assim a função dos testículos e a produção dos espermatozoides. Em animais adultos a queda da produção espermática pode chegar a até 15% aos 18 meses (E. Nogueira, 2009).

### 2.6.2 *Adaptabilidade ao ambiente*

Os animais são muito sensíveis as transformações que ocorrem no ambiente ao seu redor e estas também tem influência na fisiologia dos animais. As variações de estações influencia tanto a produção quanto a qualidade do sémen. Ao serem expostos a temperaturas a qual não estão adaptados (sejam elevadas ou baixas) os animais entram em estresse térmico, que resulta na diminuição da produção de espermatozoides, bem como diminuição da sua motilidade e aumento de defeitos físicos. Isso ocorre porque o animal usa sua energia para aumentar ou diminuir a sua temperatura corporal, prejudicando assim as suas funções reprodutivas (Ramos *et al.*, 2013).

Além disso, o temperamento do animal também pode influenciar nas suas características reprodutivas. Animais com temperamento mais agitado e agressivo liberam maior quantidade de cortisol e esse aumento esta relacionado ao aparecimento de defeitos nos espermatozóides bem como a diminuição da sua produção. Os picos de estresse podem ocorrer devido a diversos fatores como fatores ambientais como mudanças bruscas de temperatura, manejo inadequado, dominância entre outros (Braga *et al.*, 2018).

## Capítulo 3: Material e métodos

---

### *3.1 Caracterização dos dados*

Na realização deste trabalho foram coletados dados de colheita de sémen e pedigree referentes a 151 animais, com idades diversas a partir dos 11 meses, das raças autóctones Alentejana (7 animais), Arouquesa (8 animais), Barrosa (39 animais), Cachena (6 animais), Maronesa (24 animais), Mertolenga (16 animais), Minhota (26 animais), Mirandesa (17 animais) e Preta (8 animais), totalizando 1247 colheitas de sémen avaliadas, de diversos períodos de colheita diferentes.

Os dados de colheita de sémen foram disponibilizados pelo Centro de Testagem e Colheita de Sémen da Federação Nacional das Associações de Raças Autóctones, localizado em São Torcato, Guimarães, Portugal. Já os dados de pedigree foram disponibilizados pelas associações de criadores das respetivas raças que foram utilizadas no presente trabalho.

As características avaliadas foram: Idade, Número de colheitas, Volume, Densidade, Motilidade massal e individual, Número de espermatozóides (mortos, viáveis e total) e Termo resistência.

### *3.2 Colheita e avaliação do sémen*

Nos dias de colheita, os animais foram lavados na parte inferior do tórax e abdómen e junto ao orifício prepucial. Os pelos foram cortados (conforme Figura 11) e as zonas circunvizinhas lavadas com sabão e enxaguadas e secas com papel absorvente. O tratador teve o cuidado de verificar se o animal estava devidamente limpo, antes do mesmo entrar na sala de colheita. A parte traseira do animal manequim também foi lavada com sabão e enxaguada e seca.



Figura 12 – Tricotomia - prepúcio

### 3.2.1 *Método de colheita*

O método de colheita de sémen usado no centro de colheita de sémen de São Torcato é o método da vagina artificial. Pontualmente, também é utilizado o método de eletroejaculação, quando a situação assim o exigir.

O método por vagina artificial (VA) é aquele em que o ejaculado mais se aproxima do depositado no trato genital da vaca no momento da cópula. A vagina artificial é composta por um tubo cilíndrico de borracha (corpo da vagina), uma membrana de borracha fina e um cone de borracha. O cone é adaptado ao corpo da vagina sendo que na sua outra extremidade é colocado um tubo de vidro graduado de 15mL envolvido por um protetor de temperatura. O espaço interno entre o corpo da vagina e a membrana de borracha fina é preenchido com água quente (aproximadamente 45°C).

As vaginas são colocadas em estufas à temperatura de 45°C antes da realização da colheita. Ao início do procedimento de colheita, a VA é lubrificada com um gel não espermicida. Com a VA devidamente preparada, cada touro foi conduzido até ao animal manequim presente na sala de colheita e no instante do salto o operador desvia o pénis do animal na direção do orifício da VA, deixando o touro introduzir o pénis na vagina artificial.

No final de cada colheita o tubo com o ejaculado é colocado no banho-maria a 38° C, protegendo-o de choques térmicos (Figura 13).



Figura 13 – Sala de colheita de sémen



Figura 14 – Ejaculados nos tubos de colheita em banho-maria

### 3.2.2 Avaliação do sémen

O material colhido foi imediatamente identificado e analisado quanto aos aspetos físicos e morfológicos. Os aspetos físicos medidos foram: volume, motilidade massal e individual e concentração de espermatozóides do ejaculado. O volume (mL), aspecto e coloração foram observados diretamente no tubo de colheita.

Para se avaliar a motilidade, duas gotas de sémen são colocadas em uma lamina e colocadas na placa térmica do microscópio com aumento de 100 a 400x. A primeira gota é

---

utilizada para se observar a motilidade massal, observando o turbilhamento (movimento em massa dos espermatozoides). Já a segunda gota é utilizada para se observar a motilidade individual, em que se avalia o vigor e o deslocamento dos espermatozoides no campo ótico do microscópio. A classificação atribuída para este parâmetro varia numa escala de 0 a 5, sendo que zero significa baixa movimentação dos espermatozoides e cinco significa movimentação com grande energia e do tipo progressivo retilíneo.

Para à avaliação da concentração utilizou-se um fotómetro, e o valor se deu pela quantidade de espermatozoides num determinado volume de ejaculado, e os resultados apresentados em milhões/mL.

As características morfológicas avaliadas foram os defeitos (maiores ou menores) dos espermatozoides (Figura 14). Os defeitos maiores não podem ultrapassar os 20% e cada forma individual os 5%. Os defeitos menores não podem ultrapassar os 25% e 10% de anomalias individuais. O sémen com características favoráveis para ser utilizado é então diluído e posteriormente refrigerado e acondicionado em mini-palhinhas e após o período de equilíbrio, congelado.

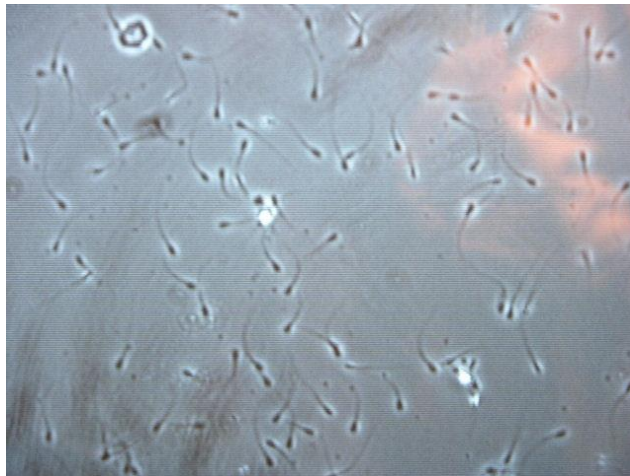


Figura 15 – Vista microscópica dos espermatozoides

---

### 3.2.3 Diluição do ejaculado

Para que seja possível conservar e manter a viabilidade do sémen, foi utilizado um diluidor (Andromed ou Bioexcel). Na generalidade, os constituintes base dos diluidores usados para sémen de bovino são:

- Citrato de sódio (efeito tampão);
- Glucose ou frutose (fonte de energia);
- Lecitina de soja (mantém a integridade das membranas);
- Glicerol (crioprotector);

Antes de se iniciar o processo de colheita, colocou-se o diluidor em banho-maria à temperatura de 38°C, para que no momento da diluição, o sémen e o diluidor estejam à mesma temperatura. A quantidade de diluidor utilizado é calculada com base na concentração de espermatozóides e volume do ejaculado, de forma a obter 20 milhões de espermatozóides viáveis numa mini-palhinha de 0,25 mL de volume. Para a preparação do diluidor é simplesmente necessária água pura.

### 3.2.4 Processamento do sémen

Os ejaculados depois de diluídos passam por um processo de refrigeração de 4h, desde a hora da última colheita. As amostras de sémen são colocadas à temperatura ambiente e protegidas dos raios ultravioleta, passando de seguida para a câmara de refrigeração, a 4°C, onde se procede ao enchimento e o lacre das mini-palhinhas, sendo devidamente identificadas no processo. Esta mudança de temperatura é realizada gradualmente.

A identificação engloba o nome do touro, raça, número de SNIRB, data de colheita e código do centro de colheita. Podem-se utilizar diferentes cores de mini-palhinhas, uma cor por lote, no sentido de ajudar a identificar o ejaculado respetivo de cada animal.

No final deste processo as mini-palhinhas são dispostas numa rampa metálica sendo divididas em grupos de vinte e cinco e colocadas verticalmente em portoirs, suportes para proceder à congelação. Cada portoir tem capacidade para 250 mini-palhinhas. A congelação é realizada com vapores de azoto líquido a -196°C, durante 30 minutos. Verte-se azoto

---

líquido para uma caixa de poliestireno ou para um contentor até ao limite inferior dos porteiros. Tapa-se a caixa/contentor com a respetiva tampa.

Passado o tempo de congelação as palhinhas são colocadas em visocopos com azoto líquido, sendo utilizado um cesto de rede (suporte para visocopos) e um funil de alumínio. Viram-se as palhinhas para outro visocopo de maneira que o tampão das mini-palhinhas fique para baixo. Este procedimento é sempre realizado com as palhinhas submersas em azoto líquido. Os visocopos com as mini-palhinhas são colocados nos canisteres e arrumados nos contentores.

No final de 30 dias de congelação, realiza-se o teste de termo-resistência. Este teste consiste em submeter uma mini-palhinha de cada lote de sémen em banho-maria à temperatura de 38°C, durante 4 horas, no sentido de avaliar a mobilidade e o vigor espermático.

### ***3.3 Análise estatística***

A análise foi efectuada com o software R e os dados foram analisados pelo modelo linear

$$Y = \text{Raça} + \text{ClasseIdade} + \text{Repetição} + \text{MesColheita}$$

Com as classes de idade sendo:

- 1- até 24 meses;
- 2- de 24 a 48 meses.

Sempre que o efeito se mostrou significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com alfa = 0,05.

## Capítulo 4: Resultados e discussão

### 4.1 Volume do ejaculado

Na Tabela 1 apresentamos o efeito da raça (média  $\pm$  erro padrão) no volume do ejaculado (VE), no número de espermatozóides (SPZ), na percentagem de espermatozóides vivos (SPZV), na percentagem de espermatozóides mortos (SPZM), no número total de espermatozóides (SPZT) e na Termo resistência (TR) dos animais de raças autóctones portuguesas estudadas neste trabalho.

