



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**



**RELATÓRIO FINAL DE ESTÁGIO OBRIGATÓRIO  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE  
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**IGOR MATHEUS AMARAL GAUNA ZENTENO**

**Campo Grande – MS**

**2024**

**IGOR MATHEUS AMARAL GAUNA ZENTENO**

**RELATÓRIO FINAL DE ESTÁGIO OBRIGATÓRIO  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE  
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

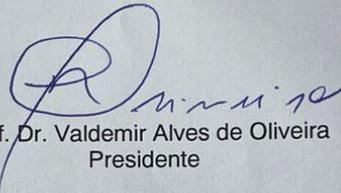
**IGOR MATHEUS AMARAL GAUNA ZENTENO**  
**Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Valdemir Alves de Oliveira**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Medicina Veterinária  
apresentado à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à  
obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

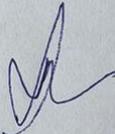
**Campo Grande – MS**  
**2024**

Igor Matheus Amaral Gauna Zenteno

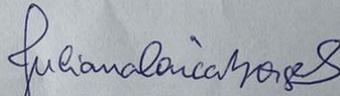
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado em 25 de novembro  
de 2024, e aprovado pela Banca Examinadora:



Prof. Dr. Valdemir Alves de Oliveira  
Presidente



Profª. Drª. Eliane Vianna da Costa e Silva



Drª. Juliana Correa Borges Silva

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família, que sempre me apoiou em minhas decisões, com destaque: Pai Adilson, que sempre trabalhou duro para me dar condições de estudar sem demais preocupações; Mãe Juliana, por sua força e coragem; Titia Ciltres; Irmão Rafael e Vó Maria Ceila que é a matriarca, o alicerce e a referência em minha vida.

À Yasmim Freitas, minha namorada, que durante a reta final do curso de forma estupenda me ajudou e apoiou, com seu carinho, amor e disposição.

À Carolina Buranello, que durante a graduação foi fundamental para meu êxito nas disciplinas, com sua companhia, amizade, carinho e amor.

Aos colegas que me apoiaram e me ajudaram durante a graduação: Victor, Hemilly, Márcia, Amanda e Jota.

Ao Aslan, Bob, Reginaldo e Kátia Flávia por serem ótimos companheiros. E à vida de todos os animais que de alguma forma ajudaram na minha formação como Médico Veterinário.

À professora Auristela, por sua dedicação e carinho na minha alfabetização.

A todos os professores da graduação que me acompanharam durante a trajetória. Sobretudo ao Prof. Valdemir que é minha referência, e levarei seus conhecimentos profissionais e de vida para sempre.

Aos profissionais da Embrapa que abriram as portas e me auxiliaram durante o estágio, com destaque para o Dr. Eriklis Nogueira, por sua paciência e seus ensinamentos.

À equipe da MS Reprodução, por seu apoio e dedicação na minha formação, sobretudo ao Wendell Amaral Nantes de Oliveira e Moisés Máximo Rodrigues Junior.

À Luna, por ser a melhor amiga que eu poderia ter.

## Lista de Siglas e Abreviaturas

ALH	Amplitude de deslocamento lateral da cabeça
BCF	Frequência de cruzamento da cabeça
CASA.	Computer Semen System Analysis
CEPEA.	Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada
CON.	Concentração da amostra
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DEP	Diferença Esperada na Progênie
DG	Diagnóstico de Gestaçã
EA	Exame Andrológico
EMPRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAMEZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IN	Indução de puberdade em novilhas
LIN	Linearidade
MOT	Motilidade Total
MS	Manejo Sanitário
OPU	Aspiração Folicular Guiada por Ultrassom
PI	Peça Intermediária
PIB	Produto Interno Bruto
PO	Puro de Origem
PRO	Motilidade Progressiva
SD	Seleção de Doadoras de Ovócito
STR	Retilinearidade
TCC	Trabalho de Conclusão de Curso
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
VAP	Velocidade Média do Trajeto
VCL	Velocidade Curvilínea
VSL	Velocidade no Trajeto Linear
WOB	Oscilação

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	4
2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS .....	5
2.1 Embrapa Gado de Corte .....	5
2.2 MS Reprodução.....	8
3. CORRELAÇÃO ENTRE CASA, ISPERM® E COMPRIMENTO DA PEÇA INTERMEDIÁRIA NA FERTILIDADE EM TOUROS NELORE .....	13
3.1 Introdução.....	13
3.2 Metodologia .....	15
3.3 Resultados e discussão .....	20
3.4 Conclusão.....	21
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	22
5. REFERÊNCIAS.....	23

## 1. INTRODUÇÃO

O estágio obrigatório é uma disciplina inserida na grade curricular do curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), realizada no 10º semestre. Seu objetivo é inserir o acadêmico nas atividades de rotina do Médico Veterinário, proporcionando a aplicação dos conhecimentos teórico-práticos adquiridos durante a graduação. Para a realização do estágio, a área escolhida foi a de Reprodução Animal, sob orientação do Professor Dr. Valdemir Alves de Oliveira.

A pecuária, especialmente a bovinocultura de corte, destaca-se como uma das principais atividades econômicas do Brasil, contribuindo significativamente para o Produto Interno Bruto (PIB) e gerando milhões de empregos anualmente. Nesse contexto, a Reprodução Animal desempenha um papel fundamental, auxiliando os produtores na seleção de animais geneticamente superiores para características específicas. Além disso, essa área promove uma produção mais sustentável, eficiente e rentável, sempre alinhada ao respeito e dignidade dos animais envolvidos na atividade.

