

## Aspectos da morfologia espermática em touros *Sperm morphology aspect in bulls*

G.E. Freneau

Laboratório de Andrologia e Tecnologia do Sêmen, D.P.A, Escola de Veterinária Universidade Federal de Goiás,  
Goiânia, GO, Brasil.

Autor para correspondência: [gfreneau@gmail.com](mailto:gfreneau@gmail.com)

### Resumo

O objetivo deste trabalho foi revisar, apresentar e discutir aspectos relacionados à avaliação da morfologia espermática no exame clínico andrológico de rotina de touros. Neste tipo de avaliação, de touros na monta natural, a morfologia espermática foi considerada como o aspecto isolado que mais se relacionava com a fertilidade no rebanho. Também adquire importância para caracterizar, de forma prática, a idade da maturidade sexual de um touro. Com respeito às metodologias de avaliação dos diferentes defeitos espermáticos, recomenda-se priorizar a preparação em lâmina úmida em microscopia de contraste de fase pela melhor observação de defeitos considerados importantes para o prognóstico e ou daqueles relacionados com a fertilização e formação do embrião. A classificação de defeitos compensáveis e não compensáveis tem registrado avanços significativos na sua compreensão com novas tecnologias e pesquisas. Neste aspecto, os defeitos de cabeça espermática, com pequenas modificações na forma (**cabeça sutilmente ou levemente deformada**), deveriam ser considerados com maior atenção na avaliação do espermograma.

**Palavras-chave:** bovinos, defeitos espermáticos, espermatozoide, exame andrológico, fertilidade.

### Abstract

*The purpose of this review was to present and discuss aspects related to the evaluation of sperm morphology in the Breeding Soundness Examination routine of bulls. In this type of evaluation of bulls in natural breeding, the sperm morphology was considered the single aspect that is most related to fertility in cattle. It also acquires importance as a practical way to characterize the age of sexual maturity of a bull and therefore precocity. In respect to methods of assessing the different sperm defects, it is recommended to prioritize the preparation phase-contrast microscopy of wet-mount semen for more accurate evaluation of sperm defect, related to fertilization, embryo formation and prognosis of individual bulls. The compensable and non compensable sperm characteristics and classification have been significant advances in the understanding of new technologies and researches. In this respect, the sperm head defects with subtly shape changes should be considered more carefully in the sperm morphology examination.*

**Keywords:** *breeding soundness evaluation, cattle, fertility, sperm defects, spermatozoa.*

### Introdução

O Brasil apresenta o maior rebanho bovino comercial do planeta. A cadeia produtiva procura cada vez mais aumentar a eficiência dos processos a um menor custo. Basicamente, a produção de bezerros é dependente da monta natural. Este tipo de manejo reprodutivo pode provocar uma necessidade de utilização de mais de 1,5 milhão de reprodutores por estação reprodutiva e, como consequência, uma contínua avaliação anual desses reprodutores por profissionais capacitados. Com os conhecimentos adquiridos até hoje na avaliação de um touro, o médico veterinário tem três possíveis objetivos ou metas a alcançar: 1) identificar touros na condição de sub-fertilidade, ou seja, com problemas identificáveis; 2) estimar a atual fertilidade de um reprodutor de fertilidade conhecida por histórico e avaliações prévias e 3) identificar touros que terão fertilidade potencial superior (Amann e Hammerstedt, 1993). Os três objetivos seriam altamente desejáveis, porém somente os dois primeiros são alcançáveis dentro do arsenal tecnológico disponível.

As mais importantes motivações econômicas e biológicas para avaliar a qualidade dos espermatozoides são identificar touros com alta probabilidade de ter fertilidade reduzida ou observar se esta poderia aumentar ou diminuir. A capacidade dos médicos veterinários, para associar conhecimentos de fisiologia e patologia, somados, quando possível, com o histórico do reprodutor e resultados da avaliação clínica objetivando estabelecer o grau de interferência fertilidade do touro. A avaliação da morfologia espermática, como um procedimento simples, adquire maior importância para prognosticar as possíveis mudanças de quadros específicos, tratamentos clínicos ou simplesmente acompanhar desenvolvimento reprodutivo em touros jovens. Portanto, é imperativo que os médicos veterinários tenham uma compreensão integrada da espermatogênese e

patogênese de defeitos espermáticos. Um exemplo ilustrativo seria na mais leve degeneração testicular que não produz sinais clínicos detectáveis nos testículos e se manifesta quase que exclusivamente pelo aumento da produção de espermatozoides com defeitos. O objetivo deste trabalho foi revisar, apresentar e discutir aspectos relacionados à avaliação da morfologia espermática no exame clínico-andrológico de rotina de touros.

### **Morfologia espermática e sua relevância no exame do touro e a fertilidade de rebanho**

Desde que relatos pioneiros realizados em países nórdicos (Lagerlof, 1934; Blom, 1973; Rao et al., 1980) estudaram e classificaram os defeitos espermáticos no touro, vários trabalhos e obras dedicaram espaços demonstrando a importância da avaliação da patologia espermática e sua relação com a fertilidade do touro (Salisbury et al., 1978; Roberts, 1986; Barth e Oko, 1989).

A morfologia espermática, incluindo a porcentagem de acrossomas intactos, é um importante indicador de fertilidade (Freneau et al., 2000; Saacke et al., 2000; Ostermeier et al., 2001). Porém, há poucos estudos representativos em nível de vários rebanhos sobre morfologia espermática e sua relação com fertilidade (Foote, 2003).

Um estudo utilizou um modelo de regressão para verificar a fertilidade dos touros em regime de monta com grupos de touros, fazendo uso da paternidade para verificar a fertilidade individual. O modelo de regressão para relacionar a fertilidade dos touros foi de 29% da variância total da fertilidade. Devido à grande quantidade de variação não explicada, o modelo não poderia prever a fertilidade individual de touros com precisão. No entanto, este estudo demonstrou que a seleção de touros por perímetro escrotal, baixa espessura de gordura dorsal, baixa porcentagem de defeitos espermáticos primários, pouca quantidade de montas orientadas durante os testes de comportamento sexual poderia melhorar a fertilidade de touros de corte em condições extensivas (Coulter e Kozub, 1989).