Tabela 1 – Efeito da raça (média  $\pm$  erro padrão) nas características do ejaculado dos touros reprodutores

Raça	VE (mL)	SPZ (milhares/mm <sup>3</sup> )	SPZV (milhares/mm <sup>3</sup> )	SPZM (%)	SPZT (milhares/mm <sup>3</sup> )	TR (%)
Alentejana	8,5 $\pm$ 1,1 <sup>f</sup>	651 $\pm$ 79 <sup>a</sup>	491 $\pm$ 59 <sup>a</sup>	24 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>	4047 $\pm$ 710 <sup>ab</sup>	21 $\pm$ 2,6 <sup>ab</sup>
Arouquesa	4,4 $\pm$ 0,34 <sup>cd</sup>	864 $\pm$ 60 <sup>ab</sup>	661 $\pm$ 46 <sup>ab</sup>	23 $\pm$ 0,98 <sup>a</sup>	2794 $\pm$ 283 <sup>a</sup>	22 $\pm$ 1,6 <sup>ab</sup>
Barrosa	4 $\pm$ 0,16 <sup>c</sup>	991 $\pm$ 36 <sup>bc</sup>	770 $\pm$ 28 <sup>bc</sup>	21 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>	3051 $\pm$ 160 <sup>a</sup>	20 $\pm$ 0,72 <sup>a</sup>
Cachena	1,9 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	1564 $\pm$ 164 <sup>d</sup>	1203 $\pm$ 126 <sup>d</sup>	22 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>	2397 $\pm$ 366 <sup>a</sup>	23 $\pm$ 2,4 <sup>ab</sup>
Maronesa	3 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>	1139 $\pm$ 50 <sup>cd</sup>	884 $\pm$ 39 <sup>cd</sup>	21 $\pm$ 0,57 <sup>a</sup>	2659 $\pm$ 168 <sup>a</sup>	20 $\pm$ 0,9 <sup>ab</sup>
Mertolenga	6,1 $\pm$ 0,42 <sup>ef</sup>	700 $\pm$ 44 <sup>a</sup>	543 $\pm$ 34 <sup>a</sup>	22 $\pm$ 0,84 <sup>a</sup>	3288 $\pm$ 300 <sup>ab</sup>	22 $\pm$ 1,4 <sup>ab</sup>
Minhota	4,7 $\pm$ 0,13 <sup>d</sup>	1099 $\pm$ 27 <sup>cd</sup>	844 $\pm$ 21 <sup>cd</sup>	22 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	3963 $\pm$ 141 <sup>b</sup>	23 $\pm$ 0,58 <sup>b</sup>
Mirandesa	4,6 $\pm$ 0,33 <sup>cde</sup>	800 $\pm$ 53 <sup>ab</sup>	630 $\pm$ 42 <sup>ab</sup>	20 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	2573 $\pm$ 248 <sup>a</sup>	20 $\pm$ 1,4 <sup>ab</sup>
Preta	4,6 $\pm$ 0,86 <sup>abcdef</sup>	902 $\pm$ 153 <sup>abcd</sup>	719 $\pm$ 122 <sup>abcd</sup>	20 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>	3253 $\pm$ 802 <sup>ab</sup>	21 $\pm$ 3,6 <sup>ab</sup>

\*Valores na mesma coluna com letras diferentes diferem significativamente ( $P < 0.05$ ). VE – Volume do ejaculado (mL); SPZ – Número de espermatozóides (milhares/mm<sup>3</sup>), SPZV- Número de espermatozóides vivos (milhares/mm<sup>3</sup>), SPZM – Número de espermatozóides mortos (%), SPZT – Número de espermatozóides total (milhares/mm<sup>3</sup>), TR – Termo resistência (%).

Na Tabela 2 apresentamos o efeito do número de repetição (média  $\pm$  erro padrão) no volume do ejaculado (VE), no número de espermatozóides (SPZ), na percentagem de espermatozóides vivos (SPZV), na percentagem de espermatozóides mortos (SPZM), no número total de espermatozóides (SPZT) e na termo resistência (TR) dos animais de raças autóctones portuguesas estudadas neste trabalho.

Tabela 2 – Efeito do número de repetição de colheita (média ± erro padrão) nas características do ejaculado dos touros reprodutores

Repetição	VE (mL)	SPZ (milhares/mm <sup>3</sup> )	SPZV (milhares/mm <sup>3</sup> )	SPZM (%)	SPZT (milhares/mm <sup>3</sup> )	TR (%)
1	4,5 ± 0,17 <sup>b</sup>	967 ± 35 <sup>b</sup>	741 ± 27 <sup>a</sup>	22 ± 0,49 <sup>b</sup>	3237 ± 168 <sup>b</sup>	21 ± 0,78 <sup>a</sup>
2	4,2 ± 0,16 <sup>a</sup>	906 ± 32 <sup>a</sup>	709 ± 25 <sup>a</sup>	21 ± 0,46 <sup>a</sup>	3905 ± 151 <sup>a</sup>	21 ± 0,78 <sup>a</sup>

\*Valores na mesma coluna com letras diferentes diferem significativamente (P < 0.05). VE – Volume do ejaculado (mL); SPZ – Número de espermatozóides (milhares/mm<sup>3</sup>), SPZV - Número de espermatozóides vivos (milhares/mm<sup>3</sup>), SPZM – Número de espermatozóides mortos (%), SPZT – Número de espermatozóides total (milhares/mm<sup>3</sup>), TR – Termo resistência (%).

Na Tabela 3 apresentamos o efeito da classe de idade (média ± erro padrão) no volume do ejaculado (VE), no número de espermatozóides (SPZ), na percentagem de espermatozóides vivos (SPZV), na percentagem de espermatozóides mortos (SPZM), no número total de espermatozóides (SPZT) e na termo resistência (TR) dos animais de raças autóctones portuguesas estudadas neste trabalho.

Tabela 3 - Efeito da classe de idade (média ± erro padrão) nas características do ejaculado dos touros reprodutores

Classe de Idade	VE (mL)	SPZ (milhares/mm <sup>3</sup> )	SPZV (milhares/mm <sup>3</sup> )	SPZM (%)	SPZT (milhares/mm <sup>3</sup> )	TR (%)
1	4 ± 0,13 <sup>a</sup>	904 ± 27 <sup>a</sup>	710 ± 21 <sup>a</sup>	21 ± 0,38 <sup>a</sup>	2787 ± 120 <sup>a</sup>	20 ± 0,61 <sup>a</sup>
2	4,6 ± 0,23 <sup>b</sup>	969 ± 44 <sup>a</sup>	740 ± 34 <sup>a</sup>	22 ± 0,63 <sup>b</sup>	3374 ± 223 <sup>b</sup>	23 ± 1 <sup>b</sup>

\*Valores na mesma coluna com letras diferentes diferem significativamente (P < 0.05). VE – Volume do ejaculado (mL); SPZ – Número de espermatozóides (milhares/mm<sup>3</sup>), SPZV - Número de espermatozóides vivos (milhares/mm<sup>3</sup>), SPZM – Número de espermatozóides mortos (%), SPZT – Número de espermatozóides total (milhares/mm<sup>3</sup>), TR – Termo resistência (%).

O VE apresentou grande variação (P < 0,05) entre as raças (tabela 1), sendo o valor mínimo observado na raça Cachena (1,9 ± 0,22 mL) e o valor máximo observado na raça Alentejana (8,5 ± 1,10 mL).

No que diz respeito à raça, não foram encontradas diferenças significativas (P > 0.05) entre a raça Preta com nenhuma das outras raças (tabela 1), e as raças Arouquesa, Mirandesa e Mertolenga obtiveram dados semelhantes a outras raças. Também se observou diferença significativa (P < 0,05) entre o número de repetição de colheitas (tabela 2) e na

---

classe de idade (tabela 3), com a primeira repetição obtendo maiores valores ( $4,5 \pm 0,17$ ) e a segunda classe de idade com os maiores valores ( $4,6 \pm 0,23$ ).

Esses dados também foram observados por Murphy *et al.* (2018) que encontrou diferença significativa no volume espermático em diferentes classes de idade em touros da raça Holstein Friesian. Além disso Murphy *et al.* (2018) também verificou diferença significativa no volume de ejaculado por repetição, onde a segunda colheita teve menor concentração. Em contraste, Silva, da *et al.* (2009) não encontrou diferença significativa no volume de sémen produzido por raças europeias, apenas por raças zebuínas.

Segundo Fiaz *et al.* (2010) o volume ejaculado pelo animal sofre diversas interferências, fisiológicas e ambientais como pela estação do ano e pelo stress que o animal possa estar submetido na hora da colheita, além de cada raça sentir esses efeitos de maneira diferente, afetando assim cada uma de uma maneira, então, ao se observar diferenças significativas no volume de cada raça estamos vendo essas interferências agindo de maneiras diferentes em cada animal. Além disso, a diferença física de cada raça (peso corporal, e tamanho) também tem influência no volume ejaculado.

Em relação as classes de idade, Rehman *et al.* (2016) diz que a performance sexual dos touros começa quando o mesmo atinge a puberdade e se mantém por longos períodos de tempo, até atingir idades mais avançadas.

Através da Figura 16 podemos observar a variabilidade dos dados citada anteriormente, onde a raça Cachena aparece com os menores resultados e a raça Alentejana com os maiores. Podemos verificar que há alta variabilidade entre as raças e dentro das mesmas, pela assimetria das caixas. Além disso, alguns outliers, principalmente na raça minhota demonstram dados discrepantes da maioria.

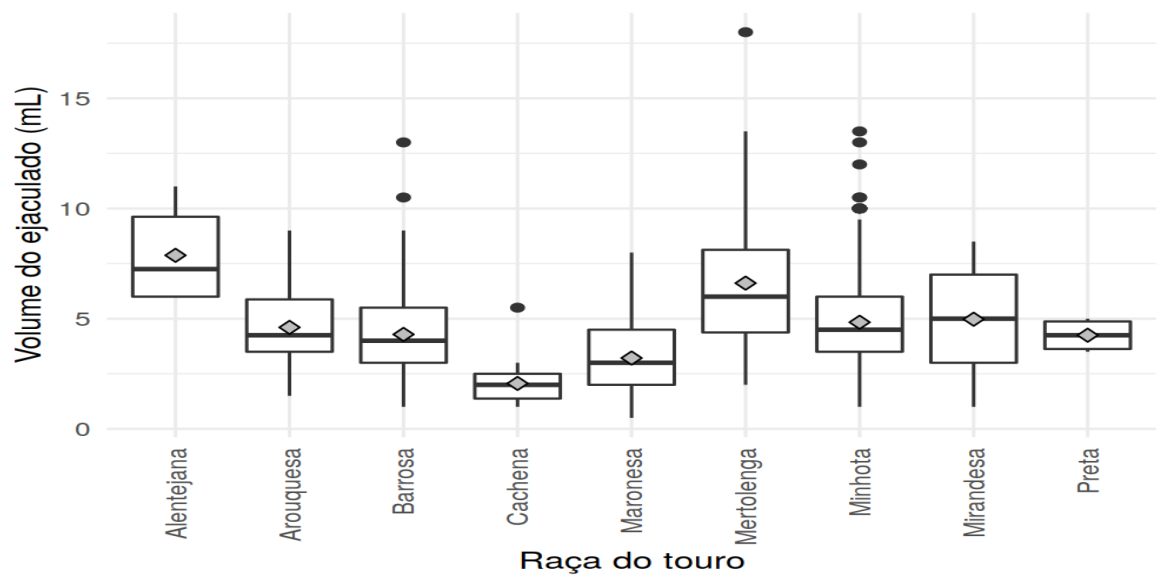


Figura 16 – Efeito da raça do touro no volume do ejaculado

Já na Figura 17, podemos notar a proximidade dos dois grupos, apesar de a diferença ser significativa e, assim como na Figura 16, alguns outliers presentes mostrando dados com valores mais altos que a média. Também é possível notar uma assimetria no tamanho das caixas, mostrando variabilidade de dados.

