



GLOBAL JOURNAL OF MEDICAL RESEARCH: G
VETERINARY SCIENCE AND VETERINARY MEDICINE
Volume 23 Issue 2 Version 1.0 Year 2023
Type: Double Blind Peer Reviewed International Research Journal
Publisher: Global Journals
Online ISSN: 2249-4618 & Print ISSN: 0975-5888

Andrological Points Classification (CAP) Nelore Bulls (*Bos Taurus Indicus*) of Different Ages, Kept in Reproduction Central

By Ana Clara Ferreira Batista, Manoel Lucas Carvalho da Silva,
Augusto Urzedo Pereira Queiroz, Amanda Pifano Neto Quintal
& André Belico de Vasconcelos

Universidade de Uberaba

Summary- The objective of this study was to evaluate the reproductive potential of Nelore bulls at different ages, using the Andrological Points Classification system and to analyze the physical and morphological characteristics of the semen, when submitted to the cryopreservation protocol. Thus, 15 Nelore bulls were evaluated, divided into three groups according to age. The first group consisted of bulls aged ≤ 4 years, the second group of bulls aged $5 \geq$ to ≤ 7 years, and the third group of bulls aged $8 \geq$ to ≤ 10 years. From the evaluations performed, biometrics testicular and semen morphology, were relevant to determine the andrological classification by points (CAP index). For this purpose, the semen was collected using the electroejaculation method. And the results were expressed as mean and standard deviation.

Keywords: bovine; males; production; sanity.

GJMR-G Classification: NLMC Code: QL750-QL777



ANDROLOGICAL POINTS CLASSIFICATION CAP NELLORE BULLS BOS TAURUS INDICUS OF DIFFERENT AGES KEPT IN REPRODUCTION CENTRAL

Strictly as per the compliance and regulations of:



RESEARCH | DIVERSITY | ETHICS

© 2023. Ana Clara Ferreira Batista, Manoel Lucas Carvalho da Silva, Augusto Urzedo Pereira Queiroz, Amanda Pifano Neto Quintal & André Belico de Vasconcelos. This research/review article is distributed under the terms of the Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0). You must give appropriate credit to authors and reference this article if parts of the article are reproduced in any manner. Applicable licensing terms are at <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>.

Andrological Points Classification (CAP) Nelore Bulls (*Bos Taurus Indicus*) of Different Ages, Kept in Reproduction Central

Classificação Andrológica Por Pontos (CAP) De Touros Nelore (*Bos Taurus Indicus*) Em Diferentes Idades, Mantidos Em Central De Reprodução

Ana Clara Ferreira Batista ^α, Manoel Lucas Carvalho da Silva ^ο, Augusto Urzedo Pereira Queiroz ^ρ, Amanda Pifano Neto Quintal ^ω & André Belico de Vasconcelos [¥]

Summary- The objective of this study was to evaluate the reproductive potential of Nelore bulls at different ages, using the Andrological Points Classification system and to analyze the physical and morphological characteristics of the semen, when submitted to the cryopreservation protocol. Thus, 15 Nelore bulls were evaluated, divided into three groups according to age. The first group consisted of bulls aged ≤ 4 years, the second group of bulls aged $5 \geq \leq 7$ years, and the third group of bulls aged $8 \geq \leq 10$ years. From the evaluations performed, biometrics testicular and semen morphology, were relevant to determine the andrological classification by points (CAP index). For this purpose, the semen was collected using the electroejaculation method. And the results were expressed as mean and standard deviation. The variables were submitted to ANOVA, Tukey and Pearson's correlation tests, with the differences between the groups being significant at the $p < 0.05$ level. The results describe differences between the groups and in the sperm viability between the groups when the samples are submitted to different moments of evaluation (In natura, post-thaw and thermoresistance test). It is concluded that the Nelore breed, presents variation in the sperm quality, with a very small loss on the older ones.

Keywords: bovine; males; production; sanity.