Recentemente foram reportados estudos relevantes sobre a avaliação andrológica de touros na Austrália, os quais demonstraram que, de todas as características aferidas nos touros, a morfologia espermática (representada como espermatozoides normais) foi a que teve maior repetibilidade e relação com a produção de bezeros/touro na estação reprodutiva (16 propriedades), comprovada pela paternidade dos touros por meio da análise de DNA dos animais (Fitzpatrick et al., 2002; Holroyd et al., 2002). Este trabalho demonstrou que uma avaliação metódica sobre a morfologia espermática adquire relevância econômica dentro da implantação de uma estação reprodutiva em gado de corte e seu monitoramento constante na monta natural em gado de leite.

### **Morfologia espermática e temperaturas elevadas no testículo**

No túbulo seminífero, as células da linhagem espermatogênica têm diferentes sensibilidades e resistências à temperatura testicular elevada e ou a problemas de regulação endócrina. Sendo assim, as espermátides e os espermatozoides são particularmente mais sensíveis, enquanto as espermatogônias e os espermatozoides no epidídimo são mais resistentes. Se esta elevação da temperatura é leve e curta, uma sequência de defeitos espermáticos no ejaculado pode ser esperada; por outro lado, se o aumento da temperatura é prolongado, outra variedade de defeitos pode estar presente no ejaculado ao mesmo tempo. O prognóstico esperado na recuperação do quadro da morfologia espermática dar-se-á a partir das espermatogônias, que resistiram à agressão, reiniciando a produção de células normais (Salisbury et al., 1978; Roberts, 1986; Barth e Oko, 1989).

A elevação da temperatura testicular e os problemas de origem endócrina (mediados pelo estresse) são provavelmente as causas mais comuns de degeneração testicular leve. As alterações na morfologia espermática são observadas nos ejaculados após um intervalo que varia de acordo com o estágio de desenvolvimento das células germinativas no momento da interferência e do tempo necessário para que as células danificadas sejam espermiadas desde o epitélio seminífero e transportadas através do epidídimo (Barth e Bowman, 1994). Este tipo de interferência adquire especial relevância no Brasil devido às condições extensivas do modelo produtivo. O touro, dependendo da época do ano e da região em particular, passa várias horas do dia submetido a temperaturas que podem esgotar o mecanismo de termorregulação testicular, provocando aumento da porcentagem de espermatozoides com defeitos nos ejaculados. Estes resultados são observados na prática diária e comprovados por vários estudos em touros de raças taurinas, índicas e seus mestiços (Arteaga et al., 2005; Walters et al., 2005; Fernandes et al., 2008; Newton et al., 2009).

### **Morfologia espermática e desenvolvimento sexual**

A necessidade de comercializar touros para suprir a demanda do mercado tem diminuído, nas empresas, os custos de produção desses touros. Assim sendo, as vendas acontecem em períodos ou idades dos animais dentro do desenvolvimento sexual dos touros, principalmente na raça Nelore (Freneau et al., 2006). A morfologia espermática é o parâmetro que o médico veterinário tem como principal marcador para acompanhar a precocidade sexual dos animais.

A maturidade sexual em touros, apesar de ter sido menos estudada que a puberdade é considerada a idade em que o animal atinge o potencial satisfatório de fertilidade. Portanto, o touro pode ser considerado sexualmente maduro quando atingir todas as potencialidades espermáticas, ponderais e comportamentais que propiciem a habilidade de realizar a cópula e promover a fecundação. Como os aspectos morfológicos do sêmen são as características seminais mais confiáveis para determinar quando os touros estão dentro da fase de desenvolvimento sexual para atingir a maturidade (Schmidt-Hebbel, 2000; Brito et al., 2004), diferentes trabalhos definiram esse período pelas porcentagens de defeitos espermáticos e concentração espermática na caracterização desse evento. Nesse sentido, os touros da raça Guzerá foram considerados sexualmente maduros quando apresentaram ejaculados com, no mínimo, 50% de motilidade progressiva com limites de 10% de defeitos maiores e 20% de defeitos menores (Garcia et al., 1987). Outros estudos definiram a maturidade sexual (nas raças Holandesa, Mestiços F1 Holandês – Gir e Nelore) quando os touros apresentaram um máximo de 15% de defeitos maiores e 30% de defeitos totais associados à concentração de  $400 \times 10^6$  /mL (Freneau, 1991; 1996). Similarmente, outros estudos assumiram a maturidade sexual como a idade em que os touros apresentaram os primeiros ejaculados com até 30% de defeitos totais (Brito et al., 2004). Portanto, poder-se-ia assumir como definição de maturidade sexual seminal a idade em que o animal apresentasse o primeiro ejaculado com um máximo de 20% de defeitos maiores e 30% de defeitos totais. A Tab. 1 mostra as características de morfologia espermática em touros de vários grupos zootécnicos à maturidade sexual.

Tabela 1. Características (média e desvio-padrão) de idade e defeitos espermáticos de touros Nelore criados extensivamente<sup>1</sup>, <sup>2</sup> e Holandeses e Mestiços F1 Holandês-Gir sob regime semiextensivo em diferentes idades de eventos reprodutivos na fase de maturidade sexual.

Idades Eventos Reprodutivos	Idade 1º Ejaculado 15% Def.maiores e 30% Def.totais				Idade 1º Ejaculado 15% Def.maiores e 30% Def.Totais e 400 x 10 <sup>6</sup> SPZ		
	Nelore <sup>1</sup> (n30)	Nelore <sup>2</sup> (n10)	Holandês <sup>1</sup> (n 27)	F1 Hol-Gir <sup>1</sup> (n 30)	Nelore <sup>1</sup> (n 20)	Holandês <sup>1</sup> (n 27)	F1 Hol-Gir <sup>1</sup> (n 30)
Características reprodutivas							
Idade (meses)	20,3 ± 1,3	23,8 ± 0,9	14,1 ± 1,7	17,1 ± 0,7 **	21,2 ± 1,6	16,5 ± 0,9	18,1 ± 1,0 **
Got cit.prox.(%)	3,2 ± 1,8	-	5,0 ± 2,0	6,1 ± 8,1	2,6 ± 1,4	2,6 ± 1,0	8,0 ± 4,5
Def.menores (%)	5,2 ± 1,9	8,6 ± 1,3	13,8 ± 8,3	15,8 ± 9,8 *	5,1 ± 1,6	10,6 ± 5,1	14,1 ± 4,3 *
Def.maiores (%)	10,9 ± 2,9	16,8 ± 0,7	16,7 ± 6,6	31,5 ± 13,9 *	10,0 ± 2,6	11,7 ± 5,1	26,9 ± 20,4 *
Def.totais (%)	16,2 ± 3,5	25,4 ± 2,0	28,3 ± 12,3	45,8 ± 20,5 *	15,1 ± 3,5	23,6 ± 8,6	51,6 ± 25,9 *

Got.Cit.prox = gota citoplasmática proximal, def=defeitos espermáticos. \*\* Média de idade de 15 dos 30 (50%) touros que atingiram estas características preestabelecidas, em virtude de não atingirem as porcentagens de patologia espermática, principalmente def maiores. \* Media dos 30 touros.