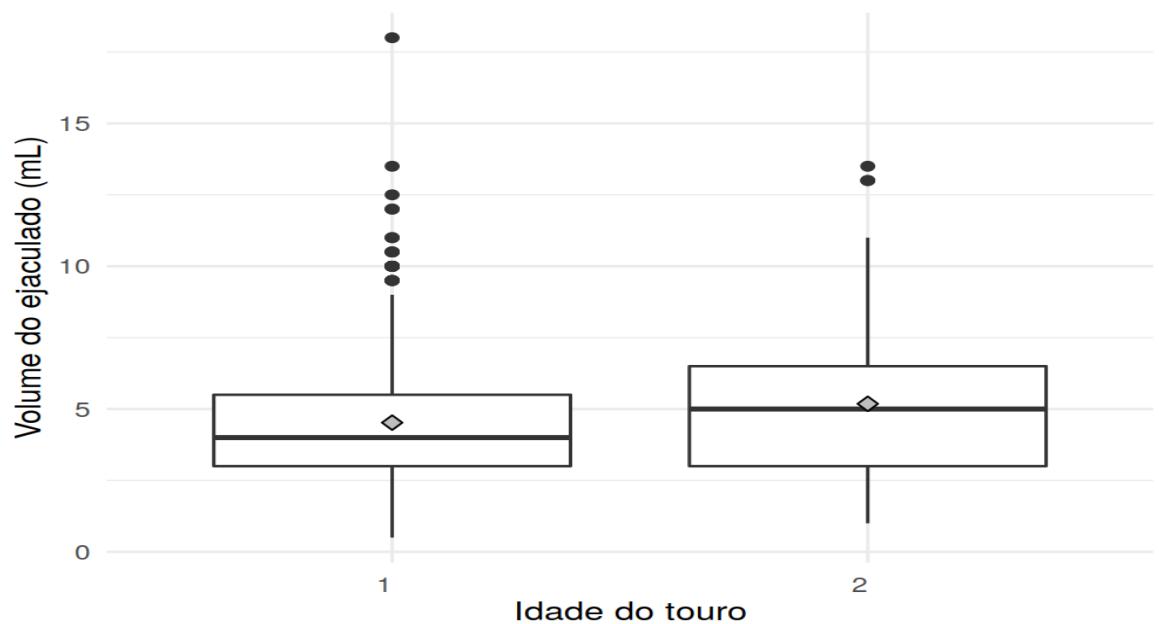


Figura 17 – Efeito da idade do touro no volume do ejaculado.

---

Assim como nas Figuras anteriores, podemos observar na Figura 18 alguns dados discrepantes do restante nas duas repetições. Também se observa a proximidade das caixas, apesar da diferença entre as mesmas serem significativas estatisticamente.

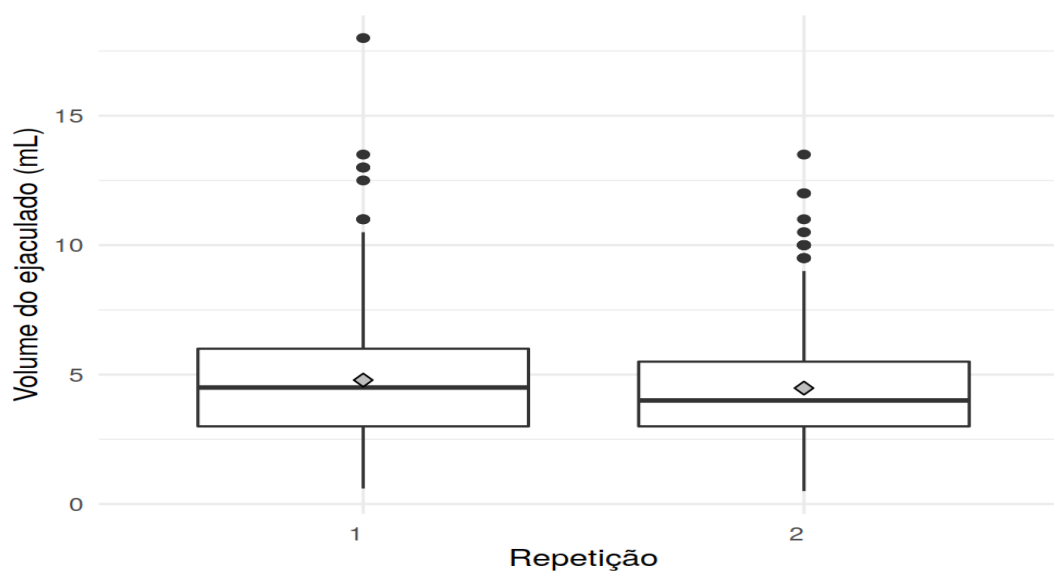


Figura 18 – Efeito da repetição no volume do ejaculado.

#### ***4.2 Número de espermatozóides***

O SPZ teve grande variação ( $P < 0,05$ ) entre as raças (tabela 1), com o valor mínimo observado na raça Alentejana ( $651 \pm 79$ ) e o valor máximo observado na raça Cachena ( $1564 \pm 164$ ). Também foi significativo ( $P < 0,05$ ) no número de repetições (tabela 2), com a primeira repetição possuindo o maior número de espermatozóides observados ( $967 \pm 35$ ). Já as classes de idade (tabela 3) não apresentaram diferença significativa ( $P > 0,05$ ).

Segundo Lemma e Shemsu (2015), o número de espermatozóides total pode variar de acordo com as técnicas utilizadas para a realização da contagem.

Na Figura 19 podemos notar a grande variabilidade entre as raças e também em cada raça, como mostrado na raça Preta e Arouquesa, com caixas mais assimétricas. Além disso, nota-se a grande quantidade de outliers, principalmente na raça Minhota. Essa quantidade de dados discrepantes pode ser explicada pela grande diferença de idade dos animais, havendo assim grande diferença nos dados.

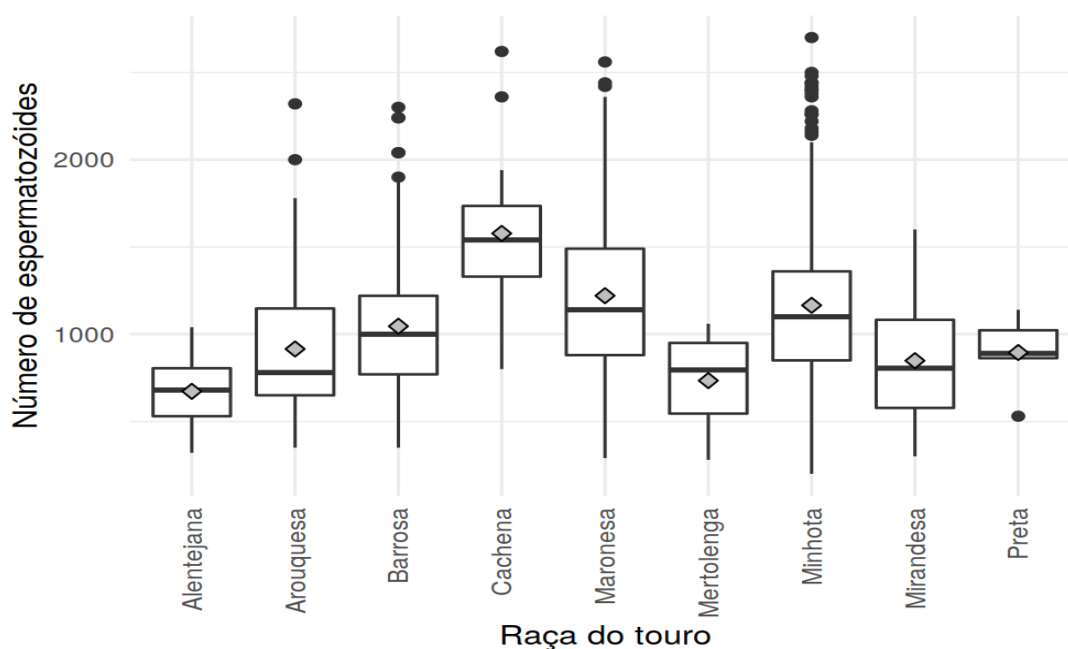


Figura 19 – Efeito da raça do touro no número de espermatozoides

Já na Figura 20 é possível observar a simetria dos dados pela proporção das caixas nas duas classes de idade, apesar de a classe 1 apresentar grande quantidade de outliers, que também estão presentes na classe 2 mas em menor quantidade. Estes outliers, principalmente na classe 1, podem ser explicados principalmente pelo grande número de animais de idades diferentes dentro do grupo, ocasionando dados muito diferentes entre si.

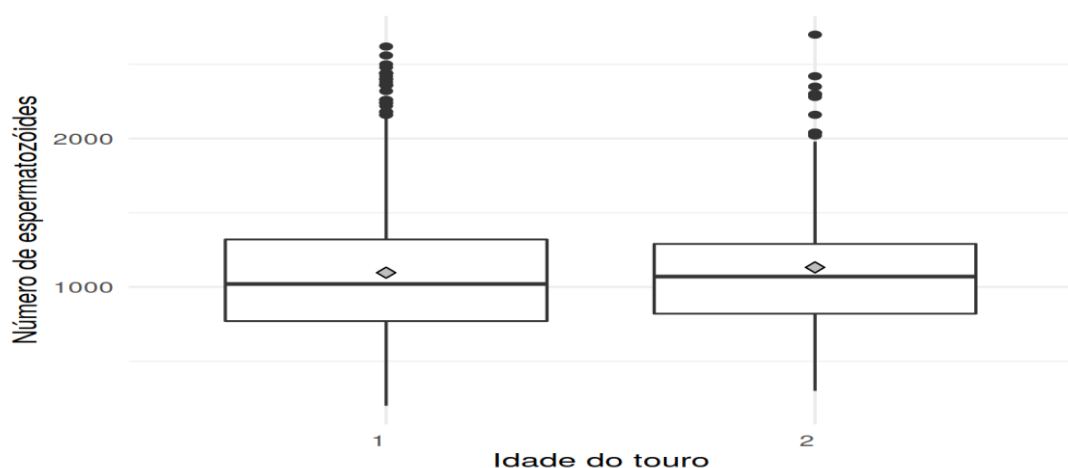


Figura 20 – Efeito da raça do touro no número de espermatozoides

---

Assim como na Figura anterior, na Figura 21 observamos uma simetria de dados pelo tamanho das caixas, mas com grande quantidade de outliers em ambas as repetições, que também pode ser explicada pela diferença entre os animais.