Os locais selecionados para a realização da disciplina foram a Embrapa Gado de Corte e a MS Reprodução. A Embrapa Gado de Corte, uma instituição brasileira de referência, tem como objetivo promover a pesquisa, o desenvolvimento de conhecimentos e a criação de novas tecnologias externas para a agropecuária nacional. Já a MS Reprodução é uma sociedade com fins lucrativos que atua de forma itinerante em diversas propriedades, oferecendo suporte técnico e realizando atividades relacionadas à Reprodução Animal, sob a perspectiva prática da Medicina Veterinária.

A finalidade do presente Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) é descrever os locais de estágio e relatar as atividades desenvolvidas sob supervisão dos médicos veterinários responsáveis. Além disso, propõe apresentar um estudo de correlação entre diferentes métodos de análise computadorizada de sêmen e comprimento da Peça Intermediária na fertilidade em touros Nelore, contribuindo para o entendimento e aprimoramento das técnicas aplicadas na área de Reprodução Animal.

## **2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS**

### **2.1 Embrapa Gado de Corte**

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMPRAPA) foi fundada em 1973 e a unidade descentralizada Gado de Corte, especificamente, foi inaugurada quatro anos depois, em 1977. Localizada na Av. Rádio Maia, 830, Vila Popular, opera de segunda-feira a sexta-feira das 7:30 até 16:30. A unidade possui equipe interdisciplinar que atua em diversas áreas em apoio a pesquisa da pecuária de corte, como por exemplo, em campos experimentais, casas de vegetação, biblioteca, centro de informática e benfeitorias de apoio. Há pesquisas no desenvolvimento de tecnologias, produtos e serviços visando a produtividade da área. Assim, a unidade é dividida em 3 grupos: Grupo de Produção Animal (GPA), Grupo de Sistema de Produção (GPS) e Grupo de Produção Vegetal. O estágio foi efetuado com ênfase na Reprodução Animal, inserido no GPS, destacando-se pela relevância de suas atividades no desenvolvimento tecnológico.

O estágio foi realizado no período de 05/08/2024 a 30/09/2024, totalizando 312 horas, sob supervisão do Pesquisador Dr Erikliis Nogueira, de CRMV 1862-MS, com foco na reprodução de bovinos. As atividades desenvolvidas foram divididas entre o acompanhamento de pesquisas, a rotina em laboratório e a atuação técnica com os animais no curral. A área de Sanidade Animal, especialmente o laboratório de Patologia Clínica e Saúde Animal, onde algumas dessas atividades foram realizadas, dispõe de infraestrutura completa. Incluindo salas destinadas a diversos pesquisadores, laboratórios, refeitório, banheiros e uma câmara fria utilizada para a conservação de material criopreservado (Figura 1). Há também atuação nos rebanhos bovinos que a empresa possui, que servem exclusivamente para o uso experimental, tanto na sede principal, que possui 3087 hectares, quanto no campo experimental Fazenda Modelo, que reside no município de Terenos, com 1612 hectares (Figura 2). Em virtude do contrato de sigilo referente às tecnologias desenvolvidas pela empresa, as atividades realizadas serão descritas de forma geral, garantindo a confidencialidade das informações.



**Figura 1.** Estruturas físicas da EMBRAPA GADO DE CORTE. A) Entrada principal. B) Setor de Sanidade Animal.



**Figura 2.** Vista de cima do Campo Experimental Fazenda Modelo.

**Fonte:** Google Earth (2024).

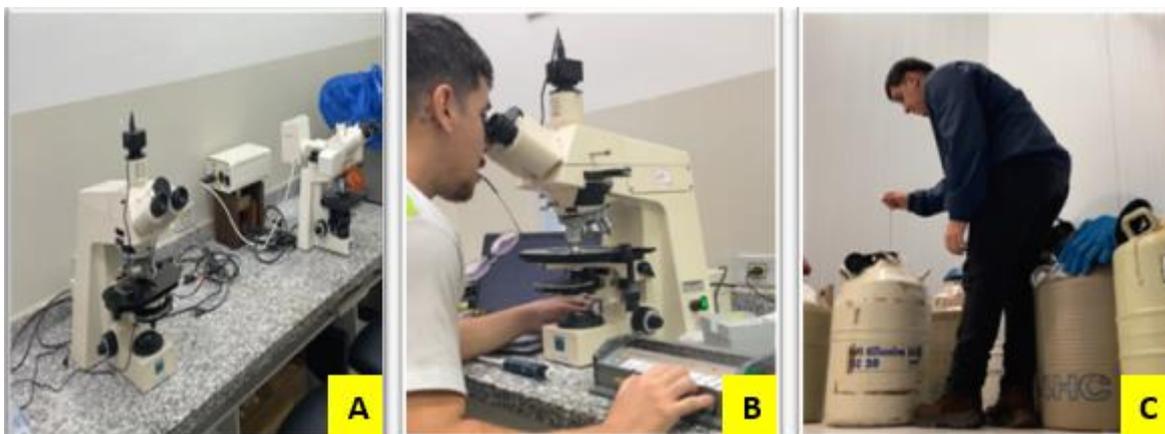
Como o período de realização do estágio não coincidiu com a estação de monta dos rebanhos bovinos — quando as atividades técnicas do médico veterinário no campo são mais intensas —, o foco das atividades foi direcionado para o trabalho em laboratório e o acompanhamento de pesquisas relevantes na área. No setor de Reprodução Animal, há microscópios com contraste de fase para realizar análise morfológica das células reprodutivas do macho, os espermatozoides.