Fonte: Adaptado de Freneau, 1991, 1996<sup>1</sup>; Brito et al., 2004<sup>2</sup>.

Na Fig. 1, está representada a relação de defeitos espermáticos maiores com a idade no período de puberdade e maturidade sexual na raça Nelore. A importância desta observação é que esta característica pode servir como monitoramento seminal de precocidade no período desde a puberdade até a maturidade sexual (fase pós-puberal).

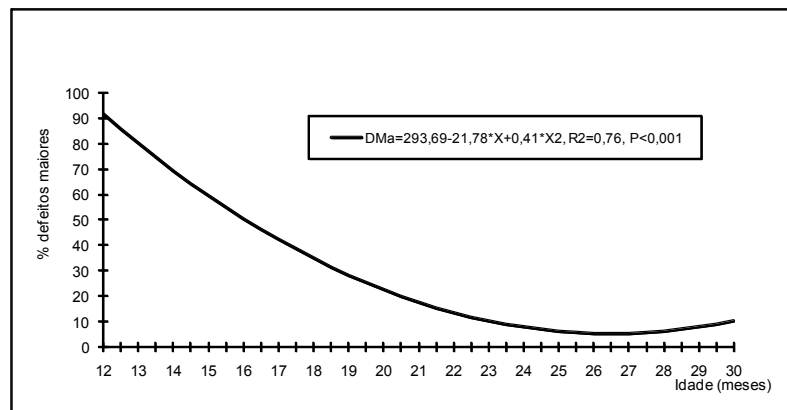


Figura 1. Relação dos defeitos maiores dos espermatozoides com a idade em touros Nelore.

Fonte: Adaptado de Freneau, 1996.

### Metodologia de aferição da morfologia espermática

Basicamente, o objetivo deste trabalho não é descrever em profundidade as técnicas e suas particularidades, e sim colocar alguns aspectos importantes delas. Para quem necessite maiores detalhes recomenda-se o manual do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA (Manual..., 1998).

Para avaliação de rotina das características morfológicas dos espermatozoides, poderão ser utilizadas duas técnicas principais: esfregaços corados em microscópio de campo claro e preparação úmida com microscópio de contraste de fase. Além disso, já existem sistemas automatizados que, além de aspectos físicos como motilidade espermática e concentração, realizam análises de morfologia espermática.

Recentes estudos que compararam a morfologia espermática dos ejaculados dos mesmos touros com duas técnicas, lâmina úmida e contraste diferencial de interferência de fase (DIC) e esfregaço corado com eosina - nigrosina (NE), verificaram diferenças significativas entre os defeitos maiores e menores, porém não sobre os totais (Tab. 2).

Tabela 2. Exame andrológico de 72 touros com a morfologia espermática avaliada pela lâmina a fresco e contraste diferencial de interferência de fase (DIC) e esfregaço corado com eosina - nigrosina (NE) e sua influência no CAP.

	Morfologia espermática pelo DIC				Morfologia espermática nigrosina - eosina					
	X	SD	n Touros	% Touros	X	SD	n Touros	% Touros		
Defeitosmaiores	23,3 ± 13,5	a	72	100	-	16,1 ± 10,8	b	72	100	-
Defeitos menores	7,6 ± 5,4	b	72	100	-	13,4 ± 6,5	a	72	100	-
Defeitos totais	30,9 ± 15,8	a	72	100	-	29,6 ± 14,6	a	72	100	-
Def. acrossoma	3,8 ± 3,1	a	71	98,2	A	1,1 ± 1,1	b	58	80,5	B
Def. p. intermediária	9,2 ± 5,3	b	72	100	-	11,7 ± 6,1	a	72	100	-
Grossa	1,20 ± 0,5	a	43	59,7	A	0,81 ± 0,4	b	38	52,8	B
Saca rolha/dobrada	2,22 ± 1,7	b	61	84,7	B	5,11 ± 3,1	a	72	100,0	A
Desassociada	1,46 ± 0,5	a	12	16,7	A	0,65 ± 0,2	b	10	13,9	B
Dupla	0,84 ± 0,4	a	33	45,8	A	0,57 ± 0,2	b	22	30,6	B
Quebrada	0,73 ± 0,40	a	32	44,4	A	1,23 ± 1,0	b	50	69,4	B
Forte/dobrada	2,07 ± 2,2	a	56	77,8	A	1,27 ± 1,0	b	50	69,4	A
Retroaxial/Oblíqua	0,78 ± 0,5	b	18	25,0	B	2,74 ± 1,9	a	52	72,2	A
Def. cabeça	7,5 ± 5,4	a	72	100	-	8,3 ± 6,8	a	72	100	-
Diadma-P. form	2,63 ± 6,8	a	37	51,4	A	0,50 ± 0,0	b	6	8,3	A
Cratera	1,02 ± 0,5	a	39	54,2	A	0,61 ± 0,2	b	22	30,6	B
Decapitada	1,87 ± 3,0	b	57	79,2	B	4,76 ± 4,5	a	68	94,4	A
Def. cauda	2,0 ± 1,1	b	62	86,1	B	4,7 ± 2,3	a	70	100	A
Cauda fort D.E.cab	1,56 ± 0,9	b	54	75,0	B	4,16 ± 2,1	a	69	95,8	A
Gota cit. prox	5,27 ± 6,4	a	71	98,6	A	3,11 ± 5,2	b	58	80,6	B
Gota cit. distal	3,49 ± 4,8	a	61	84,7	A	2,03 ± 2,3	b	51	70,8	A
Def. pela técnica	14,21 ± 9,7	b	72	100		21,44 ± 9,9	a	72	100	
Def. influencia óptica	13,02 ± 7,6	a	72	100		5,5 ± 4,3	b	72	100	
MORF (CAP)	16,4 ± 10,7	b	72	100	-	24,4 ± 12,6	a	72	100	-
CAP	54,0 ± 17,7	b	72	100	-	62,0 ± 18,1	a	72	100	-

Letras minúsculas e maiúsculas diferentes entre colunas P < 0,05 Student 't', P < 0.05 Quiquadrado.