Resumo- O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial reprodutivo de touros da raça Nelore em diferentes idades, pelo sistema de Classificação Andrológica por Pontos e analisar as características físicas e morfológicas do sêmen, quando submetidos ao protocolo de criopreservação. Assim, foram avaliados 15 touros da raça Nelore padrão, divididos em três grupos conforme a idade. O primeiro grupo foi constituído de touros com idade ≤ 4 anos, o segundo, de touros com idade $5 \geq \leq 7$ anos, e o terceiro grupo de

touros, com idade $8 \geq \leq 10$ anos. Das avaliações realizadas a biometria testicular e morfológica do sêmen, foram relevantes para determinar a classificação andrológica por pontos (índice CAP). Para tal, a colheita do sêmen foi realizada pelo método de eletroejaculação. E os resultados foram expressos em média e desvio padrão. As variáveis foram submetidas às análises de ANOVA, Tukey e teste de correlação de Pearson, sendo as diferenças entre os grupos significativas ao nível $p < 0,05$. Os resultados descrevem diferenças entre os grupos e na viabilidade espermática entre os grupos quando as amostras são submetidas a diferentes momentos de avaliação (In natura, pós-descongelamento e teste de termoresistência). Conclui-se que a raça Nelore padrão, apresenta variação quanto a qualidade espermática, com uma perda muito pequena quanto mais velhos.

Palavra Chave: bovino; machos; produção, sanidade

I. INTRODUÇÃO

A fertilidade de um touro é uma condição fisiológica ligada a aspectos clínicos andrológicos básicos, que podem ser influenciados pela idade, ambiente e a genética do animal (Ntemka et al., 2016; Silva et al., 2017). Para análise andrológica, a avaliação do testículo é um fator determinante para a reprodução de bovinos (Salvador et al., 2008), uma vez que o número total de espermatozoides produzidos, tem relação com as características testiculares (Majic'-Balic' et al., 2012).

A avaliação da fertilidade de um touro é dada por aspectos das características espermáticas e andrológicas. No que se refere ao exame microscópico, a concentração, motilidade e morfologia espermática são as principais métricas envolvidas para a determinação de índices reprodutivos satisfatórios (Arruda et al 2011).

A variação da fertilidade de touros relacionada à idade não está devidamente descrita na literatura, devido à dificuldade de acompanhar estes animais tanto em centrais de colheita e processamento de sêmen quanto nas fazendas, já que animais que apresentem diminuição da qualidade espermáticas, são prontamente substituídos (Staub e Johnson, 2018).

Author α : Discente do Programa de Pós-graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos, UNIUBE; Bolsista CAPES - Código de Financiamento 001.

Author σ : Discente do Curso de Medicina Veterinária UNIUBE; Bolsista UNIUBE.

Author ρ : Discente do Programa de Pós-graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos, UNIUBE; Bolsista FAPEMIG.

Author ω : Docente da Faculdade Associada de Uberaba, FAZU.

Author $\¥$: Docente do Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos, UNIUBE. Universidade de Uberaba, Av.Nenê Sabino, 1801, Bairro Universitário, Uberaba, CEP 38055-500, Minas Gerais, Brasil. e-mail: andre.vasconcelos@uniube.br

O potencial reprodutivo de um touro é determinado pela somatória de fatores ligados à características andrológicas, como o perímetro escrotal (PE) e à qualidade do sêmen (Ronda et al., 2019). Desta forma o sistema de pontuação (CAP) como estabelecido por Fonseca e colaboradores (1997) tende a relacionar aspectos clínicos andrológicos que de certa forma podem estar vinculados a idade do animal.

Neste sentido, objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial reprodutivo de touros da raça Nelore em diferentes idades, pelo sistema de Classificação Andrológica por Pontos (CAP) e analisar as características macro e microscópicas do ejaculado in natura e quando este submetidos a processamento e criopreservação.

II. MATERIAL E MÉTODO

Este estudo foi realizado no município de Uberaba, Minas Gerais, na empresa Central Uberaba Genética, situada na Região do Triângulo Mineiro, durante o período de outubro a dezembro, com temperatura média de 22,3°C e precipitação pluviométrica anual de 1.571 mm³. O estudo foi aprovado no Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade de Uberaba –CEEA–045/2017.

O sistema de manejo dos touros respeitava um animal/piquete, em área de lazer com sombreamento artificial de aproximadamente 3 m²/animal, constituído de pastagem formada por grama-estrela (*Cynodon nlemfuensis*). Todos os animais receberam o mesmo manejo alimentar com 10 Kg de silagem, concentrado 12,5% de proteína bruta (PB) duas vezes ao dia e fornecimento mistura mineral (Hágil Terapêutica®) e água *ad libitum*.