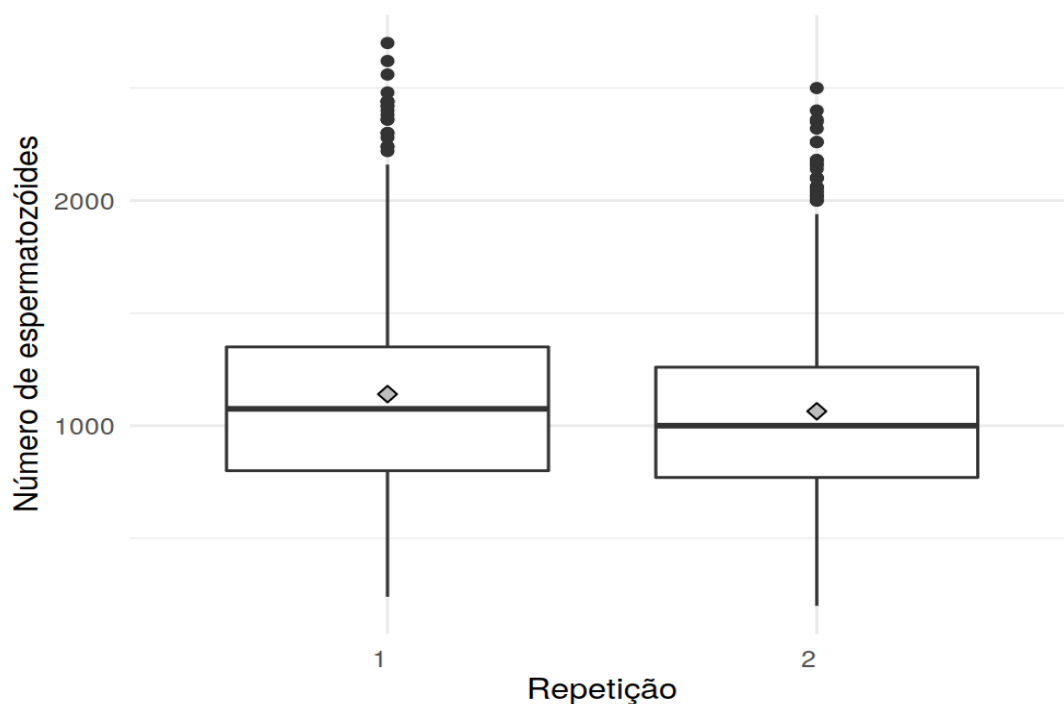


Figura 21 – Efeito da repetição no número de espermatozoides

### 4.3 Número de espermatozoides vivos

Foi encontrado diferença significativa ( $P < 0,05$ ) na percentagem de SPZV entre as raças (tabela 1), com os animais da raça Cachena apresentando a maior quantia de espermatozoides vivos ( $1203 \pm 126$ ) e a Raça Alentejana apresentado os menores valores ( $491 \pm 59$ ). As diferenças por repetição de colheita (tabela 2) e por classe de idade (tabela 3) não obtiveram valores significativos.

Assim como os valores de mortos, os de vivos também estão em concordância com o esperado para touros com características reprodutivas normais, segundo Nitharwal *et al.* (2017) e estão de acordo com o encontrado por Lemma e Shemsu, (2015). Ainda segundo o estudo do autor, o número de vivos e a motilidade tendem a decair com a criopreservação

---

do sémen. Já Burren *et al.* (2019); Fuerst-Waltl *et al.* (2006), dizem que a percentagem de vivos, assim como a motilidade, tendem a diminuir conforme a idade aumenta.

Na Figura 22 observamos a grande variabilidade dos dados tanto pela posição das caixas quanto pelo tamanho das mesmas. Como já dito anteriormente, a grande quantidade de outliers na raça minhota pode ser causada pela grande variação de idade entre os animais, fazendo assim com que os dados sejam diferentes dentro da raça.

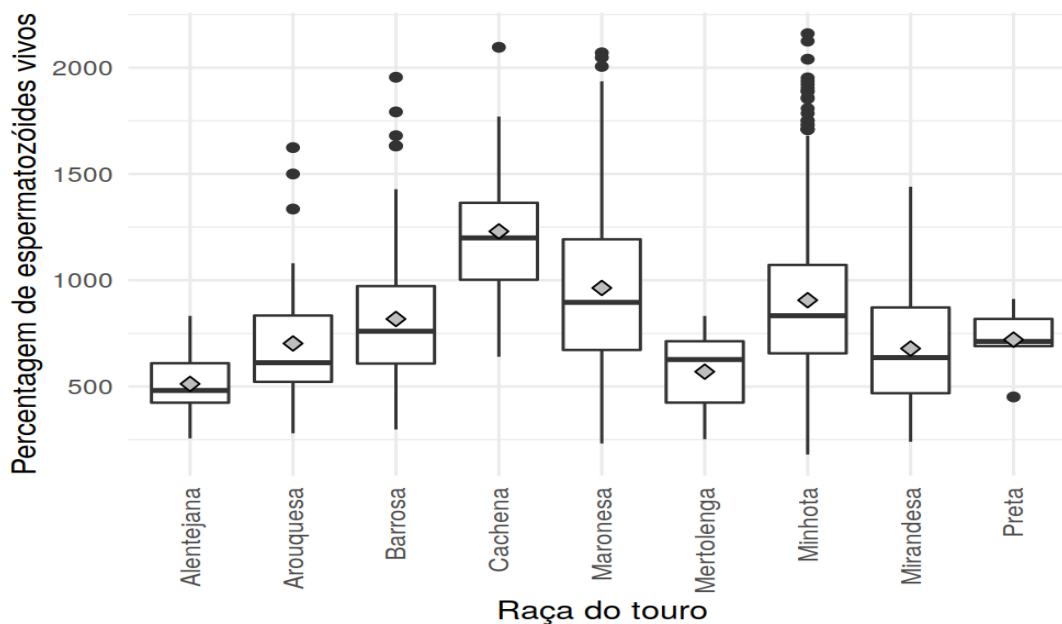


Figura 22 – Efeito da raça do touro na percentagem de espermatozoides vivos

Na Figura 23 podemos observar similaridade no tamanho das caixas, apesar de classe 1 constarem muitos outliers, mostrando uma discrepância grande nos dados analisados, ocasionada principalmente pela quantidade de idades diferentes presentes na classe 1.

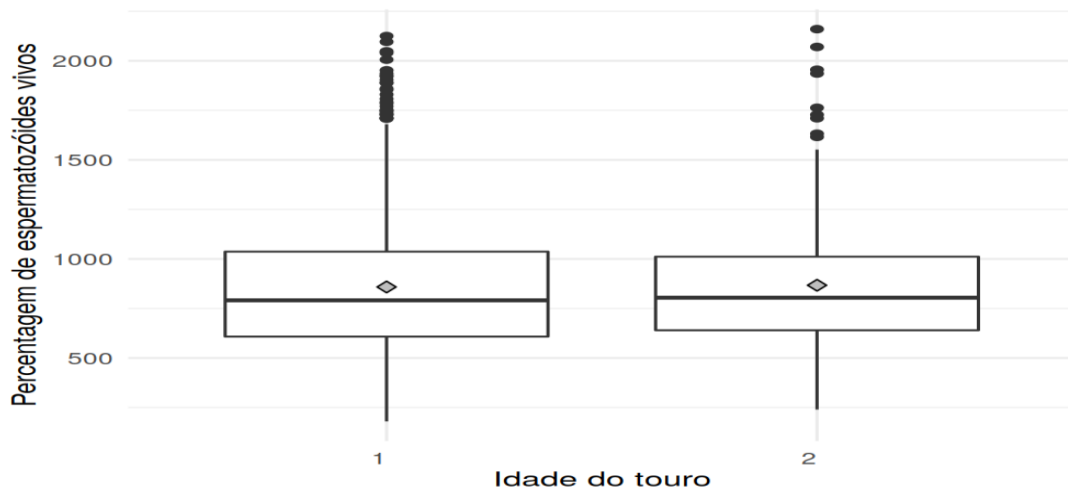


Figura 23 – Efeito da idade do touro na percentagem de espermatozóides vivos.

Assim como nas Figuras anteriores, é possível observar na Figura 24 uma simetria no tamanho das caixas mas com uma grande quantidade de outliers, mostrando uma variabilidade grande nos dados, com muitos valores discrepantes da média, como já explicado nas Figuras anteriores.

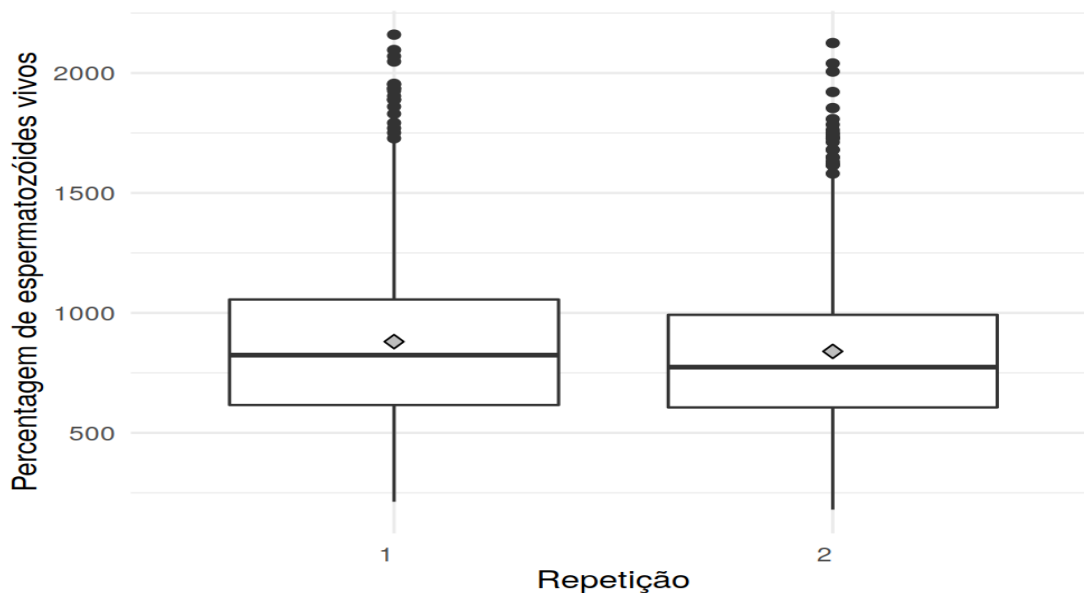


Figura 24 – Efeito da repetição na percentagem de espermatozóides vivos.