Fonte: Adaptado de Freneau et al., 2010.

Os defeitos de forma de cabeça não apresentaram diferenças. Nos defeitos individuais, a técnica de lâmina úmida detectou uma frequência maior em todos os tipos de defeitos de acrossoma, crateras, *pouch formation* e vacúolos e gotas citoplasmáticas. Quanto aos esfregaços com lâminas coradas, estes apresentaram maior frequência nos defeitos de cauda, cabeça decapitada normal; entre os defeitos de peça intermediária, se destacaram-se os de dobrada e quebrada e saca-rolha ou zigue-zague. As diferenças não somente foram entre médias observadas como também na frequência de touros que apresentaram as diferentes patologias espermáticas nos ejaculados. Neste sentido foram agrupados em defeitos que eram favorecidos pela qualidade óptica ou provocados por interferência da técnica, e estes foram influenciados pelas metodologias empregadas (Tab. 2; Freneau et al., 2010).

Estas diferenças nos defeitos maiores e menores refletiram na pontuação da morfologia espermática (MORF) na capacidade andrológica por pontos (CAP) em que, além das médias (Tab. 2), houve diferenças no número de touros de cada categoria ou faixa, sendo de MORF-40 pontos 3 (4,2%) e 21 (29,2%) e MORF-25 pontos 33 (45,8%) e 31 (43,1%) para a DIC e NE, respectivamente. Estes resultados podem ser discrepantes não só para a classificação do touro como também para o prognóstico de eventuais problemas (Tab. 3).

Portanto, é de extrema importância a escolha da técnica a ser empregada devido ao fato de que o esfregaço de lâmina corada pode dar resultados insatisfatórios, se o objetivo for trabalhar com o CAP ou monitorar determinado estado de disfunção na espermatogênese, no entanto esta pode ser utilizada em casos para determinar o número de espermatozoides defeituosos, sem discriminar sua classificação.

Tabela 3. Frequência da capacidade andrológica por pontos (CAP) de 72 touros com a morfologia espermática avaliada pela lâmina a fresco e contraste diferencial de interferência de fase (DIC) e esfregaço corado com eosina - nigrosina (EN).

ICAP/Metodologia	a		b		c		d	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Lâmina a fresco e DIC	5	7,0	28	38,9	30	41,7	9	12,5
Lâmina corada EN	10	13,9	35	48,6	22	30,6	5	6,0

P < 0,5 Qui-quadrado

Preferivelmente, recomenda-se a preparação úmida em microscópio de contraste de fase ou de contraste diferencial de interferência de fase. Esfregaços corados apresentam menor acuidade em decorrência de aumento dos artefatos de técnica aumentando os defeitos de cauda, peça intermediária, cabeça isolada e, por outro lado, subvalorização de alguns defeitos maiores, tais como de acrossoma, vacúolos e gotas, etc. (Freneau et al., 2010).

Equipamentos que possuem microscópios acoplados a *softwares* também poderiam estimar a morfologia espermática de forma mais objetiva, porém, além do maior custo, os resultados ainda não são conclusivos. Há relatos de que, quando comparadas, as técnicas de observação direta e computadorizada na avaliação da morfologia espermática foram ambas equivalentes e de relevância clínica, porém a segunda tem a vantagem de ser independente do observador (Marnet et al., 2000). Por outro lado, diferentes estudos apresentados indicam que, apesar de sua velocidade e da facilidade de uso do analisador de sêmen, não seria um substituto confiável para o exame andrológico convencional em touros nem parece ser um confiável substituto para a análise do sêmen convencional (Palmer et al., 2003).

### Principais classificações na morfológica espermática

Durante muito tempo, os defeitos espermáticos foram classificados pela região anatômica do próprio espermatozoide (Fig. 2) a qual estava afetada (ex.: defeitos de cabeça, cauda, etc.). As causas de defeitos na morfologia do espermatozoide podem ser de origem testicular ou extratesticular. O objetivo da sistematização de agrupamentos de patologias espermáticas baseados na morfologia, seja pela origem anatômica ou pelo impacto na fertilidade, é o de auxiliar o médico veterinário na interpretação do quadro geral na avaliação clínico andrológica.

### Defeitos primários e secundários, maiores e menores

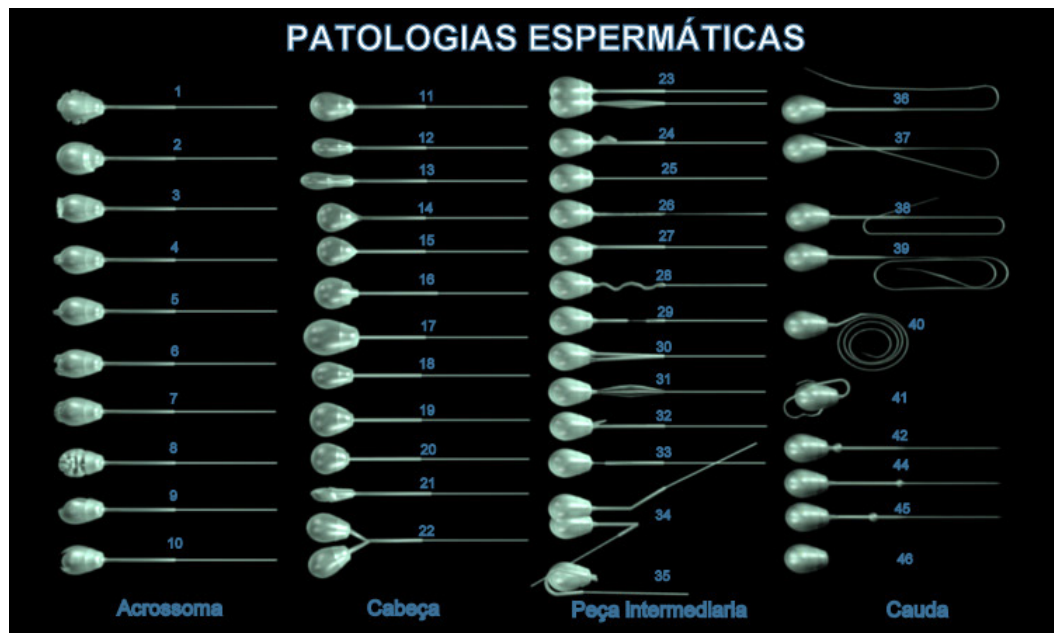
Lagerlof (1934) associou a classificação de anormalidades espermáticas com a origem. Primárias: defeitos que se originam no epitélio seminífero durante a espermatogênese; secundárias: defeitos que se originam distalmente ao epitélio seminífero nas vias intra e extratesticulares durante o armazenamento e a ejaculação; terciárias: são aqueles originados pela manipulação dos espermatozoides após a ejaculação.