Foram estudados 15 touros da raça Nelore padrão divididos em três grupos por idade. O primeiro grupo constitui de touros com idade ≤ 4 anos (N=5); o segundo grupo de touros com idade $5 \leq a \leq 7$ anos (n=5); o terceiro grupo $8 \geq a \leq 10$ anos (N=5). Os animais foram submetidos a avaliação da biometria testicular, exames macro e microscópico do sêmen e a classificação andrológica por pontos (CAP).

As avaliações de biometria testicular foram realizadas no início do estudo e para tal foi utilizada fita métrica milimetrada (Walmur 80 cm), com posicionamento na região mediana escrotal, no ponto de maior dimensão, envolvendo as duas gônadas e a pele escrotal (Manual CBRA, 2013).

Foram realizadas três coletas por animal com intervalos de 15 dias executadas pelo método de eletroejaculação, utilizando aparelho eletroejaculador modelo Walmur boijector 65^a. Os ejaculados foram mantidos em tubos coletores graduados acoplados a funis previamente aquecidos em estufa a 37°C.

Na avaliação de volume utilizou-se de proveta graduada e a concentração espermática foi estimada

por espectrofotometria (Genesys 20®). A avaliação da morfologia espermática foi realizada pela técnica de preparação úmida, com auxílio de microscopia de campo claro em aumento de 100X (Nikon Eclipse 50i, Nikon, Tóquio, Japão) e corante rosa bengala (Manual CBRA, 2013). Foram avaliados 100 espermatozoides por amostra, os quais foram analisados quanto a defeitos espermáticos maiores, menores e totais, conforme critérios estabelecidos por Blom (1973).

Os ejaculados foram também avaliados quanto a motilidade total e vigor. Para tal foram pipetados 10µL das amostras em uma lâmina previamente aquecida a 37°C em mesa aquecedora modelo MTB2030 (NeoVet) e coberta por uma lamínula. As amostras foram avaliadas em aumento de 10x em microscopia de campo claro (Olympus BX41®, Tóquio, Japão), e posteriormente foram diluídas com diluente Optixcell®.

As amostras foram congeladas, utilizando o mesmo diluente, concentração de 35x10⁶sptz/dose, e envasadas em paletas de 0,25 ml. Por questões éticas relacionadas ao sigilo empresarial, não serão apresentados detalhes da curva de congelamento. Imediatamente após descongelamento, e após teste de termorresistência lento (38°C/5 horas) foram realizadas novas análises de motilidade e vigor.

A CAP, foi realizada conforme descrita por Ronda e colaboradores (2019), na qual os touros foram classificados de acordo com o perímetro escrotal (até 40 pontos), com aspectos físicos (motilidade e vigor) que pode chegar até 25 pontos e de acordo com a morfologia espermática (defeitos maiores e totais) chegando até 35 pontos. Assim que somados os valores é possível encontrar reprodutores excelentes, muitos bons, bons e questionáveis. Para tal foram pontuados os aspectos físicos e morfológicos do sêmen e estes, relacionados com o PE em função da faixa etária (Fonseca et al., 1997).

Para realização das análises estatísticas foi utilizado o programa Graphpad Prism 6.0 (Graphpad software Inc., San Diego, USA). Inicialmente foi realizado o teste de normalidade Shapiro-Wilk e teste para verificar a homogeneidade das variâncias (teste de homocedasticidade). Resultados com distribuição normal foram analisados pelo teste estatístico ANOVA seguido pelo teste Tukey. Foi utilizado o teste de correlação de Pearson e as diferenças foram consideradas significativas quando o valor de p foi $< 0,05$.

III. RESULTADO E DISCUSSÃO

Os valores das variáveis estudadas estão apresentados na tabela 1, quanto aos valores mínimo e máximo, bem como a média de todos os animais do estudo.