#### 4.4 Número de espermatozóides mortos

O número de SPZM não teve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre as raças (tabela 1), entretanto a diferença foi significativa ( $P < 0,05$ ), para o número de repetição de colheita (tabela 2), com a primeira repetição apresentando valores mais elevados de mortalidade ( $22 \pm 0,49$ ) e também significativo ( $P < 0,05$ ) a mortalidade por classe de idade (tabela 3), onde os animais com menor idade apresentaram valores menores. Segundo Nitharwal *et al.* (2017), os valores encontrados estão de acordo com as recomendações para touros com boas características reprodutivas. Os valores também estão de acordo aos encontrados por Lemma e Shemsu, (2015) em seu estudo com animais de raças Holstein Friesian e Jersey. Ainda segundo o autor, o número de espermatozóides mortos é afetado pela idade pois animais mais velhos tendem a ser mais produtivos e a apresentarem espermatozóides com menos defeitos. Essa constatação também foi feita por Silva, da *et al.* (2009) em touros de raças europeias.

Na Figura 25 é demonstrado a alta similaridade dos dados, não sendo observada diferença significativa em seus valores.

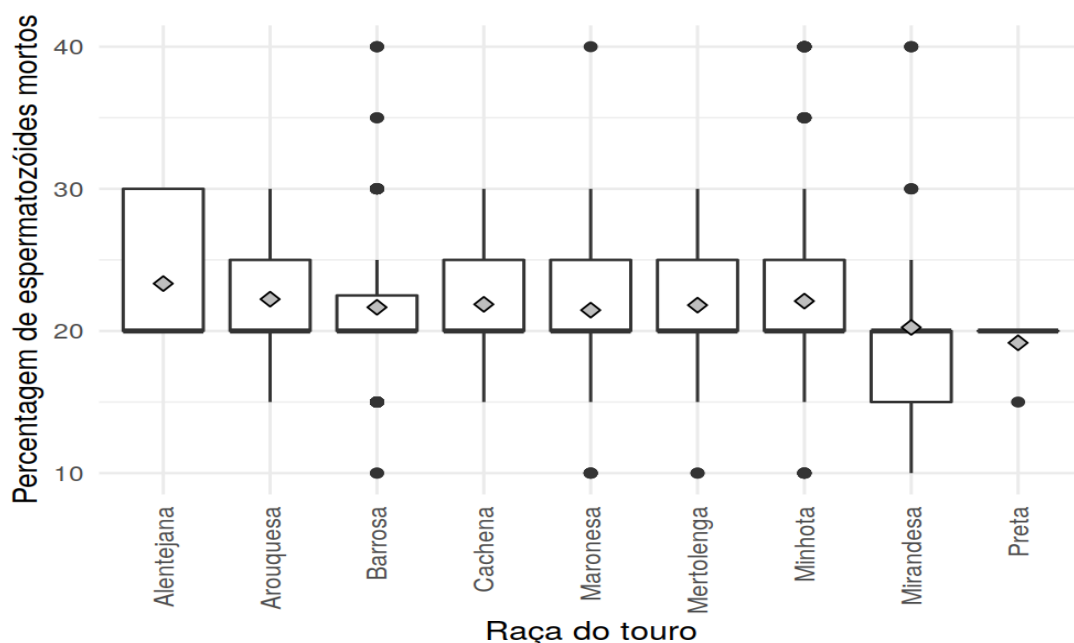


Figura 25 – Efeito da raça do touro na porcentagem de espermatozóides mortos

---

Diferente da Figura anterior, na Figura 26 é possível observar a diferença no tamanho das caixas, mostrando a diferença significativa nos dados.

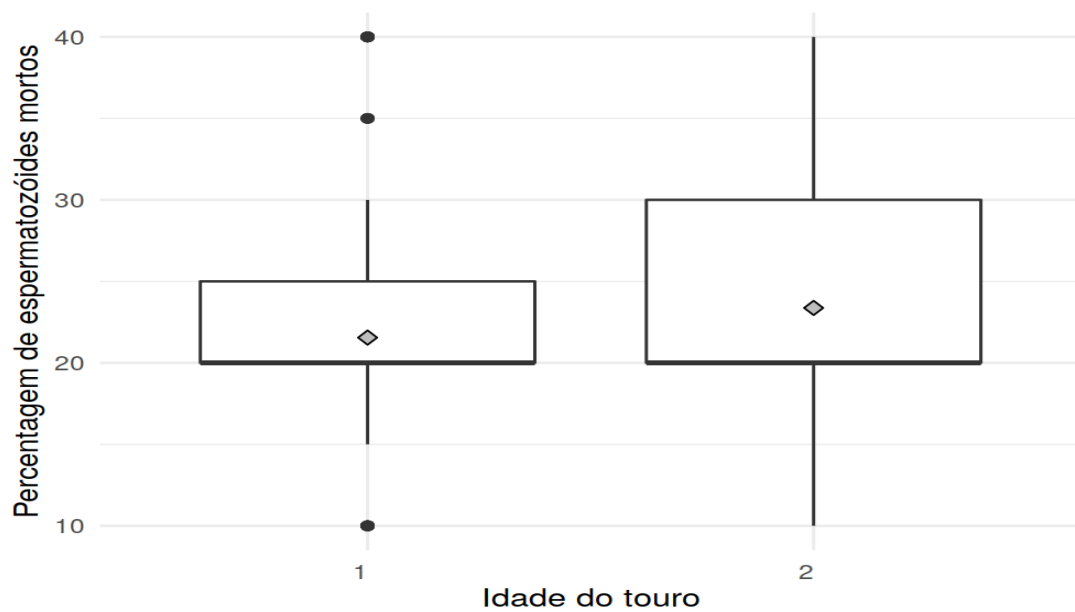


Figura 26 – Efeito da idade do touro na percentagem de espermatozoides mortos.

Apesar de a Figura 27 se apresentar com similaridade entre ambas as repetições, os valores são diferentes estatisticamente;

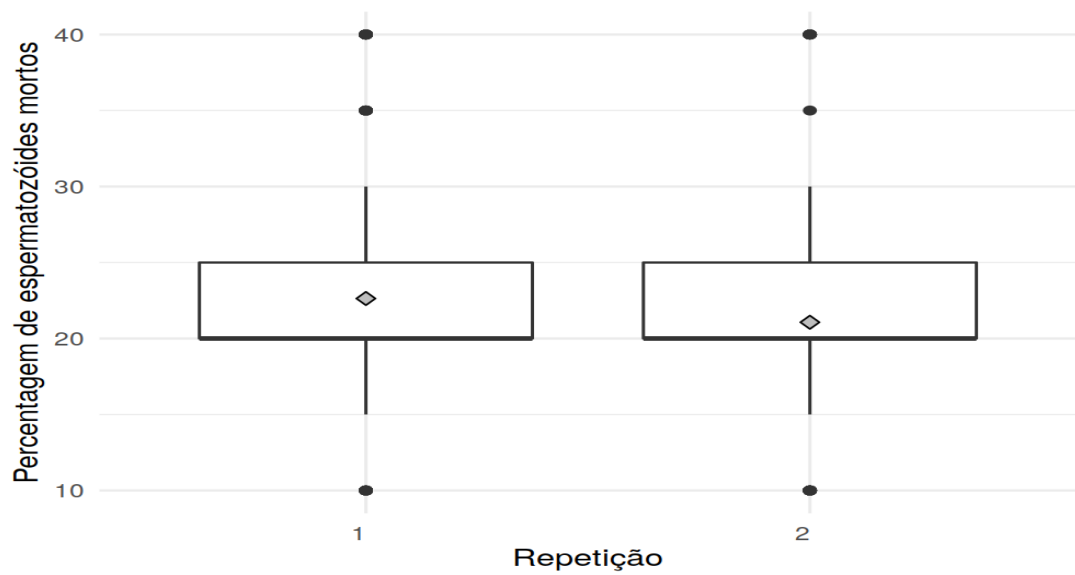


Figura 27 – Efeito da repetição na percentagem de espermatozoides mortos

---

#### 4.5 *Número de espermatozóides total (concentração do ejaculado)*

O SPZT (dado pelo Volume X o número de espermatozóides vivos) apresentou diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) pelas raças (tabela 1) Preta ( $3253 \pm 802$ ), Mertolenga ( $3288 \pm 300$ ), Minhota ( $3963 \pm 141$ ) e Alentejana ( $4047 \pm 710$ ). Também se obteve variação significativa ( $P < 0,05$ ) entre as repetições de colheita (tabela 2), com a primeira repetição apresentando maior valor ( $3237 \pm 168$ ). As classes de idade (tabela 3) também apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ), com os animais mais velhos exibindo maiores valores ( $3374 \pm 223$ ) (tabela 3).

Silva, da *et al.* (2009) não verificou diferença significativa com relação a idade em touros europeus, mas em touros zebuínos essa característica aumentou de acordo com a classe de idade. Ainda segundo o autor, a diferença entre o número de espermatozóides totais está relacionada com a maior ou menor quantidade do volume ejaculado, onde raças com menores volumes ejaculados tendem a ter maior número de espermatozóides concentrados. Isso também explica a diferença por idade, onde animais mais velhos apresentam maior número total de espermatozóides e também da repetição, como o volume da segunda repetição é menor, tende a ter um número mais concentrado de espermatozóides.

Como demonstrado por Snoj, Kobal e Majdic (2013), que também obteve diferença significativa entre as raças, outra influência da quantidade de espermatozóides totais são os efeitos do ambiente. O autor demonstra em seu trabalho que a menor concentração foi encontrada nos animais que fizeram a colheita no inverno, e obtiveram maiores valores no outono e primavera, isso se dá principalmente por questões de disponibilidade de alimento e também por possível estresse térmico no inverno.

Na Figura 28 podemos notar a variabilidade entre os dados, apesar de estarem mais próximos entre si do que nas outras características quando analisadas pela raça do touro, mostrando assim que os valores do número total de espermatozóides estão mais próximos, mas ainda assim diferentes significativamente. Também é possível observar a variabilidade dos dados de cada raça pelo tamanho das caixas, e a presença de outliers na raça Minhota, explicada pelas idades dos animais serem muito diferentes.