Posteriormente, Blom (1973) propôs associar a classificação ao grau de importância do defeito para a



fertilidade em defeitos maiores e menores dependendo da relevância para a fertilidade reduzida do touro. Em todos os sistemas, os valores devem ser expressos em porcentagem.

Estas duas classificações têm pontos de comparação que estão ilustrados na Tab. 4.



Legenda: 1-10. Defeitos de acrosssoma: 1. Afrouxado; 2. Inchado; 3. Dobrado; 4-7. Knobbed (elevado, em ponta, duas pontas, aplainado ou achatado); 8. Enrugado; 9-10. Incompleto. 11-22. Defeitos de cabeça: 11. Normal; 12. Delgada; 13. Alongada; 14-15. Delgada na base; 16. Piriforme; 17 e 19. Grande; 18. Pequena normal; 20. Arredondada ou globosa; 21. Pequena patológica; 22. Cabeças duplas. 23-35. Defeitos de peça intermediária: 23 Grossas; 24. Pseudogota; 25. Filiforme; 26. Mordida; 27. Implantação abaxial; 28. Saca-rolha; 29 e 33. Dessasociada ou com aplasia segmentar; 30. Dupla; 31. Dividida; 32. Desdobrada; 34. Quebradas, 35. Dobrada na cabeça. 36-41 Defeitos de Cauda: 36-37. Cauda dobrada simples; 38. Caudas enroladas simples; 39-40. Fortemente enrolada ou dobrada; 41. Cauda e peça intermediária enrolada na cabeça; 42. Gota citoplasmática proximal; 44-45. Gota citoplasmática distal; 46. Cabeça isolada normal ou decapitada.

Figura 2. Principais defeitos espermáticos no touro.

A contagem de alterações morfológicas deve ser realizada em 200 células, contando-se células normais e apenas um defeito por célula anormal. Se forem observados dois ou mais defeitos na mesma célula, devem ser registrados em ordem de prioridade, o defeito maior em relação ao menor e, se observados dois defeitos de mesma classificação, registra-se apenas o de maior frequência.

Segundo o grupo de trabalho de andrologia bovina para revisão do “Manual para exame andrológico e avaliação do sêmen animal”, instituído pela Portaria n.109/2009 do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (Brasil, 2009), reunido em Pedro Leopoldo, MG (2010; comunicação pessoal), recomendam-se para ejaculados de touros:

espermatozoides normais – o valor mínimo é de 70% de normais. Esta é a característica isolada que tem maior importância para a fertilidade do touro no rebanho;

defeitos maiores – o valor máximo de tolerância é de até 20%. O rigor ou tolerância na interpretação dessa característica deve levar em consideração o quadro clínico e espermático do animal e inclusive a distribuição dos defeitos individuais;

defeitos menores – o valor máximo de tolerância é de até 30%, respeitado o limite de 70% de normais e inclusive a distribuição dos defeitos individuais;

defeitos individuais – sugere-se que os limites individuais de anormalidades estejam em torno de 5% para defeitos maiores e 10% para defeitos menores, entretanto a interpretação desses valores não é matemática e sim biológica. Alerta-se para o fato de que a elevação individual de defeitos espermáticos com relatos de associação à origem genética deve ser objeto de maior rigor no respeito ao valor sugerido.

Tabela 4. Principais sistemas de classificação da morfologia espermática.

Tipo de defeito do espermatozoide	Classificação				
	Blom, 1973		Lagerlof, 1934		
	Maior	Menor	Primário	Secundário	Terciário
Acrossoma (Granulo persistente ou <i>Knobbed</i> , destacado* e outros)	x		x	x	x*
Gota citoplasmática proximal	x			x*	
Subdesenvolvido	x		x		
Cabeça isolada patológica	x		x		
Cabeça estreita na base	x		x		
Cabeça piriforme	x		x		
Cabeça pequena anormal	x		x		
Contorno anormal	x		x		
Cabeça c/ vacúolos nucleares ( <i>pouch formation</i> ou diadema, cratera)	x		x		
Formas teratológicas	x		x		
Peça intermediária (saca-rolha <i>Corkscrew</i> *, fibrilação, desnuda, fratura*, edema, peça intermediária rudimentar ou <i>stump</i> , pseudo-gota e outros)	x		x		x*
Cauda fortemente dobrada/enrolada	x		x		
Cauda enrolada na cabeça	x		x		
Cauda dobrada ou enrolada com gota	x			x	
Gota citoplasmática distal		x		x*	
Cabeça delgada		x	x		
Cabeça curta, larga, gigante, pequena		x	x		
Cabeça isolada normal		x		x	x*
Abaxial, retroaxial* e oblíqua		x		x	x*
Cauda dobrada ou enrolada		x		x	x*

\*Defeitos que podem ser influenciados pela técnica de confecção e coloração do esfregaço (Freneau et al., 2010)  
 Fonte: adaptado do grupo de trabalho de andrologia bovina para revisão do “Manual para exame andrológico e avaliação do sêmen animal”, instituído pela Portaria n.109/2009 do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento, reunido em Pedro Leopoldo, MG (2010; comunicação pessoal)

#### Defeitos compensáveis e não compensáveis

Mais recentemente, o professor Saacke (1998) propôs uma classificação de defeitos baseada nas características espermáticas importantes para o processo de fertilização *in vivo*. As características espermáticas podem diminuir a fertilidade por duas formas principais: 1) defeitos espermáticos compensáveis, aqueles que interferem desde o transporte e função dos espermatozoides no aparelho reprodutor feminino até o início da fertilização e o bloqueio da polispermia; 2) defeitos espermáticos não compensáveis, aqueles que interferem fundamentalmente na manutenção da fertilização e no início da embriogênese.