Tabela 1: Valores Mínimos, Máximos Médias e Desvio Padrão (D.P.) Das Variáveis Analisadas dos Touros da Raça Nelore, Mantidos em Central de Produção de Sêmen (N=15)

Variáveis (n=15)	Mínimo	Máximo	Media±DP
Idade (anos)	3	10	5,9±2,3
Perímetro Escrotal (cm)	36	47	41,5± 3
Volume (mL)	3	16	7,2±3,7
Concentração (espz x10 ⁶ /mL)	502	2823	1503,7±599,1
Motilidade (%)	31	80	64,1±10,4
Vigor (1-5)	3	5	3,8±0,4
Defeitos maiores (%)	1	30,5	5,3±5,4
Defeitos menores (%)	0	35	3,8±6,6
Defeitos Totais (%)	2	45	9,1±9,5

Na análise entre os grupos estudados foi observado que o volume do ejaculado e a concentração espermática foram maiores em touros (maduros) com idade entre 5 ≥ a ≤ 7 anos (Grupo 2), em relação ao grupo de touros jovens (Grupo 1) e senis (Grupo 3) (Tabela 2).

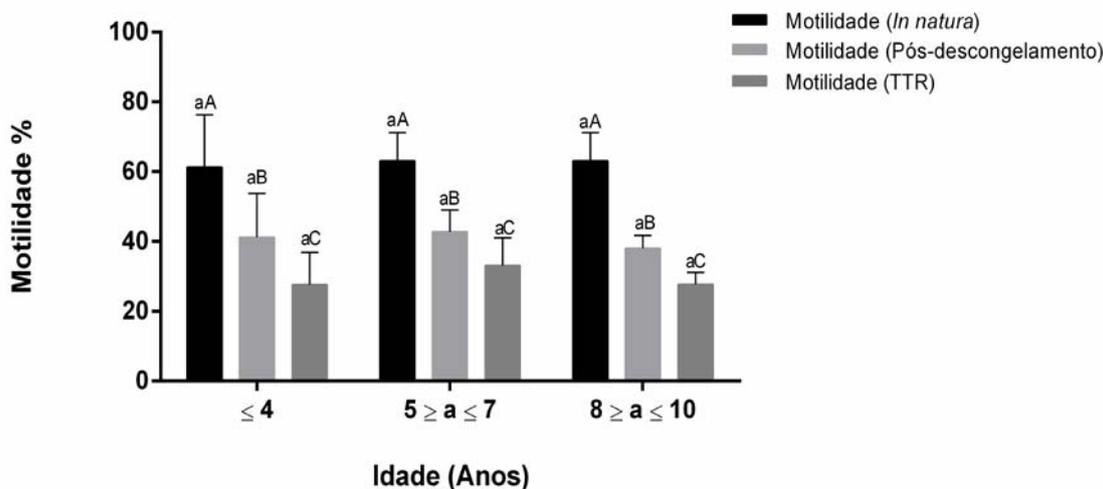
Tabela 2: Médias E Desvio Padrão (D.P.) Em Relação Aos Volumes Seminais E Concentrações Espermáticas

Classificação	Idade	Volume (ml)	Concentração espermática (10 ⁶ /ml)
Grupo 1	≤ 4 anos	6,5 ^c	1324,2 ^b ± 444,8
Grupo 2	5 ≥ a ≤ 7 anos	11,0 ^a	1729,7 ^a ± 531,2
Grupo 3	8 ≥ a ≤ 10 anos	8,2 ^b	1449,8 ^b ± 662,8

Letras diferentes indicam diferença significativa entre os parâmetros (p<0,05)

Estudos realizados por Silva e Colaboradores (2011) e Ahmad e colaboradores (2011) apontam que o volume do ejaculado e a concentração espermática aumentam em touros maduros quando comparados aos jovens. Por conseguinte, observa-se também que em touros *B. indicus* após 7,5 anos de idade há uma diminuição tanto no volume quanto na concentração, uma vez que há uma diminuição na espermatogênese (Ahmad et al., 2011; Silva et al., 2017).

Dentre as avaliações tradicionais da qualidade espermática, a motilidade é um fator para prever a fertilidade do sêmen (Sullivan, 1970). No presente estudo a motilidade, foi analisada em três momentos: *in natura*, pós-descongelamento e após a análise do pós-descongelamento foi realizado o teste de termo resistência (Figura 1).



Two-Way ANOVA p = 0,27 (Idade) e p<0,0001 Motilidade

Figura 1: Médias em relação aos momentos de avaliação (*in natura*, pós-descongelamento e teste de termo resistência). Letras minúsculas indicam significância entre as idades, quanto aos diferentes grupos (p<0,05). Letras maiúscula diferentes indicam diferença significativa entre os momentos de avaliação no mesmo grupo (p<0,05)

Na análise da motilidade do sêmen *in natura* entre os três grupos etários não se observou diferença, como também para as amostras pós-descongelamento e pós teste de termo resistência. Estes resultados também foram reportados por Hallap e colaboradores (2006) ao avaliar grupos de animais jovens e adultos quanto a motilidade total.