O procedimento denominado preparação úmida consistiu em utilizar uma alíquota de sêmen bovino, previamente diluído em solução formol-salina 10%, e instilar uma gota da amostra em uma lâmina de vidro (BARBOSA et al., 2005). Em seguida, uma lamínula foi posicionada sob o sêmen, espalhando-o uniformemente

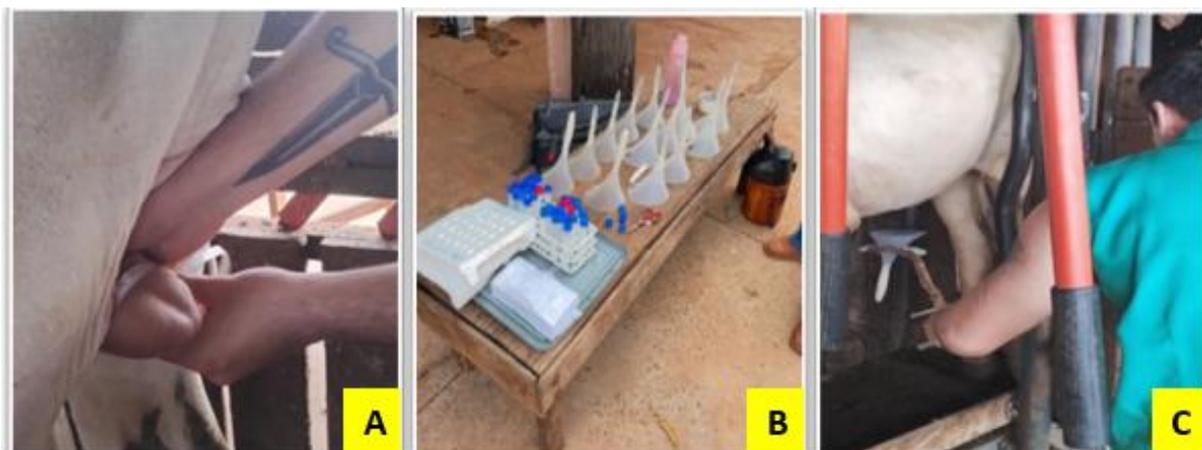
pela lâmina. Ademais, com o aumento de 1000x no microscópio, após instilar uma gota de óleo de imersão, foram analisados os defeitos morfológicos de 100 células e classificadas dentre defeitos maiores e menores, conforme descrito por Bloom (1973). Essa atividade foi realizada periodicamente, utilizando diversas amostras de sêmen, proporcionando ao estagiário a oportunidade de praticar e aprimorar a análise morfológica das células reprodutivas.

O manejo de botijões com nitrogênio líquido também foi realizado afim de selecionar doses de sêmen bovino para utilização em estudos posteriores (Figura 3).

Por fim, foram realizadas práticas técnicas de campo, como a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), Diagnóstico de Gestação (DG) por meio de ultrassonografia e Exame Andrológico de Touros Nelore (Figura 4). Essas atividades proporcionaram uma experiência prática essencial no manejo reprodutivo dos rebanhos, permitindo ao estagiário aplicar os conhecimentos adquiridos durante a graduação e aprimorar suas habilidades técnicas na área.



**Figura 3.** Atividades realizadas na EMBRAPA. A) Microscópio Óptico de contraste de fase; B) Exame de Morfologia Espermática; C) Manejo de Botijão de Nitrogênio.



**Figura 4.** Exame Andrológico. A) Mensuração do Perímetro Escrotal; B) Materiais utilizados na coleta; C) Coleta de sêmen.

## 2.2 MS Reprodução

A MS Reprodução de Bovinos do Mato Grosso do Sul é uma empresa que possui dois sócios proprietários, com sede fixa no endereço Rua Dias Ferreira, 82, Bairro Coophafe, Campo Grande, Mato Grosso do Sul (Figura 5). A equipe conta, além dos proprietários, com mais um médico veterinário e uma secretária. O estágio foi realizado no período de 01/10/2024 a 30/10/2024, sob supervisão do médico veterinário Moisés Máximo Rodrigues Junior, totalizando 144 horas. A sede possui salas para reunião, área de lazer, depósito para materiais e sala de botijão. Embora o foco principal da empresa seja em atividades itinerantes em fazendas no estado, ela também presta serviços em Goiás e no Paraguai. Os procedimentos realizados têm ênfase na área da Reprodução Animal, mas a empresa também oferece suporte em diversas outras áreas, como manejo de equipe, nutrição animal, planejamento e execução de estação de monta, além de áreas que abrangem a bovinocultura de corte. Esse atendimento multidisciplinar visa melhorar a produção e a saúde dos rebanhos, promovendo uma abordagem integrada e eficiente no manejo dos animais.