Tanto os aspectos metabólicos quanto a morfologia espermática são importantes para os defeitos compensáveis porque seu aumento impossibilitaria o espermatozoide transpor as barreiras no aparelho genital feminino. Entre outras características, a maioria destes defeitos poderia ter problemas de hidrodinâmica que dificultam a motilidade ou o deslocamento dos espermatozoides com estas características (ex: defeitos de cauda, peça intermediária ou de cabeça com grandes modificações na sua forma). Ainda assim, existem diferenças de fertilidade entre reprodutores ou amostras de sêmen em relação ao fato de os espermatozoides poderem alcançar o óvulo, os quais não podem ser explicadas pela viabilidade espermática convencional ou avaliação morfológica. Estas características dos espermatozoides em nível funcional ou molecular precisam ser identificadas antes de se ter uma classificação completa dos defeitos compensáveis.

Os defeitos não compensáveis que afetam a qualidade de embriões têm sido associados a erros na cromatina dos espermatozoides. Estes problemas parecem ser mais frequentes nos espermatozoides que apresentam cabeças morfológicamente normais ou com pequenas modificações na sua forma (**cabeça sutilmente**

**ou levemente deformada**). Isto foi demonstrado em vários estudos que utilizaram espermatozoides acessórios e a fertilização *in vitro* (Ostermeier et al., 2001; Walters et al., 2005).

Nos últimos anos, os estudos têm concentrado esforços para demonstrar cientificamente a relação entre a morfologia espermática e esta nova classificação de defeitos. Métodos como alterar a temperatura testicular, verificar o quadro espermático ao longo do tempo e, assim, produzir ejaculados com defeitos específicos e a fertilização *in vitro* (FIV) foram de grande importância para este objetivo, tornando os experimentos mais precisos. Como dificuldades, tais métodos encontraram a variação individual dos animais e o caráter da população de espermatozoides dentro de um ejaculado com suas interações.

Vários trabalhos verificaram que alguns tipos de patologias espermáticas – que se acreditava serem defeitos compensáveis – mostraram um tipo de infertilidade multifacetada em que foram reduzidos vários aspectos da fertilização e dos primeiros estágios da formação do embrião, portanto com características de defeitos não compensáveis. O defeito de cabeça piriforme poderia ser um defeito parcialmente compensável, já estes ejaculados teriam os espermatozoides com capacidade diminuída de ligação na zona pelúcida e os zigotos resultantes da fecundação tiveram uma taxa reduzida de clivagem (Thundathil et al., 1999). De forma similar, ejaculados com maior frequência de espermatozoides com gota citoplasmática proximal, além dos problemas de motilidade progressiva, não desenvolveram na FIV embriões além da clivagem (Thundathil et al., 2001a). Em outro estudo do mesmo laboratório, a partir de ejaculados com maior frequência de defeitos de acrossoma (*knobed sperm*) foram recobrados na FIV ovócitos penetrados, porém, no geral, eles teriam reduzida capacidade para fertilização. Também observaram zigotos que apresentam problemas na clivagem e no desenvolvimento de blastocisto. Portanto, estes tipos de defeitos poderiam estar associados a problemas concomitantemente com a maturação da cromatina. Ainda, os autores alertam que o defeito de *knobed* pode ter uma base hereditária em alguns touros (Thundathil et al., 2000). Outro estudo verificou que espermatozoides com acrossomas achatados teriam uma capacidade reduzida para fundir-se com a membrana do óvulo, prejudicando a capacidade de penetrar o óvulo, somando-se a isso interferências na descondensação da cromatina espermática (Thundathil et al., 2001b).

Evidentemente, no ejaculado existem várias subpopulações de espermatozoides nas quais o aumento na frequência de um determinado defeito espermático possivelmente poderia estar associado a problemas metabólicos no restante da população, mesmo sem apresentar essa condição visível ao microscópio.

Outros estudos, que objetivaram analisar os defeitos de forma da cabeça do espermatozoide e que utilizaram analisadores de imagem computadorizados, relataram que pode existir uma relação entre a forma da cabeça do espermatozoide e a fertilidade de touros. Animais de maior fertilidade produziram espermatozoides com cabeças que eram alongadas e afiladas em comparação a touros de menor fertilidade. Além disso, algumas das diferenças observadas na forma da cabeça do espermatozoide podem ser explicadas por diferentes níveis de estabilidade de cromatina. No entanto, a forma da cabeça dos espermatozoides parece conter informações adicionais da estabilidade da cromatina. Neste estudo particular, com seis touros com cromatina de boa qualidade, a forma da cabeça espermática foi um bom indicador de fertilidade dos touros (Ostermeier et al., 2001). Agregados a estes relatos, foi observado que ejaculados com aumento dos defeitos de cabeça espermática ao longo do tempo diminuíram produção e desenvolvimento de embriões na FIV, mesmo os espermatozoides com pequenas assimetrias na forma de cabeça (Walters et al., 2005).

Ejaculados com espermatozoides que apresentam defeitos de cabeça ou algum tipo de vacúolos (diadema, crateras), entretanto, produziram, na FIV, maior frequência de embriões de baixa qualidade. A comprovação das deficiências pelas quais estes espermatozoides não seriam competentes para fertilizar não foi totalmente esclarecida. No entanto, há uma associação positiva entre o número de espermatozoides acessórios e a qualidade embrionária a qual indica uma concorrência na zona pelúcida que favorece a fecundação por um espermatozoide mais competente, e que essa seleção pareceria ser de base morfológica (Saacke et al., 2000). Para maiores detalhes, recomenda-se uma extensa revisão sobre estes aspectos em Saacke (2008).

Concluindo este aspecto, se comprovado que os espermatozoides com **cabeça sutilmente ou levemente deformada** poderiam ter danos na estrutura da cromatina e potencialmente com interferência na fertilização e no desenvolvimento de embriões, tal fato deveria provocar uma mudança de postura ante os tipos de **defeitos espermáticos de cabeça delgada, curta ou pequena**, que, na atual classificação utilizada no Brasil, estariam incluídos como defeitos menores (Tab. 4). Evidentemente, grandes avanços foram alcançados no entendimento sobre os mecanismos envolvidos na capacidade de fertilização dos espermatozoides de bovinos, fornecendo subsídios para a classificação de características ou defeitos compensáveis e não compensáveis de espermatozoides bovinos.