O que se observa também entre os grupos etários é que todos apresentam diminuição na motilidade após os momentos de avaliação (*in natura*, pós-descongelamento e teste de termo resistência), seguindo o mesmo perfil de queda. Ahmad e colaboradores (2011) relatam que a motilidade espermática é alterada pelo efeito da criopreservação e não pela idade dos animais.

Uma questão que pode ser apontada é que espermatozoides de touros mais velhos atingem a hiperativação mais prontamente do que os touros jovens e que espermatozoides hiperativados são caracterizados por uma motilidade menos linear e progressiva (Hallap et al., 2004).

Por outro lado, em animais jovens é comum que ocorra alto nível de degenerações das células espermáticas desde a primeira geração de células, resultando em um baixo rendimento da gametogênese

com consideráveis perdas durante as divisões mitóticas e meióticas. Tais espermatozoides podem não apresentar toda a maturação espermática. Isto resulta em imaturidade quanto aos aspectos bioquímicos, fisiológicos e morfológicos (Valentim et al., 2002). Esse fato pode ser explicado devido a touros da raça Nelore alcançarem a fase reprodutiva mais tardiamente que animais taurinos, por volta dos 30 aos 36 meses de idade (Silveira et al., 2010) e por nesse trabalho se tratar de touros contratados por central de inseminação, os quais por maioria das vezes tem os ejaculados coletados após alcançarem tal fase. Anteriormente a contratação, os animais se encontravam em propriedades em diversas regiões do Brasil, os quais podem ter passado por balanço energético negativo durante a fase pré púbere e/ou de puberdade, causando um atraso na cronologia reprodutiva desses animais (Miranda Neto et al., 2011).

Quanto ao vigor, não diferiu entre os grupos em nenhuma das etapas analisadas, como observado por Silva e colaboradores (2009). Nas análises das características morfológicas se observa uma convergência de dados dentro dos grupos (Figura 2), sem qualquer diferença entre os valores em cada grupo.