**Figura 5.** Entrada da Sede da MS Reprodução

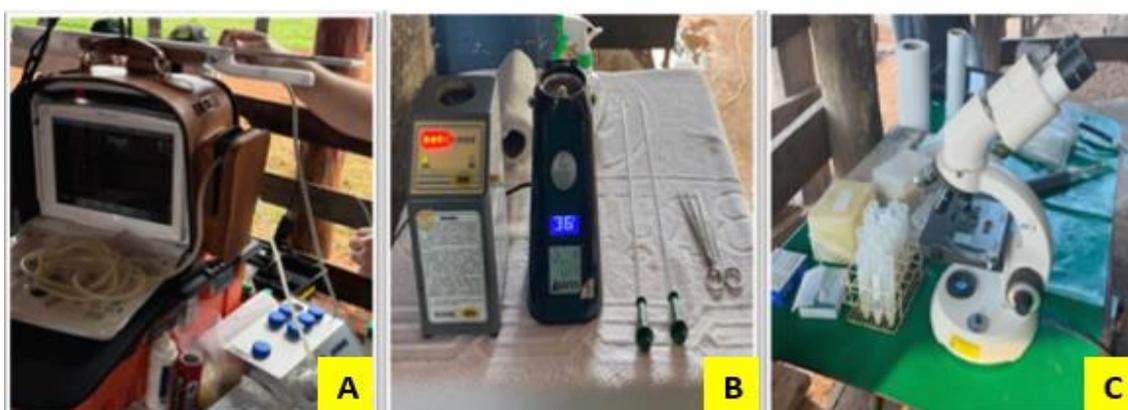
Durante a realização do estágio, foram visitadas sete fazendas, com diversos manejos efetuados durante esse período (Figuras 6 e 7). Dentre as principais atividades, pode-se destacar:

- OPU (Aspiração Folicular Guiada por Ultrassom): Coleta de ovócitos para posterior fertilização in vitro e transferência de embriões;
- IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo): protocolo para sincronizar o ciclo estral das fêmeas, para que todos os animais no lote ovulem ao mesmo tempo e sejam inseminadas nesse período;
- DG (Diagnóstico de Gestação): guiado pela ultrassonografia, para avaliação do número de vacas prenhas ou vazias;
- MS (Manejo Sanitário): Tem como função usar princípios ativos que evitem ou minimizem a proliferação de parasitas, bem como a utilização de vacinas como medida imunoprolática do tipo ativa;
- SD (Seleção de Doadoras de Ovócito): Escolha de fêmeas bovinas geneticamente superiores que apresentem fenótipo para determinada característica de interesse, para posterior aspiração folicular.
- IN (Indução de puberdade em novilhas): Antecipação do início da vida reprodutiva das fêmeas, afim de utilizá-las de forma precoce no rebanho;
- EA (Exame Andrológico): Tem como função avaliar a performance reprodutiva do macho, tanto nas características fenotípicas, quanto na coleta e análise seminal.

No decorrer do estágio, essas atividades foram desenvolvidas em diversas propriedades, sendo representados no quadro 1. A porcentagem de atividades em relação número de animais é representado pela Figura 1.



**Figura 6.** A) Fármacos utilizados no manejo sanitário; B) Inseminação Artificial em novilha.



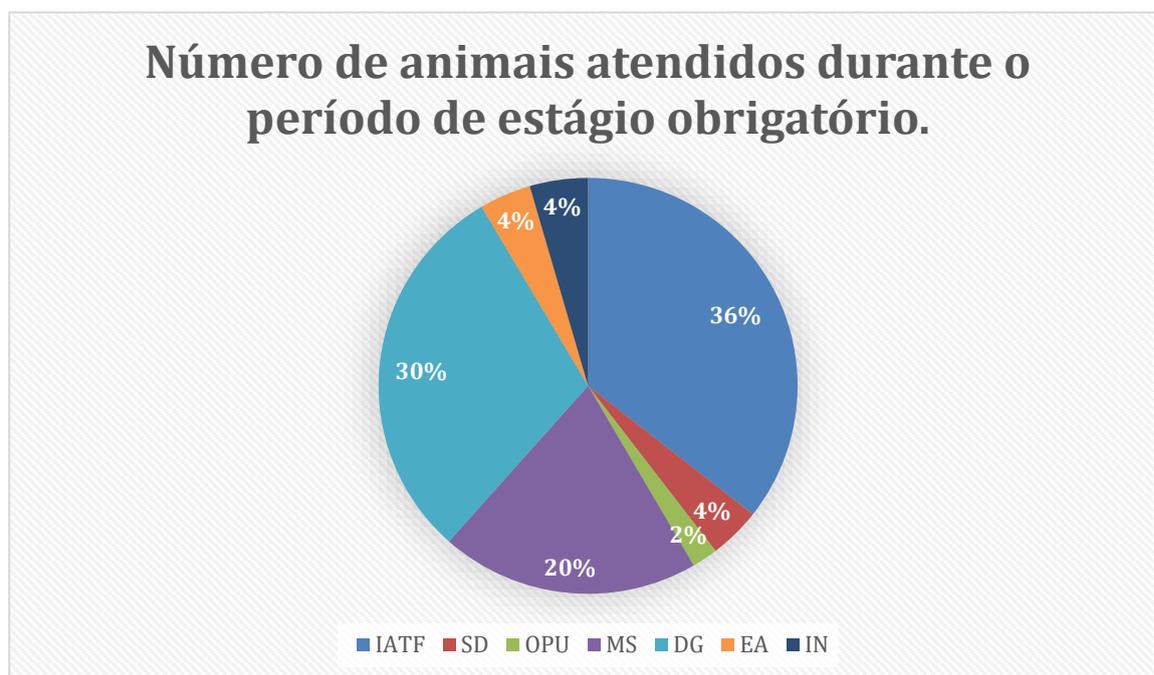
**Figura 7.** Materiais utilizados nas atividades. A) OPU; B) IATF; C) Exame Andrológico.

**Figura 1.** Relação de atividades realizadas nas propriedades visitadas no período de realização de estágio obrigatório na MS Reprodução de Bovinos, no período de 01/10/2024 a 30/10/2024. Campo Grande, 2024.