Estudos que relacionaram o quadro de morfologia espermática ao longo de períodos predeterminados com coletas de sêmen frequentes após submeterem os touros a estressores térmicos ou medicamentosos (Vogler et al., 1993; Barth e Bowman, 1994) contribuíram para a melhor compreensão dos efeitos e das respostas do testículo. Segundo Chenoweth (2005), muitos defeitos espermáticos são diferentes estados temporais de uma mesma resposta ante um agente estressor. O autor apresenta como exemplo (Fig. 3) desde o sutil defeito de diadema até a formação de crateras que deformam a cabeça espermática. A frequência dos defeitos espermáticos mudaria de acordo com a intensidade e a duração do estresse provocado.



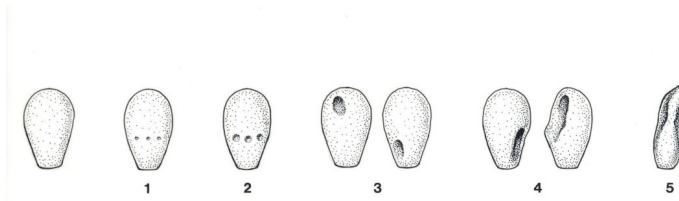


Figura 3. Defeitos de diadema e crateras e suas possíveis sequelas.

Fonte: Adaptado de Chenoweth, 2005, com autorização.

### Aspectos genéticos de defeitos espermáticos

Existem touros que apresentam defeitos espermáticos individuais com uma frequência maior que não muda ao longo do tempo. Nestes casos, foi observada a transmissão genética em determinadas raças e ou famílias de touros. Basicamente, podem ser defeitos maiores ou primários, com uma frequência aproximada de 10-20% dos espermatozoides, os quais mantêm frequência similar ao longo do tempo e em muitos casos, podem estar associados com fertilidade reduzida ou até esterilidade, e, principalmente, são defeitos herdáveis. Nos defeitos espermáticos em que foi verificada a forma de transmissão genética, estes se reportaram como sendo genes autossômicos recessivos ligados ao sexo ou não.

Devido ao objetivo e alcance desta revisão, só será enumerada a lista dos principais defeitos comprovadamente genéticos. Recomenda-se uma mais ampla leitura em revisão de literatura apresentada por Chenoweth (2005).

Principais defeitos espermáticos genéticos. Defeitos de acrossoma: *knobbed*, incompleto e rugoso. Defeitos de cabeça: condensação anormal, cabeças isoladas (80-100%), combinação de gigantes com crista nuclear. Defeitos de peça intermediária: defeito de Dag, saca-rolha ou zigue-zague e pseudogota. Defeito de cauda: *Stump defect*. Recentemente, foram identificados em suínos dois genes candidatos a um grave defeito que afeta tanto o acrossoma e quanto a cromatina dos espermatozoides e causa infertilidade. Um desses genes, chamado de HECW2, desempenha um papel importante na ubiquitinação como um pré-requisito para a remodelação da cromatina e formação do acrossoma. Este gene está envolvido em indivíduos que apresentam o defeito de acrossoma *knobbed* e infertilidade (Sironsen et al., 2010). É conhecido que este defeito do acrossoma também é frequente em touros e apresenta transmissão genética.

### Considerações finais

A morfologia espermática: 1) continua sendo o fator mais importante na avaliação de rotina de um touro pela sua relação com a fertilidade; 2) na vida produtiva do touro, está relacionada aos quadros seminais do processo de puberdade e maturação sexual, assim como quando o animal está submetido a agentes estressores; 3) na sua avaliação de rotina, a metodologia com lâmina úmida com microscopia de contraste de fase deveria ser priorizada, pela melhor observação de defeitos importantes para o prognóstico e ou os relacionados com a fertilização e formação do embrião; 4) a classificação de defeitos compensáveis e não compensáveis tem registrado avanços significativos na sua compreensão com novas tecnologias e pesquisas. Neste aspecto, os defeitos de cabeça espermática, com pequenas modificações na forma, deveriam ser considerados com maior atenção na avaliação do espermiograma (cabeça sutilmente o levemente deformada).

### Agradecimentos

O autor agradece ao Dr. Vinícius Augusto de Sá, pela colaboração na Fig. 2. Principais defeitos espermáticos, e aos membros do grupo de trabalho de andrologia bovina para atualização do Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal, pela autorização para incluir informações da proposta para atualização do Manual.

### Referencias bibliográficas

- Arteaga AA, Barth AD, Brito LF. Relationship between semen quality and pixel-intensity of testicular ultrasonograms after scrotal insulation in beef bulls. *Theriogenology*. v.64, p.408-415, 2005.
- Amann RP, Hammerstedt RH. In vitro evaluation of sperm quality: an opinion. *J Androl*, v.14, p.397-406, 1993.
- Barth AD, Bowman PA. The sequential appearance of sperm abnormalities after scrotal insulation or dexamethasone treatment in bulls. *Can Vet J*, v.35, p.93-102, 1994.