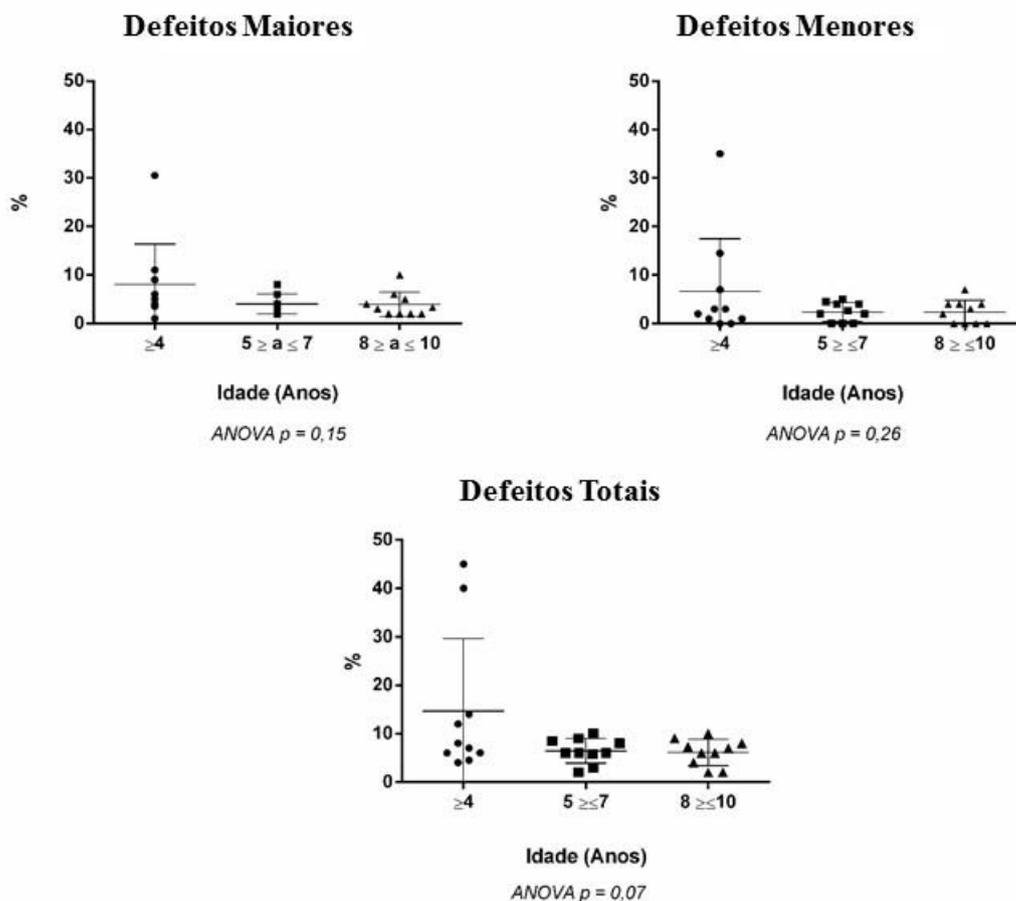


Figura 2: Médias em Relação Análise de Características Morfológicas do Sêmen

Contudo, na análise entre os grupos observou-se que os animais do Grupo 1 (≤ 4 anos), apresentaram uma maior média ($p > 0,05$) de defeitos maiores (8,0%) quando comparado aos outros grupos: Grupo 2 ($5 \geq a \leq 7$ anos) (4,0%) e Grupo 3 ($8 \geq a \leq 10$ anos) (3,9%). Este resultado também foi encontrado para os defeitos menores (6,7%), (2,4%) e (2,4%), respectivamente. O que reflete no parâmetro de defeitos totais, Grupo 1 (14,7%), Grupo 2 (6,4%) e Grupo 3 (6,1 %).

Oliveira e colaboradores (2011), observaram que touros adultos produzem sêmen com menor porcentagem de defeitos espermáticos quando comparados a touros jovens, pois com o avançar da idade, ocorre uma diminuição da presença de defeitos em resultado do tamanho do perímetro escrotal, já que animais dessa idade apresentam maior perímetro, maior capacidade de produção de testosterona (estimula o processo espermatogênico) e, conseqüentemente, maior capacidade para produzir sêmen de melhor qualidade, alcançando a estabilidade, na qual o potencial reprodutivo do touro é efetivo (Miranda Neto et al., 2011).

Outro ponto é que a avaliação da maturidade sexual e da fertilidade em touros também pode ser caracterizada pela medida da circunferência escrotal associada as características do ejaculado (principalmente motilidade e morfologia espermática) (Silva et al., 2002).

Assim alguns touros podem apresentar baixa taxa de fertilidade, mesmo apresentando características espermáticas satisfatórias, fato que pode estar relacionado a características morfofisiológicas do próprio espermatozoide (Boe-Hansen et al., 2018), que pode ser explicada pela dinâmica da espermatogênese, sendo que está depende de diversas condições endócrinas, fisiológicas.

Em virtude disto optou-se pela CAP como critério de avaliação para prever fertilidade, por esta abranger diferentes condições que norteiam a qualidade espermática. Observou-se que animais mais velhos tendem a apresentar uma CAP melhor ($8 \geq a \leq 10$ anos - 85,9) e ($5 \geq a \leq 7$ anos - 84,9), quando comparados a animais mais jovens (≤ 4 anos - 78,3). A partir desta decisão, pôde-se determinar através da CAP, mediante a soma diversos fatores ligados à reprodução, em especial aqueles relacionados ao PE e qualidade do sêmen, quais os aspectos reprodutivos devem ser melhor apreciados durante avaliação de touros (Silva et al., 2002).

Esta condição é reforçada quando realizada a correlação entre a CAP e a idade dos animais (Figura 3), a qual demonstra uma relação positiva entre estas características, tendo em vista que aspectos morfofuncionais dos touros são importantes para a reprodução de bovinos da raça Nelore, conforme apontado por Valentim e colaboradores (2002) e Salvador e colaboradores (2008).