Propriedade	Atividades Realizadas	Animais Manejados
Águas vivas	DG, EA, MS.	380
Santa Luzia	DG, MS, IATF, IN.	220
Morro Bonito	IATF.	143
Memória	IATF.	170
Nossa Senhora Aparecida	IATF, DG.	120
Figueira	IATF.	240
San Francisco	SD, MS, DG, IN, OPU	240

DG: Diagnóstico de Gestação; EA: Exame Andrológico; IATF: Inseminação Artificial em Tempo Fixo; IN: Indução de Novilhas; OPU: Aspiração Folicular; MS: Manejo Sanitário; SD: Seleção de Doadoras.

**Figura 1.**



Relação entre manejos realizados com a porcentagem de animais tratados. DG: Diagnóstico de Gestação; EA: Exame Andrológico; IATF: Inseminação Artificial em Tempo Fixo; IN: Indução de Novilhas; OPU: Aspiração Folicular; MS: Manejo Sanitário; SD: Seleção de Doadoras.

A atividade com maior significância de realização durante o estágio foi a IATF, representando cerca de 36% dos procedimentos. Embora seja maioria, ainda foram poucas as propriedades que começaram a estação de monta, período onde há maior foco na atividade, visto a menor pluviosidade para a época, quando comparada com os anos anteriores. Isso impacta negativamente no crescimento das forrageiras e, conseqüentemente, na ingestão de matéria natural e no escore corporal das fêmeas, que influencia diretamente nos índices reprodutivos de forma negativa. Esse impacto é maior nas categorias mais exigentes (novilhas precoces, novilhas e primíparas), pois o metabolismo basal dessas fêmeas é maior quando comparada com vacas pluríparas.

Já o Manejo Sanitário e Indução de Novilhas são procedimentos que geralmente ocorrem antes do começo da estação de monta, o que corrobora com o impacto da falta de chuvas, com algumas propriedades adiando o começo do manejo reprodutivo. Outrossim, a Seleção de Doadoras de ovócitos e aspiração folicular foram realizadas em propriedades onde há um maior investimento no melhoramento genético, usualmente na utilização de animais Puro de Origem (PO).

### **3. CORRELAÇÃO ENTRE CASA, ISPERM® E COMPRIMENTO DA PEÇA INTERMEDIÁRIA NA FERTILIDADE EM TOUROS NELORE**

#### **3.1 Introdução.**

A pecuária nacional exerce grande influência tanto no mercado interno quanto externo, sendo um dos principais responsáveis pelo PIB Brasileiro, que atingiu R\$ 801 bilhões no primeiro trimestre de 2024, conforme dados do CEPEA (Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada). Internacionalmente, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) refere que a produção de carne brasileira ocupará a segunda posição no ranking mundial, com uma estimativa de 11,35 milhões de toneladas em 2024, representando um aumento de 7,48% em relação em 2023, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. As exportações Brasileiras de carne alcançam 3,5 milhões de toneladas, um volume que só foi registrado nos anos de 2006 e 2007, segundo a CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento).

Para o crescimento da produtividade bovina, o uso de touros melhoradores é indispensável. Uma das avaliações desses animais é através dos métodos de análise de sêmen, que podem avaliar o potencial reprodutivo do indivíduo (MARIANO, et al., 2015). Existem métodos clássicos e modernos para as avaliações, dentre elas são citáveis as análises físicas do sêmen, como turbilhonamento, motilidade e vigor, bem como a morfologia espermática nos defeitos maiores e menores relacionados com a fertilidade (FONSECA et al., 1991; MARIANO et al., 2015). Esses métodos são utilizados há décadas para a análise de sêmen, contudo os valores podem não refletir a fertilidade a campo desses animais, fazendo necessário o uso de novas técnicas (RIJSSELAERE et al. 2012).

O CASA (Computer Semen System Analysis) é uma combinação entre hardware e software que possui uma câmera com alta resolução acoplada a um microscópio, esse é capaz de avaliar o movimentos das células através dos pixels, de forma dimensional (AMANN; WABERSKI, 2014). Quando comparado à mensuração subjetiva do olho humano, representa um grande avanço na análise de sêmen para a inseminação artificial, sendo um método automatizado e replicável (VERSTEGEN et al., 2002). A utilização do CASA é capaz de obter resultados acerca da motilidade,

cinética celular, morfologia, concentração e viabilidade do sêmen analisado em questão (KATHIRAVAN et al 2011). O método é capaz de analisar objetos a partir da intensidade de pixels e/ou da dispersão da luz, projetando imagens em sequência num detector de variedade, que analisa o movimento, quantidade e morfologia das células (AMANN; KATZ, 2004).

Os principais parâmetros do sêmen analisado pelo CASA são: concentração da amostra (COM em número de espermatozoides por mililitros); motilidade total (MOT) expresso em %; motilidade progressiva (PRO) expresso em %; velocidade média do trajeto (VAP), expresso em micrómetros/segundo; velocidade no trajeto linear (VSL), expresso em micrómetros/segundo; velocidade curvilínea (VCL), expresso em micrómetros/segundo; amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH) expresso em micrómetros; frequência de cruzamento da cabeça (BCF), expresso em hertz; Oscilação (WOB), expresso em %; Retilinearidade (STR), expresso em %; Linearidade (LIN), expresso em % (VERSTEGEN et al., 2002).