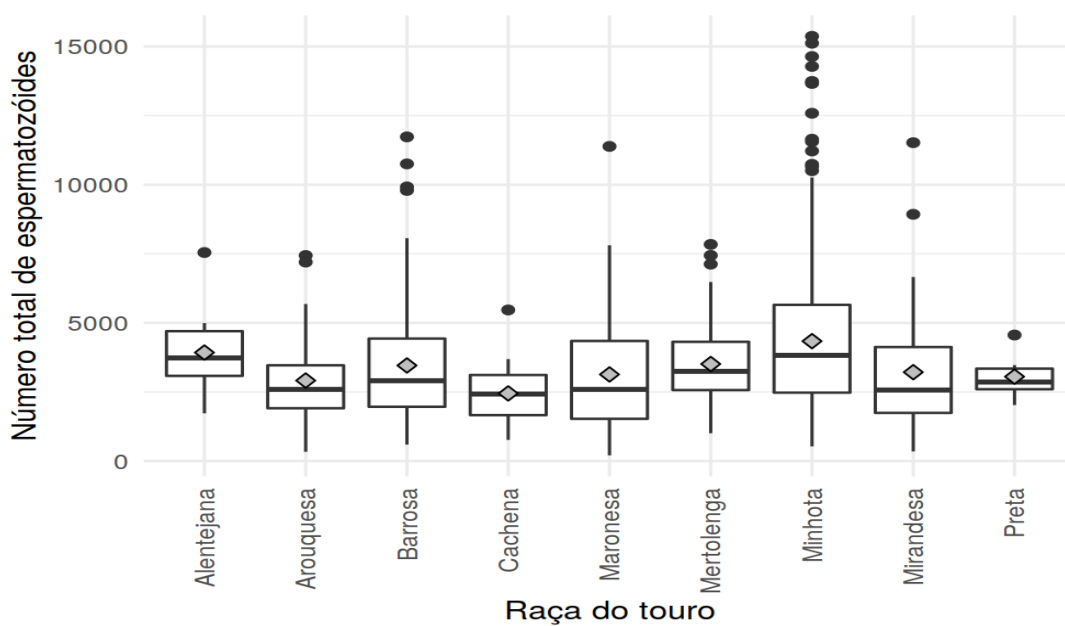


Figura 28 – Efeito da raça do touro no número total de espermatozóides

Na Figura 29 é possível observar a grande quantidade de outliers, principalmente na classe de idade 1, devido a grande diferença de idade dos animais avaliados. Também se nota a simetria no tamanho das caixas de ambas as classes.

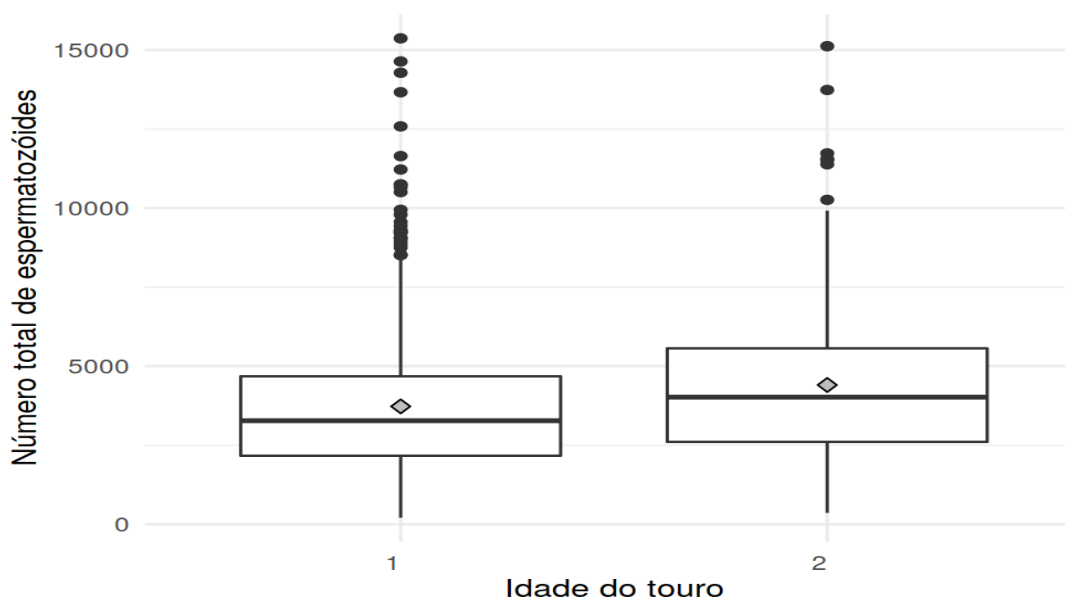


Figura 29 – Efeito da idade do touro no número de espermatozoides.

Na Figura 30 também é possível observar a proximidade dos dados mesmo com a diferença significativa entre eles e também alguns outliers, ocasionados pela grande diferença dos dados.

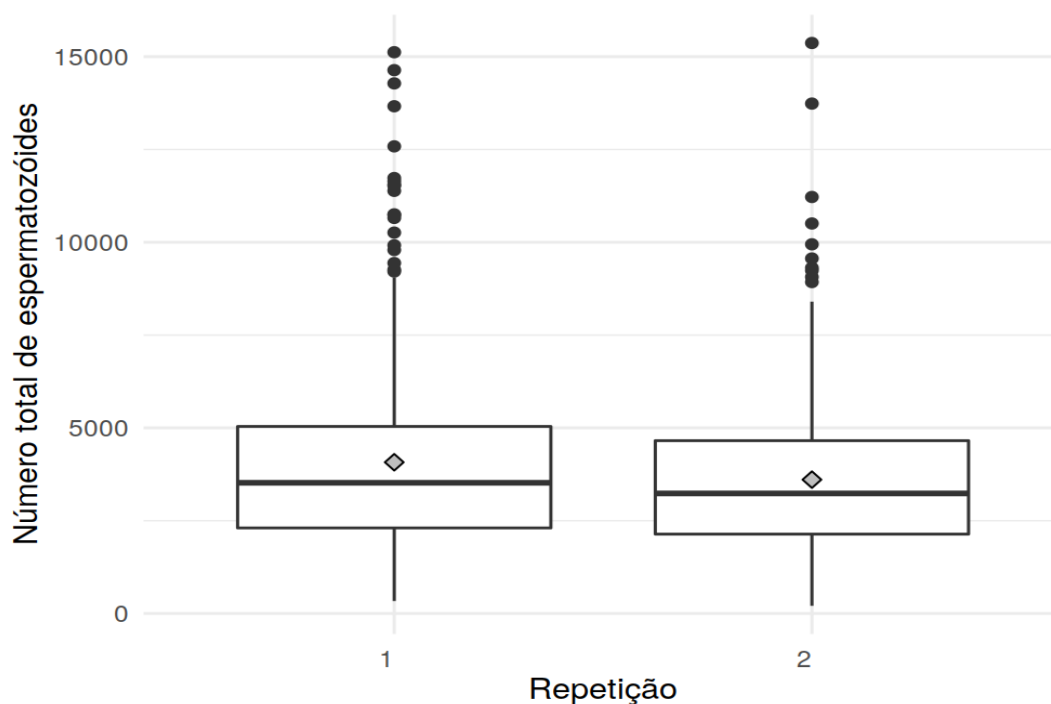


Figura 30 – Efeito da repetição no número de espermatozoides

#### 4.6 Termo resistência

A TR dos ejaculados avaliados se mostrou significativamente diferente ( $P < 0,05$ ) entre as raças Barrosa ( $20 \pm 0,72$ ) que apresentou o menor valor e Minhota ( $23 \pm 0,58$ ) com o maior valor, sendo que as outras raças são semelhantes a elas estatisticamente (tabela 1). Já na repetição das colheitas (tabela 2), não houve diferença significativa, entretanto foi encontrado variação ( $P < 0,05$ ) na termorresistência por classe de idade (tabela 3), com os animais mais velhos apresentando maior resistência ( $23 \pm 1$ ).

Segundo Argiris *et al.* (2018), a qualidade do sémen congelado é influenciada pela qualidade do sémen fresco e pelo processo de diluição. O mesmo autor encontrou diferença na qualidade do sémen congelado, sendo que os animais com mais idade obtiveram melhores resultados. Além disso, para Naha *et al.* (2015) o período que o sémen foi congelado e usado

tem uma grande influência na reprodução. Em seu estudo o autor demonstrou que o sêmen de animais mais velhos são mais resistentes ao congelamento e que isso pode estar ligado também a nutrição e outras técnicas de manejo.

Na Figura 31 observa-se a similaridade de algumas raças, com diferença principalmente na raça Minhota, com um tamanho de caixa maior e as raças Alentejana e Preta com todos os valores enquadrados no mesmo nível.

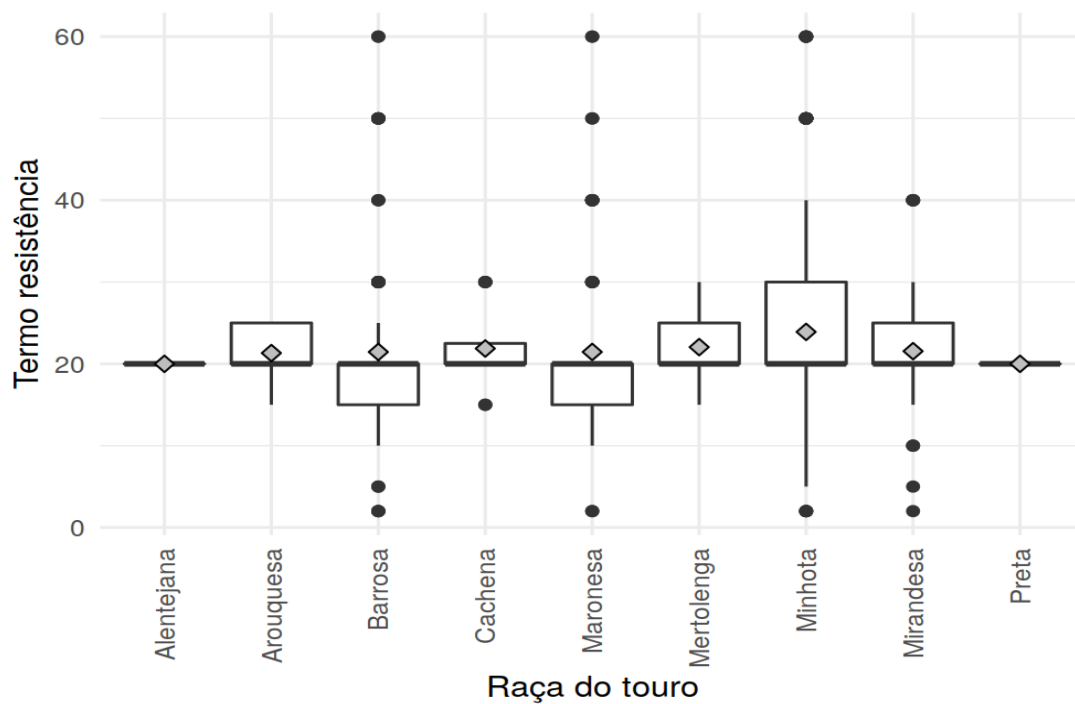


Figura 31 – Efeito da raça do touro na termo resistência.

---

Já nos grupos de idade apresentados na Figura 32 observa-se uma diferença maior no tamanho das caixas, representando a diferença encontrada nos valores.