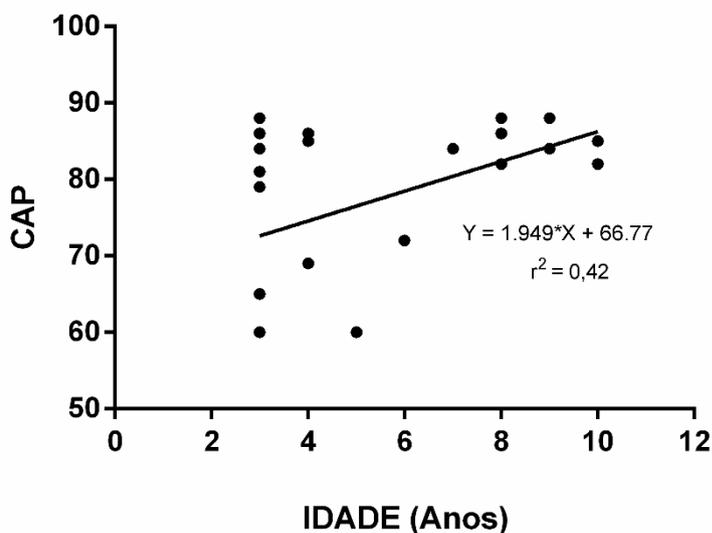


Figura 3: Teste de correlação de Pearson. Classificação andrológica por pontos (CAP)

IV. CONCLUSÃO

Concluiu-se no presente estudo que os touros da raça Nelore padrão, podem sofrer influência na qualidade seminal devido idade quando correlacionada com a classificação andrológica por pontos (CAP).

Avaliações que podem definir o potencial reprodutivo na espécie bovina como a CAP se mostrou uma forma de nortear aspectos da reprodução do macho.

Declaração de interesse

Os autores declaram não ter conflito de interesses.

AGRADECIMENTOS

As agências brasileiras Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão de bolsa; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela concessão de bolsa PROSUP/TAXA durante o programa de mestrado – Código de Financiamento 001.