O Isperm® R é um modelo de CASA portátil, lançado em 2016, que carrega a sigla mCASA para tal classificação. Advindo de Taiwan, pela empresa Aidmics Biotechnology, o programa utiliza uma câmera de um Ipad Mini para avaliar os parâmetros do sêmen. Assim como CASA tradicional fixo, esse software é capaz de avaliar a motilidade e concentração de uma amostra de sêmen, de forma rápida e com alta replicabilidade (SANTOS, 2023).

O software tem configurações prontas para diferentes espécies, tais como: canídeos, equinos, bovinos, caprinos, cervídeos, murinos, ovinos e aves. Ademais, o aparelho, com tamanho parecido com de um tablet convencional, carrega uma capa para iPad com módulo de lente óptica microscópica, um aquecedor que pode ser acoplado ao módulo, um cabo para o aquecedor, copos coletores, um conjunto de chips onde a amostra é colocada e mantém a alíquota de sêmen, juntamente a leitura do sistema e, por fim, uma fonte de luz para visualização (AIDMICS BIOTECHNOLOGY, 2017).

Assim como os modelos antecessores do CASA, o Isperm® R avalia parâmetros de motilidade, concentração e valores cinéticos, sendo eles: CON (concentração) MOT (motilidade total); PRO (motilidade progressiva); VCL (velocidade curvilínea); VAP (velocidade do trajeto médio); STR (Retilinearidade); LIN (Linearidade). Porém, o sistema não é capaz de avaliar a morfologia espermática, nem a integridade de

membrana das células (SANTOS, 2023).

A avaliação da amostra de sêmen é realizada por meio de captura e análise de quadros projetados na câmera do aparelho. Assim, um vídeo de 7 segundos é captado com um total de 30 quadros por segundo, totalizando 210 quadros, ou seja, 210 imagens avaliadas. As células presentes em cada imagem analisada presentes na região retangular são contadas, e o total é somado no fim dos 7 segundos. O volume não muda, pois, o chip que mantém a amostra possui capacidade máxima de 7 microlitros. Para a análise de motilidade, o manual do dispositivo aconselha diluir a amostra, a depender da espécie analisada, em diferentes alíquotas para melhor visualização das células pelo sistema. Essa diluição, quiçá seja o maior limitante do uso desse software, haja visto que a mínima diferença de alíquota instilada no chip de processamento reflete significativamente no valor dos parâmetros analisados. Bem como a soma dos espermatozoides acontece quadro a quadro, a motilidade é avaliada a partir do movimento dos espermatozoides, determinando aqueles que são móveis ou não, como também a trajetória e velocidade de cada um (SANTOS, 2023).

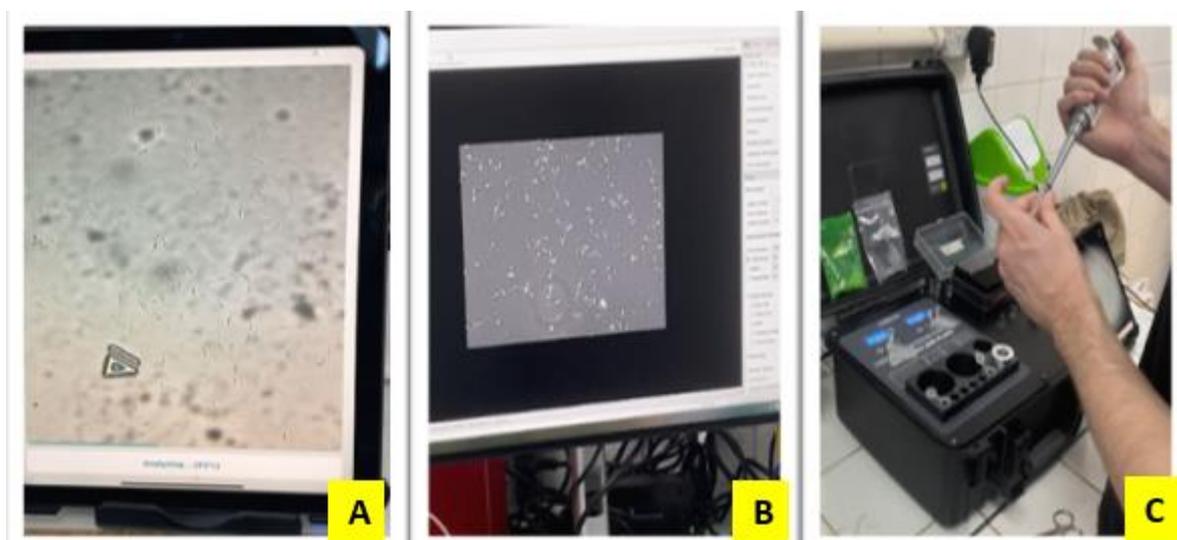
A peça intermediária presente na cauda dos espermatozoides de mamíferos, é responsável por transformar a energia química em mecânica. Esse fenômeno acontece, pois o axonema, uma estrutura formada por 9 duplo-microtúbulos ao redor de um par central, realiza o movimento da cauda do gameta masculino. Uma bainha mitocondrial envolve essa estrutura em forma de hélice, fazendo respiração aeróbica e o movimento de motilidade espermática. Há correlação entre comprimento dessa peça intermediária e o movimento celular (BEDFORD; HOSKINS, 1990; STAUB, JOHNSON, 2018). Em diversas espécies já estudadas, foi comprovado que o tamanho da peça intermediária está associado com a fertilidade (VLADIC et al. 2002; LUPOLD et al., 2008; FIRMAN; SIMMONS, 2010).