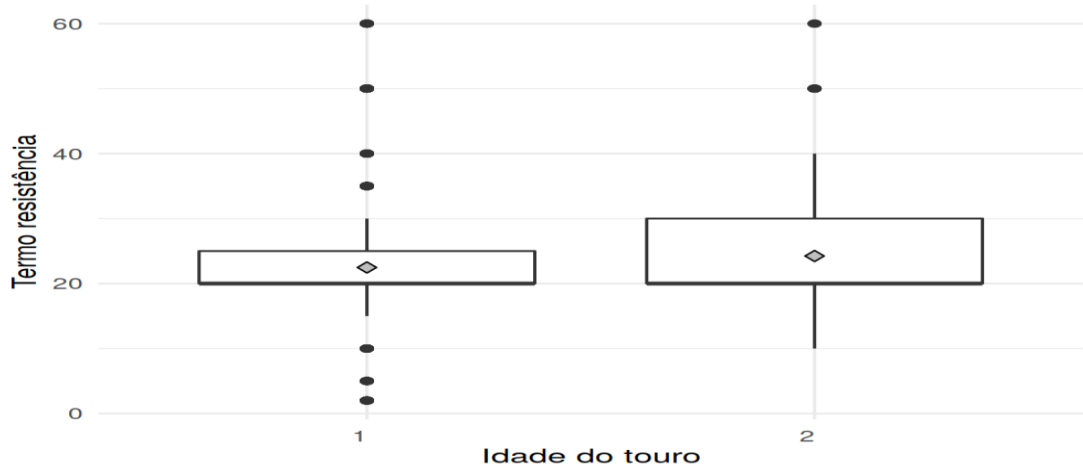


Figura 32 – Efeito da idade do touro na termo resistência

Já na Figura 33 observa-se a similaridade dos dados, demonstrando não haver diferença significativa nos valores encontrados.

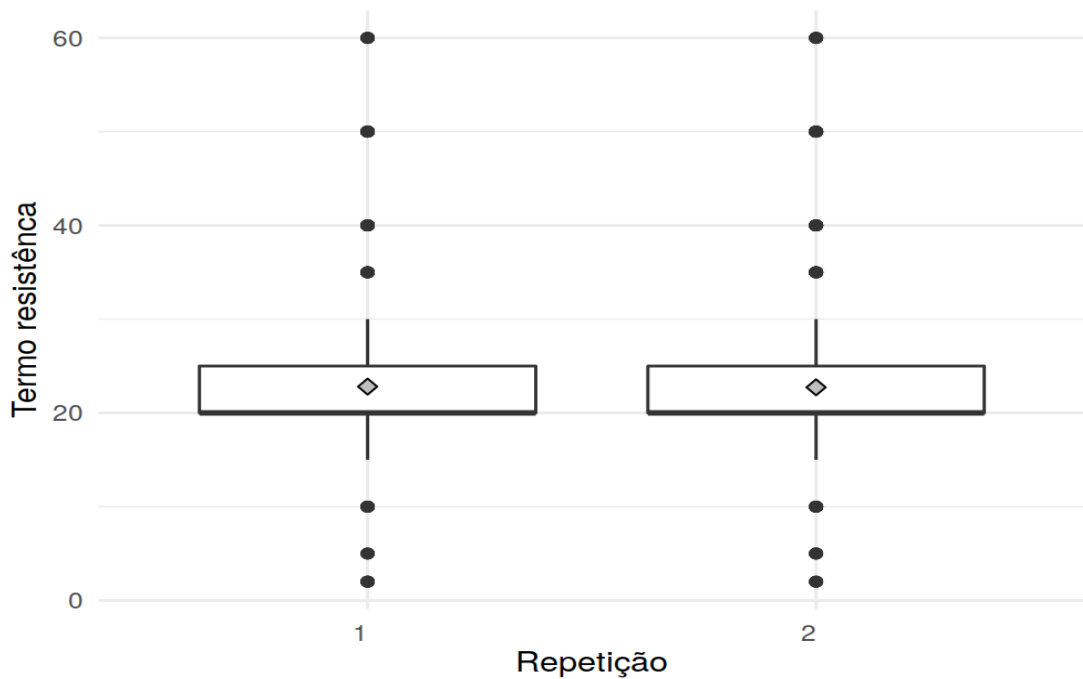


Figura 33 – Efeito da repetição na termo resistência.

---

## 4.7 Conclusões

Após a análise e comparação de todas as características, é possível dizer que a idade e a raça dos animais, bem como a quantidade de repetições de colheita parem ter influência nas características do sêmen bovino, e também demonstrar a diferença existente nas diferentes raças presentes no trabalho.

Pode-se notar que o sêmen de primeira colheita apresenta maior quantidade de espermatozoides viáveis, apesar de o número de espermatozoides mortos ser significativamente maior. Além disso, também foi possível notar a superioridade do sêmen de animais mais velhos em comparação aos mais novos. Através dos dados apresentados é possível se verificar parâmetros para a escolha do sêmen, entretanto mais análises são recomendadas para realmente se provar sua eficiência.

A grande variação dos dados encontrados dentro das raças pode ser proveniente de fatores ambientais, mas para que fosse possível se verificar uma variação mais acentuada, mais dados seriam necessários. Algumas raças, como a Preta, possuem poucos dados, fazendo com que as análises sejam prejudicadas. O grande número de animais de idades diferentes na classe de idade 1 também tem interferência nas análises, mostrando muitos dados discrepantes (outliers) nos gráficos de boxplot.

## Referências

---

- Afonso, A. M. (2007). ESTRATÉGIA PARA A CONSERVAÇÃO E MELHORAMENTO DAS RAÇAS AUTÓCTONES (2007-2013). In J. de A. C. de A. y Pesca (Ed.), *IV JORNADAS IBÉRICAS DE RAZAS AUTÓCTONAS Y SUS PRODUCTOS TRADICIONALES: INNOVACIÓN, SEGURIDAD Y CULTURA ALIMENTARIAS* (p. 406). Sevilla: Viceconsejería. Servicio de Publicaciones y Divulgación.
- Aguiar, G. V., Araújo, A. A., & Moura, A. D. A. A. (2006). Desenvolvimento testicular, espermatogênese e concentrações hormonais em touros Angus. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(4 SUPPL.), 1629–1638. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982006000600008>
- Albandes, F. T., Tavares, C. P., Duarte, F. G., Zambarda, V. R., Dias Barbosa, S. I., Madruga, M. S., & Farias, S. R. (2017). Características comportamentais dos bovinos: Aspectos básicos, processo de aprendizagem e fatores que as afetam. *Revista Electronica de Veterinaria*, 18(9), 1–16.
- Albuquerque, S. (2015). *Fisiologia Humana e Animal*. João Pessoa: Editora da UFPB.
- Almeida, A. dos S. (2014). *Estudo da diversidade genética por 93 marcadores moleculares das raças de bovinos autóctones : Mirandesa , Barrosã e Maronesa*. Instituto Politécnico de Bragança.
- Araújo, A., Cerqueira, J. O. ., Dantas, R., Pires, P., & Araújo, J. . (2011). CANALES DE LA RAZA CACHENA CON ANIMALES DE EDAD INFERIOR A 12 MESES. *XIV Jornadas Sobre Producción Animal, Tomo II, 10*, 673–675.
- Araujo, G. (2010). Cientistas querem recriar raça extinta de boi gigante.
- Argiris, A., Ondho, Y. S., Santoso, S. I., & Kurnianto, E. (2018). Effect of Age and Bulls on Fresh Semen Quality and Frozen Semen Production of Holstein Bulls in Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 119(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/119/1/012033>
- Azevedo, J., & Vitali, A. (2016). Raças autóctones, multifuncionalidade e especialização produtiva. In A. A. Marta-Costa, M. L. Tibério, & R. Payan-Carreira (Eds.), *Raças Autóctones no Espaço Ibérico. Um Recurso Sustentável* (p. 138). Retrieved from [http://www.utad.pt/vPT/Area2/eventos/cong\\_iberico\\_racas\\_autoctones/Paginas/Racas\\_Autoctones.aspx](http://www.utad.pt/vPT/Area2/eventos/cong_iberico_racas_autoctones/Paginas/Racas_Autoctones.aspx)
- Barata, A. G. (2013). *Estudo das características da carcaça de bovinos em modo de produção*

---

*biológico no alentejo*. Instituto politécnico de Viana do Castelo.

Beja-Pereira, A., Caramelli, D., Lalueza-Fox, C., Vernesi, C., Ferrand, N., Casoli, A., ... Bertorelle, G. (2006). The origin of European cattle: Evidence from modern and ancient DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(21), 8113–8118. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509210103>

Bollwein, H., Janett, F., & Kaske, M. (2017). Effects of nutrition on sexual development of bulls. *Animal Reproduction*, 14(3), 607–613. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR1004>

Braga, J. S., Faucitano, L., Macitelli, F., Sant'Anna, A. C., Méthot, S., & Paranhos da Costa, M. J. R. (2018). Temperament effects on performance and adaptability of Nellore young bulls to the feedlot environment. *Livestock Science*, 216, 88–93. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.07.009>

Brito, N. V., Dantas, R., Leite, J. V., Arranz, J. J., Bayón, Y., & Primitivo, F. S. (2005). Portuguese Cachena cattle: a socio-economic, morphological and productive characterization of an endangered breed. *Animal Genetic Resources Information*, 37, 1–8. <https://doi.org/10.1017/s1014233900001917>

Burren, A., Joerg, H., Erbe, M., Gilmour, A. R., Witschi, U., & Schmitz-Hsu, F. (2019). Genetic parameters for semen production traits in Swiss dairy bulls. *Reproduction in Domestic Animals*, 54(9), 1177–1181. <https://doi.org/10.1111/rda.13492>

Cañón, J., García, D., Delgado, J. V., Dunner, S., Telo Da Gama, L., Landi, V., ... Ginja, C. (2011). Relative breed contributions to neutral genetic diversity of a comprehensive representation of Iberian native cattle. *Animal*, 5(9), 1323–1334. <https://doi.org/10.1017/S1751731111000267>

Carolino, N., & Castro, A. G. G. (2009). ACTIVIDADES DAS SOCIEDADES IBÉRICAS DE RECURSOS GENÉTICOS ANIMAIS. *Archivos de Zootecnia*, 58.

Carvalho, I. M. de B. S. M. de. (2000a). *Caracterização genética de raças bovinas autóctones portuguesas*. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.

Carvalho, I. M. de B. S. M. de. (2000b). *Caracterização genética de raças bovinas autóctones portuguesas - Estudo de polimorfismos proteicos e microssatélites*.

Carvalho Filho, I., Marques, D. B. D., de Campos, C. F., Guimarães, J. D., Guimarães, S. E. F., Lopes, P. S., ... Veroneze, R. (2019). Genetic parameters for fertility traits in Nellore bulls. *Reproduction in Domestic Animals*, 0–3. <https://doi.org/10.1111/rda.13578>

---

Chacur, M. G. M., Mizusaki, K. T., Filho, L. R. A. G., Oba, E., & Ramos, A. A. (2013). Seasonal effects on semen and testosterone in zebu and taurine bulls. *Acta Scientiae Veterinariae*, 41(1).