REFERENCES RÉFÉRENCES REFERENCIAS

- AHMAD, E.; AHMAD, N.; NASEER, Z.; ALEEM, M.; KHAN, M.S.; ASHIQ, M.; YOUNIS, M. Relationship of age to body weight, scrotal circumference, testicular ultrasonograms, and semen quality in Sahiwal bulls. *Tropical Animal Health Production*, v.43, p.159–164, 2011.
- ARRUDA RP, CELEGHINI ECC, ALONSO MA, CARVALHO HF, OLIVEIRA LZ, NASCIMENTO J, SILVA DF, AFFONSO FJ, LEMES KM, JAIMES JD. Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. *Rev Bras Reprod Anim*, v.35, p.145-151, 2011.
- BOE-HANSEN, G.B.; FORTES, M.R.S.; SATAKE, N. Morphological defects, sperm DNA integrity, and protamination of bovine spermatozoa. *Andrology*, v6(4). p.1-7, 2018.
- BLOM, E. Ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermiogram. *Nordisk veterinary medicine*, v.25, p.383-39, 1973.
- FONSECA, V.O.; SANTOS, N.R.; MALINSKI, P.R. Classificação andrológica de touros zebus (*Bos taurus indicus*) com base no perímetro escrotal e características morfo-físicas do sêmen. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.21, n.2, p.36-39, 1997.
- HALLAP, T.; HAARD, M.; JAAKMA, U.; LARSSON, B.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Variations in quality of frozen–thawed semen from Swedish Red and White AI sires at 1 and 4 years of age. *International Journal of Andrology*, v. 27, p. 166–171, 2004.
- HALLAP, T.; JAAKMA Ü.; RODRIGUES-MARTINEZ, H. Changes in Semen Quality in Estonian Holstein AI Bulls at 3, 5 and 7 years of Age. *Reproduction in Domestic Animals*, v.41, p.214-218, 2006.
- MANUAL PARA EXAME ANDROLÓGICO E AVALIAÇÃO DE SÊMEN ANIMAL/Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 3,ed, - Belo Horizonte: CBRA 2013.Disponível em: www.cbra.org.br.
- MAJIC- BALIC, I.; MILINKOVIC-TUR, S.; SAMARDZIJA, M.; VINCE, S. Effect of age and environmental factors on semen quality, glutathione peroxidase activity and oxidative parameters in simmental bulls. *Theriogenology*, v. 78(2), p. 423-431, 2012.
- MIRANDA NETO, T.; CASTILHO, E.F.; PINHO, R.O.; GUIMARÃES, S.E.F.; COSTA, E.P.; GUIMARÃES, J.D. Puberdade e maturidade sexual em touros jovens da raça Simental, criados sob regime extensivo em clima tropical. *Revista Brasileira de Zootecnia*, [S. L], v. 40, n. 9, p. 1917-1924, [s.l.], 2011.
- NTEMKA, A.; TSOUSIS, G.; BROZOS, C.; KIOSSIS, E.; BOSCO, CM.; TSAKMAKIDIS, IA. Breed differences of bull frozen-thawed semen. *Reproduction in Domestic Animals*, December, v. 51(6). p, 945-952, 2016.
- OLIVEIRA, L.Z; OLIVEIRA, C.S; MONTEIRO, F.M; LIMA, V.F.M.H; LIMA, F.M; COSTA, M.Z. Efeito da idade sobre as principais características andrológicas de touros Brangus-lbagécriados extensivamente no estado do Mato Grosso do Sul – Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.39(1), p.946, 2011.
- RONDA J.B.; RIBEIRO G.B.; JACOMINI, J.O.; QUINTAL, A.P.N.; VASCONCELOS A.B. Classificação Andrológica por pontos e características andrológicas na avaliação reprodutiva de touros da raça gir candidatos ao teste de progênie. *Ciência Animal Brasileira*, v.20, p.1-8, 2019.
- SALVADOR, D.F.; ANDRADE, V.J.; DIAS, J. C.; VALE FILHO, V.R.; NOGUEIRA, L. A. G. Associação entre o perfil andrológico e a congelamento de sêmen de touros da raça Nelore aos dois anos de idade, pré-selecionados pela classificação andrológica por pontos (CAP). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 60, p. 587-593, 2008.
- SILVA, A.R; FERRAUDO, A. S; PERECIN, D; LIMA, V.F.M.H. Efeito da idade do touro e do período de colheita de sêmen sobre as características físicas e morfológicas do sêmen de bovinos de raças europeias e zebuínas. *Revista Brasileira Zootecnia*, v.38, n.7, p.1218-1222, 2009.
- SILVA, A.E.D.F; UNANIAN, M.M; CORDEIRO, C.M.T; FREITAS, A.R; Relação da Circunferência Escrotal e Parâmetros da Qualidade do Sêmen em Touros da Raça Nelore, PO. *Revista Brasileira Zootecnia*, v. 31, n. 3, p. 1157-1165, 2002.
- SILVA, L.E.S.; HATAMOTO-ZERVOUDAKIS, L.K.; RAMOS, A.F.; ZERVOUDAKIS, J. T.; TSUNEDA, P.P.; DUARTE JÚNIOR, M. F.; WINGERT, F.M.; DE OLIVEIRA MORAES J. Sazonalidade e qualidade do sêmen fresco e criopreservado de touros Pantaneiro e Nelore. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 24, n. 1, p. 104-107, 2017.
- SILVA, S.V.; GUERRA, M.M.P. Efeitos da criopreservação sobre as células espermáticas e alternativas para redução das crioinjúrias. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 35, n. 4, p. 370-384, 2011.
- SILVEIRA, T.S.; SIQUEIRA, J.B.; GUIMARÃES, S.E.F.; PAULA, T.A.R.; MIRANDA NETO, T.;

- GUIMARÃES, J.D. Maturação sexual e parâmetros reprodutivos em touros da raça Nelore criados em sistema extensivo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, [S.L.], v. 39, n. 3, p. 503-511, mar. 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-35982010000300008>.
20. STAUB, C.; L. JOHNSON, L. Review: Spermatogenesis in the bull. *Animal*, v. 12, p. 27–35, 2018.
21. SULLIVAN, J.J. *Sperm numbers required for optimum breeding efficiency in cattle*. In: TECHNICAL CONFERENCE ON ARTIFICIAL INSEMINATION AND REPRODUCTION, 3., Chicago, 1970. Proceedings... s.l., NAAB, 1970. p.36-43.
22. VALENTIM, R; ARRUDA, R.P.; ALENCAR, M.M.; BARNABE, R.C. Biometria testicular de touros nelore (*bos taurus indicus*) e touros cruzados nelore-europeu (*bos taurus indicus* x *bos taurus taurus*) aos 20 e 24 meses de idade. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.39, n.3, p. 113-120, 2002.