Assim, o objetivo desse trabalho foi analisar a correlação entre os parâmetros cinéticos do CASA convencional, o portátil, Isperm® e o tamanho da Peça Intermediária em touros Zebuínos da raça nelore com fertilidade a campo conhecidas através do programa Geneplus.

### **3.2 Metodologia**

Vinte e quatro touros do programa Geneplus foram selecionados a partir do critério de baixa e alta fertilidade, com coleta dos dados de prenhez a IATF (baixa <

40% de prenhez; alta > 55% de prenhez na IATF). Esse banco de dados de fertilidade a campo pertence a um projeto de pesquisa da Embrapa Gado de corte, que coletou informações de centrais de inseminação e empresas de protocolo de IATF, com a seguinte classificação para entrada de touros na pesquisa: animais com o mínimo de 100 IATF, em 3 fazendas diferentes, em 2 categorias de fêmeas. Após isso, os indivíduos eram classificados nas categorias de baixa e alta fertilidade. Em seguida, doses criopreservado de sêmen desses animais foram descongeladas e analisadas concomitantemente tanto no sistema CASA CEROS 2, do biotério da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como no Isperm®. O procedimento consistiu em descongelar as palhetas contendo doses de 0,25ml de sêmen em a 37°C por, 30 segundos. Ademais, foram anotados os touros das amostras, bem como a partida da dose. Após corte da extremidade oposta à bucha da palheta, o conteúdo foi despejado em ependorff previamente catalogado. Uma alíquota de 10microlitros, diluída em 1:8 com Buffer (IMV) foi adicionado tanto ao chip do Isperm®, quanto à placa de análise do CASA CEROS 2. Então, as amostras foram analisadas pelos softwares (Figura 8), e os resultados da média dos grupos de alta e baixa prenhez, para os parâmetros com prefixos ISP (Isperm®) e CASA (Computer Semen System Analysis) são apresentados na tabela 2.



**Figura 8.** A) Isperm analisando amostra de sêmen. B) Monitor do sistema CASA CEROS 2. C) Preparação de amostra para análises nos sistemas computadorizados.

**Tabela 2.** Parâmetros analisados pelos softwares Isperm® e CASA entre os grupos de alta e baixa fertilidade e média percentual de prenhez dos grupos.

<b>Parâmetros</b>	<b>Equipamento</b>	<b>Alta</b>	<b>Baixa</b>
CON	ISP-	27,62	22,00
	CASA-	41,84	43,27
MOT	ISP-	44,46	42,58
	CASA-	44,57	46,26
PRO	ISP-	21,92	20,73
	CASA-	31,55	31,32
VCL	ISP-	175,85	185,17
	CASA-	190,65	220,10
VAP	ISP-	86,15	84,50
	CASA-	103,95	109,70
VSL	ISP-	68,31	63,92
	CASA-	79,15	63,92
LIN	ISP-	37,69	33,50
	CASA-	45,53	39,57
STR	ISP-	73,85	71,17
	CASA-	76,24	71,96
ALH	ISP-	9,96	10,60
	CASA-	9,78	11,48
WOB	ISP-	48,46	45,17

	CASA-	57,76	53,20
BCF	ISP-	24,85	25,10
	CASA-	26,29	24,96

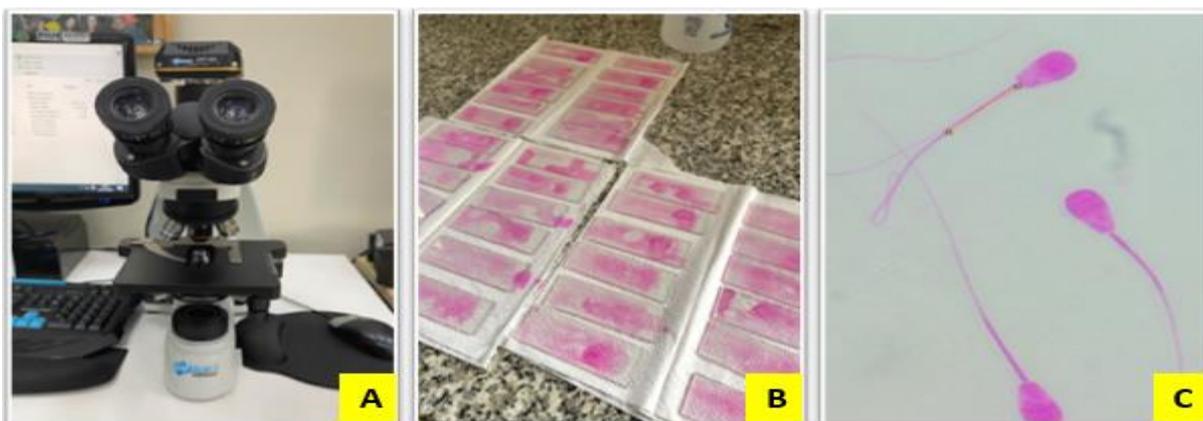
MOT: Motilidade Total; PRO: Motilidade Progressiva; VCL: Velocidade Curvilínea; VAP: Velocidade Média do Trajeto; Velocidade no Trajeto Reto; LIN: Linearidade; STR: Retilinearidade; ALH: Amplitude de Deslocamento Lateral da Cabeça; WOB: Oscilação; BCF: Frequência de Cruzamento da Cabeça.