- Barth AD, Oko RJ.** *Abnormal morphology of bovine spermatozoa.* Ames, IA: Iowa State University Press, 1989. 302p.
- Blom E.** Ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. *Nord Vet Med*, v.25, p.383-391, 1973.
- Brasil.** Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento. Portaria nº 109, de 25 de maio de 2009. Institui Grupo de Trabalho no âmbito do Departamento de Fiscalização de Insumos Pecuários - DFIP/SDA, com a finalidade de atualizar o Manual de Procedimentos para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 26 maio 2009. Seção 1, p.5.
- Brito LFC, Silva AEDF, Unanian MM, Dode MAN, Barbosa RT, Kastelic JP.** Sexual development in early- and late-maturing *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbred bulls in Brazil. *Theriogenology*, v.62, p.1198-1217, 2004.
- Chenoweth P.** Genetics sperm defects. *Theriogenology*, v.64, p.457-468, 2005.
- Coulter GH, Kozub GC.** Efficacy of methods to test fertility of beef bulls used for multiple-sire breeding under range conditions. *J Anim Sci*, v.67, p.1757-1766, 1989.
- Fernandes CE, Dode MA, Pereira D, Silva AE.** Effects of scrotal insulation in Nelore bulls (*Bos taurus indicus*) on seminal quality and its relationship with in vitro fertilizing ability. *Theriogenology*, v.70, p.1560-1568, 2008.
- Fitzpatrick LA, Fordyce G, McGowan MR, Bertram JD, Doogan VJ, De Faveri J, Miller RG, Holroyd RG.** Bull selection and use in northern Australia. Part 2. Semen traits. *Anim Reprod Sci*, v.71, p.39-49, 2002.
- Foote RH.** Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. *Anim Reprod Sci*. v.75, p.119-139, 2003.
- Freneau GE.** *Biópsia testicular em touros Nelore na puberdade e pós-puberdade e sua consequência na espermatogênese e sêmen.* 1996. 187f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 1996.
- Freneau GE.** *Desenvolvimento reprodutivo em tourinhos holandeses e mestiços holandês-gir, desde os seis até os 21 meses de idade (Puberdade e pós-puberdade).* 1991 254f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 1991.
- Freneau GE, Chenoweth PJ, Ellis R, Rupp G.** Sperm morphology of beef bulls evaluated by two different methods. *Anim Reprod Sci*, v.118, p.176-181, 2010.
- Freneau GE, Puoli JR, Borja ALR.** Índice de capacidade andrológica por pontos (ICAP) em touros Nelore: Estudo de estação de acasalamento em Mato Grosso do Sul. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 37, 2000, Viçosa, MG. *Anais...* Viçosa, MG: SBZ, 2000. p.177-181.
- Freneau GE, Vale Filho VR, Marques Jr AP, Maria WS.** Puberdade em touros Nelore criados a pasto no Brasil: Características corporais, testiculares seminiais e de índice de capacidade andrológica por pontos (ICAP). *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.58, p.1107-1115, 2006.
- Garcia JM, Pinheiro LEL, Okuda HT.** Body development and sêmen physical and morphological characteristics of young Guzera bulls. *Ars Vet*, v.3, p.47-53, 1987.
- Holroyd RG, Doogan VJ, De Faveri J, Fordyce G, McGowan MR, Bertram JD, Vankan DM, Fitzpatrick LA, Jayawardhana GA, Miller RG.** Bull selection and use in northern Australia 4: Calf output and predictors of fertility of bulls in multiple-sire herds. *Anim Reprod Sci*, v.71, p.67-79, 2002.
- Lagerlof N.** Morphologische Untersuchungen uber. Veranderim spermabild und in den Hoden bei Bulle mit Verminderter oder auf gehobe ver Fertilitat. *Acta Pathol Microbiol Scand*, v.1, p.254, 1934.
- Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal.** 2.ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p.
- Marnet B, Vieitez G, Milhet P, Richoilley G, Lesourd F, Parinaud J.** Computer-assisted assessment of sperm morphology: comparison with conventional techniques. *Int J Androl*, v.23, p.22-28, 2000.
- Newton LD, Kastelic JP, Wong B, van der Hoorn F, Thundathil J.** Elevated testicular temperature modulates expression patterns of sperm proteins in Holstein bulls. *Mol Reprod Dev*, v.76, p.109-18, 2009.
- Ostermeier GC, Sargeant GA, Yandell BS, Evenson DP, Parrish JJ.** Relationship of bull fertility to sperm nuclear shape. *J Androl*, v.22, p.595-603, 2001.
- Palmer CW, Barth AD.** Comparison of the BullMate™ sperm quality analyzer with conventional means of assessing the semen quality and breeding soundness of beef bulls. *Anim Reprod Sci*, v.77, p.173-185, 2003.
- Rao AR, Bane A, Gustaafsson BK.** Changes in the morphology of spermatozoa during their passage through the genital tract in dairy bulls with normal and impaired spermatogebesis. *Theriogenology*, v.14, p.1-9, 1980.
- Roberts SJ.** *Veterinary obstetrics and genital diseases.* Theriogenology. Ann Arbor, MI: Edwards Brothers, 1986. 981p.
- Saacke RG.** AI fertility: Are we getting the job done? In: NAAB Technical Conference on Artificial Insemination and Reproduction, 17, 1998, Madison, WI. Columbia, MS: National Association of Animal Breeders, 1998. p.6-12.
- Saacke RG.** Sperm morphology: its relevance to compensable and uncompensable traits in semen. *Theriogenology*, v.70, p.473-478, 2008.
- Saacke RG, Dalton JC, Nadir S, Nebel RL, Bame JH.** Relationship of seminal traits and insemination time to



fertilization rate and embryo quality. *Anim Reprod Sci*, v.60/61, p.663-677, 2000.

**Salisbury GW, Vandemark NL, Lodge JR.** *Fisiologia de la reproducción e inseminación artificial de los bovidos*. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1978. 831p.

**Schmidt-Hebbel J, Toniollo GH, Leite FG, Ferraudo AS, Perecin D, Pacoal LJ.** Características físicas e morfológicas de sêmen de touros jovens das raças Gir, Guzerá, Nelore (*Bos taurus indicus*) e Caracu (*Bos taurus taurus*). *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.52, p.461-467, 2000.

**Sironen A, Uimari P, Nagy S, Paku S, Andersson M, Vilkki J.** Knobbed acrosome defect is associated with a region containing the genes STK17b and HECW2 on porcine chromosome 15. *BMC Genomics*, v.11, p.699, 2010.

**Thundathil J, Meyer R, Palasz AT, Barth AD, Mapletoft RJ.** Effect of the knobbed acrosome defect in bovine sperm on IVF and embryo production. *Theriogenology*, v.54, p.921-934, 2000.

**Thundathil J, Palasz AT, Barth AD, Mapletoft RJ.** The use of in vitro fertilization techniques to investigate the fertilizing ability of bovine sperm with proximal cytoplasmic droplets. *Anim Reprod Sci*, v.65, p.181-192, 2001a.

**Thundathil J, Palasz AT, Mapletoft RJ, Barth AD.** An investigation of the fertilizing characteristics of pyriform-shaped bovine spermatozoa. *Anim Reprod Sci*, v.57, p.35-50, 1999.

**Thundathil J, Palomino J, Barth AD, Mapletoft RJ, Barros C.** Fertilizing characteristics of bovine sperm with flattened or indented acrosomes. *Anim Reprod Sci*, v.67, p.231-243, 2001b.

**Vogler CJ, Bame J, DeJarnette JM, McGilliard ML, Saacke RG.** Effects of elevated testicular temperature on morphology characteristics of ejaculated spermatozoa in the bovine. *Theriogenology*, v.40, p.1207-1219, 1993.

**Walters AH, Eyestone WE, Saacke RG, Pearson RE, Gwazdauskas FC.** Bovine embryo development after IVF with spermatozoa having abnormal morphology. *Theriogenology*, v.63, p.1925-1937, 2005.

---