Costa, D. S., & Paula, T. A. R. de. (2003). Espermatogênese em mamíferos. *Scientia*, 4(July), 53–72.

Cunningham, J., & Klein, B. (2009). Fisiologia Veterinaria. *Elsevier Saunders*, p. 718.

da Silva, A. R., Ferraudo, A. S., Perecin, D., & de Lima, V. F. M. H. (2009). Efeito da idade do touro e do período de colheita de sêmen sobre as características físicas e morfológicas do sêmen de bovinos de raças européias e zebuínas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(7), 1218–1222. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000700009>

De Oliveira, C. B., Guimarães, J. D., Da Costa, E. P., Siqueira, J. B., Torres, C. A. A., De Carvalho, G. R., & Guimarães, S. E. F. (2007). Avaliação do comportamento sexual em touros Nelore: Comparação entre os testes da libido em curral e do comportamento sexual a campo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36(1), 32–42. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007000100005>

Fernandes, T. A., Costa, P. T., Farias, G. D., Vaz, R. Z., Silveira, I. D. B., Moreira, S. M., Silveira, R. F. (2017). Características comportamentais dos bovinos: Influências da domesticação e da interação homem-animal - Cattle behavioral characteristics : Influences of domestication and human- animal interaction. *Revista Electronica de Veterinaria*, 18, 1–29.

Ferraz, D., & Oliveira, B. De. (2007). ESPERMATOGÊNESE DE BOVINOS ( *Bos indicus* ) NUCLEOLAR ACTIVITY DURING SPERMATOGENESIS OF THE CATTLE ( *Bos indicus* ) ( *Bos indicus* ) NUCLEOLAR ACTIVITY DURING SPERMATOGENESIS OF THE CATTLE ( *Bos indicus* ). *Medicina*.

Ferreira, S. ., Neto, M. D. ., Pereira, M. L. ., Melo, A. H. ., Oliveira, L. ., & Neto, J. T. . (2013). Fatores que afetam o consumo alimentar de bovinos. *Arquivos de Pesquisa Animal*, 2(1), 9–19.

Fiaz, M., Usmani, R. H., Abdullah, M., & Ahmad, T. (2010). Evaluation of semen quality of Holstein Friesian and Jersey bulls maintained under subtropical environment. *Pakistan Veterinary Journal*, 30(2), 75–78.

Freneau, G. E., Vale Filho, V. R., Marques, A. P., & Maria, W. S. (2006). Puberdade em

---

touros Nelore criados em pasto no Brasil: Características corporais, testiculares e seminais e de índice de capacidade andrológica por pontos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 58(6), 1107–1115. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352006000600020>

Fuerst-Waltl, B., Schwarzenbacher, H., Perner, C., & Sölkner, J. (2006). Effects of age and environmental factors on semen production and semen quality of Austrian Simmental bulls. *Animal Reproduction Science*, 95(1–2), 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.09.002>

Gerreiro Marques Dias, A. S. (2008). *Caracterização de duas explorações de raça bovina alentejana produtoras de carne alentejana DOP*. Universidade Técnica de Lisboa.

Ginja, C. J. (2009). Influência das raças bovinas Ibéricas na estrutura genética das populações de bovinos Crioulos da América Latina.

Gonçalves, N., & Rodrigues, A. (2002). Caracterização técnica do sistema de produção de bovinos de raça Preta. *Agroforum : Revista Da Escola Superior Agrária de Castelo Branco*, 18, 13–18.

Jorge, W. (2013). A origem e evolução de taurinos e zebuinos. *Veterinária e Zootecnia*, 20(2), 20.

Kenny, D. A., & Byrne, C. J. (2018). Review: The effect of nutrition on timing of pubertal onset and subsequent fertility in the bull. *Animal*, 12(s1), s36–s44. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000514>

Kumar Yata, V., Kumar Gangwar, D., Sharma, V., Kumar Dubey, S., Kumar Yadav, S., Choudhary, S., ... Kumar Mohanty, A. (2020). Semen analysis and sperm characteristics of Karan Fries cattle. *Animal Reproduction Science*, 212(November), 106250. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106250>

Lemma, A., & Shemsu, T. (2015). Effect of Age and Breed on Semen Quality and Breeding Soundness Evaluation of Pre-Service Young Bulls. *Journal of Reproduction and Infertility*, 6(2), 35–40. <https://doi.org/10.5829/idosi.jri.2015.6.2.94131>

Luz Ferreira, J. F. (2014). *Factores com influência nos parâmetros produtivos e reprodutivos numa vacada de raça Alentejana*. Universidade de Lisboa.

Martínez-Velázquez, G., Ríos-Utrera, A., Román-Ponce, S. I., Baeza-Rodríguez, J. J., Arechavaleta-Velasco, M. E., Montañó-Bermúdez, M., & Vega-Murillo, V. E. (2020).

---

Genetic correlations between scrotal circumference, heifer fertility and stayability in Charolais–Charbray cattle. *Livestock Science*, 232. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.103914>

Mello, R. (2014). Puberdade e Maturidade Sexual em Touros Compostos Montana Tropical. *Acsa*, 10(3), 74.

Menezes, E. S. B., Badial, P. R., El Debaky, H., Husna, A. U., Ugur, M. R., Kaya, A., ... Memili, E. (2019). Sperm miR-15a and miR-29b are associated with bull fertility. *Andrologia*, (June), 1–11. <https://doi.org/10.1111/and.13412>

Morrell, J. M. (2020). Heat stress and bull fertility. *Theriogenology*, 153, 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.05.014>

Murphy, E. M., Kelly, A. K., O’Meara, C., Eivers, B., Lonergan, P., & Fair, S. (2018). Influence of bull age, ejaculate number, and season of collection on semen production and sperm motility parameters in holstein friesian bulls in a commercial artificial insemination centre. *Journal of Animal Science*, 96(6), 2408–2418. <https://doi.org/10.1093/jas/sky130>

Naha, B. C., Chakravarty, A. K., Mir, M. A., Jamuna, V., Singh, A. P., & Maher, D. (2015). Identifying factors affecting age at first semen freezing and age at first semen use in Sahiwal bulls. *Veterinary World*, 8(7), 928–931. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.928-931>

Nepomuceno, D. de D. (2013). *Efeito do manejo nutricional sobre a maturação do eixo reprodutivo somatotrófico no início da puberdade de novilhas Nelore*. Universidade de São Paulo.

Neto, T. M., de Castilho, E. F., Pinho, R. O., Guimarães, S. E. F., da Costa, E. P., & Guimarães, J. D. (2011). Puberdade e maturidade sexual em touros jovens da raça Simental, criados sob regime extensivo em clima tropical. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40(9), 1917–1925. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000900011>

Nieto-Espinet, A., Valenzuela-Lamas, S., Bosch, D., & Gardeisen, A. (2020). Livestock production, politics and trade: A glimpse from Iron Age and Roman Languedoc. *Journal of Archaeological Science: Reports*, 30(June 2019), 102077. <https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2019.102077>

Nitharwal, K., Singh, P., Bhakat, M., Chaurasia, A., Abdullah, M., & Prabha, C. (2017). Effect of season on semen quality parameters in Murrah buffalo. *Indian Journal of Animal Sciences*, 87(1), 64–69.

---

Nogueira, E. (2009). Influências nutricionais na reprodução de touros. In *Fertilidade, funcionalidade e genética de touros zebuinos* (p. 211).

Nogueira, G. D. P. (2001). PUBERDADE E MATURIDADE SEXUAL DE NOVILHAS BOS INDICUS. *BIOTECNOLOGIA DA REPRODUÇÃO EM BOVINOS*, 680, 101–112.

Olivera Ángel, M., Ruíz, T., Tarazona Morales, A., & Giraldo Echeverri, C. (2006). El espermatozoide, desde la eyaculación hasta la fertilización. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 19(4), 426–436.

Olsen, H. B., Heringstad, B., & Klemetsdal, G. (2020). Genetic analysis of semen characteristic traits in young Norwegian Red bulls. *Journal of Dairy Science*, 103(1), 545–555. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17291>

Pacheco, H. A., Rezende, F. M., & Peñagaricano, F. (2020). Gene mapping and genomic prediction of bull fertility using sex chromosome markers. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17767>

Pereira, G. R., de Lazari, F. L., Dalberto, P. F., Bizarro, C. V., Sontag, E. R., Koetz Junior, C., ... Bustamante-Filho, I. C. (2020). Effect of scrotal insulation on sperm quality and seminal plasma proteome of Brangus bulls. *Theriogenology*, 144, 194–203. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.014>

Pimenta, S., Malheiro, A., Dores, J., Dantas, M., & Mateus, T. L. (2013). Diversidade de parasitas gastrointestinais em bovinos da raça Minhota: estudo preliminar. *Agrotec: Revista Técnico-Científica Agrícola*, (8), 16–20. Retrieved from <https://digitalis.uc.pt/handle/10316.2/33566>

Quadros, S. A. F. de. (2003). *Bioestimulação em Bovinos de Corte*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Queiroz, V. L. D., Filho, L. C. C. da C., Rosa, L. D. S., Zúccari, C. E. S. N., & Costa e Silva, E. V. da. (2015). Sazonalidade Na Congelabilidade De Sêmen Bovino. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia Da UNIPAR*, 18(1), 39–47. <https://doi.org/10.25110/arqvet.v18i1.2015.5368>

Rehman, H., Alhidary, I. A., Khan, R. U., Qureshi, M. S., Sadique, U., Khan, H., & Yaqoob, S. H. (2016). Relationship of age, breed and libido with semen traits of cattle bulls. *Pakistan Journal of Zoology*, 48(6), 1793–1798.

Rocha, J. D. B. (2015). *A Raça Bovina Arouquesa*. Universidade de Coimbra.

---

Santos, V. S. (2020). O que é espermatozoide. Retrieved from Brasil Escola website: <https://brasilecola.uol.com.br/o-que-e/biologia/o-que-e-espermatozoide.htm>

Simões, J. M. C. (1984). *Fisiologia da Reprodução dos Ungulados Domésticos*. Lisboa: Fundação Clouste Gulbenkian.

Siqueira, J. B., Guimarães, J. D., Da Costa, E. P., Henry, M., Torres, C. A. A., Da Silva, M. V. G. B., & Silveira, T. D. S. (2007). Relationship between conception rates obtained by using bovine frozen semen and in vitro spermatoc evaluation. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36(2), 387–395. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007000200016>

Snoj, T., Kobal, S., & Majdic, G. (2013). Effects of season, Age, And breed on semen characteristics in different Bos taurus breeds in a 31-year retrospective study. *Theriogenology*, 79(5), 847–852. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.12.014>

Tartaglia, L., & Waugh, A. (2005). *Veterinary Physiology and Applied Anatomy.pdf* (p. 209). p. 209.

Zeder, M. A. (2015). Core questions in domestication research. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(11), 3191–3198. <https://doi.org/10.1073/pnas.1501711112>