A visualização da Peça Intermediária (PI) foi realizada posteriormente por meio do método de lâmina corada (Rosa Bengala 1%), com o uso do microscópio de contraste de fase e coleta de imagens Opticam 0500R, juntamente com seu software de visualização acoplado a um monitor (figuras 19 e 20). Ademais, foram realizadas fotografias calibradas de 50 espermatozoides de cada amostra de sêmen dos touros, e medição realizada com software ImageJ, respectivamente (Figura 9). Os resultados de medição em micrômetros das PI nos seguintes parâmetros: Média das Peças Intermediárias (PI-média) das 50 células; desvio padrão (PI-desvio); mínimo (PI-mín) e máximo (PI-máx) são representados na tabela 3.

**Tabela 3.** Resultados da medição das peças intermediárias em micrômetros das 50 células de cada touro, entre os grupos de alta e baixa fertilidade. Campo Grande, 2024.

<b>Parâmetros</b>	<b>Alta</b>	<b>Baixa</b>
PI-média	16,78	16,87
PI-desvio	1,22	1,40
PI-mín	14,03	13,87
PI-máx	19,72	20,17

PI: Peça Intermediária.



**Figura 9.** A) Microscópio Opticam 0500R; B) Lâminas coradas com Rosa Bengala (1%); C) Visualização da Intermediária (reta amarela) no software ImageJ.

A análise estatística foi realizada utilizando o software JAMOV<sup>®</sup>, no qual foram calculados o valor de  $p$  e o coeficiente de correlação de Pearson ( $R$ ). Esses parâmetros são amplamente utilizados para avaliar a aplicabilidade e a precisão das correlações entre dois fatores. Os resultados com correlação entre Isperm<sup>®</sup> e CASA CEROS 2 são representados na tabela 4, e os resultados de correlação entre os softwares e a fertilidade a campo são representados na tabela 5.

**Tabela 4** – Correlação entre parâmetros do Isperm<sup>®</sup> com CASA CEROS 2. Campo Grande, 2024.

Isperm <sup>®</sup>	CASA	Valor de $p$	Valor de $R$
CON	CON	<0,001	0,732
MOT	MOT	0,031	0,431
PRO	PRO	0,003	0,577
LIN	LIN	0,003	0,570
ALH	ALH	0,002	0,691
VCL	VCL	0,015	0,481
WOB	WOB	0,03	0,430
STR	STR	<0,001	0,719
VSL	VSL	0,005	0,542

**Tabela 5.** Correlação entre parâmetros do CASA e fertilidade. Campo Grande, 2024.

		VALOR DE P	Valor de R
CASA-BCF	FERTILIDADE	0,034	0,391

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

### 3.3 Resultados e discussão

Os resultados sugerem que há correlação positiva entre diversos parâmetros do CASA CEROS 2 com o Isperm® (Tabela 4). Poucos são os estudos que correlacionam softwares fixos CASA com mCASA na bovinocultura (SANTOS. 2023). Em canídeos, Bulkeley et al (2021) relataram fortes correlações positivas entre os parâmetros de Motilidade Total e Progressiva, tanto de amostras frescas como criopreservadas, que é validada no presente artigo com amostras criopreservadas. Já nos equídeos, houve correlações positivas em demais análises além da motilidade, como por exemplo, no VCL, VSL E VAP, no qual houve resultados parecidos apenas nos 2 primeiros fatores, respectivamente (MORAES et al. 2019).

Porém, quando analisado com a média de taxa de prenhez o único parâmetro que possui correlação positiva ( $p < 0,05$ ) foi CASA-BCF, que sugere que a frequência de movimento de cabeça do espermatozoide em uma linha reta está intimamente ligada a fertilidade a campo. Esse dado é corroborado pelo estudo de Farrel *et al* (1998), que observaram a relação entre CASA-BCF e a fertilidade de touros ( $r = 0,98$ ). Porém, os dados não sugerem correlação entre Motilidade Total e Progressiva, enquanto a literatura demonstra correlação forte desses parâmetros com fertilidade (GILLAN, et al. 2008; OLIVEIRA, et al. 2013; SINGH et al. 2014; SINGH et al. 2016) tanto em amostras frescas quanto em criopreservadas.

O tamanho médio da Peça Intermediária no presente trabalho se diferiu dos estudos encontrados, sendo um valor superior ao de Gomes et al. (2022), Wiley (2019), Barbosa et al. (1998) e Pandya et al. (1985).

Outrossim, não foi obtido correlação entre o comprimento da peça intermediária com a fertilidade, nem com parâmetros entre os softwares. Isso sugere que a medição desse componente celular não é um parâmetro confiável para correlação com os fatores estudados. Resultado parecidos foram encontrados no estudo Gomes et al. (2022) que não encontraram correlação entre o comprimento da PI com Motilidade Total, não obstante, o comprimento da PI teve correlação com DEPs (Diferença

Esperada na Progênie) reprodutivas. Barbosa et al. (1998), também correlacionaram o comprimento da PI com fertilidade e não encontraram valores significativas. Porém, diversos outros estudos sugerem que há evidências entre o comprimento da PI com seleção de touros melhoradores, segundo Lukefahr; Hohenboken (1981); Mann; Lutwak-Mann (1981) e Roldan; Gomendio (1992), porém as metodologias de medição nos trabalhos foram diferentes.

Essa análise sugere que há uma correlação significativa entre os dois softwares, validando o uso de ambos à medida que for necessária pelo indivíduo.

Entretanto, é notável que apenas a predição dos métodos de análise do sêmen quando correlacionado com a fertilidade a campo não é uma análise validada (SINGH, et al. 2021). Esse argumento pode ser explicado pela alta complexidade que é o evento da concepção, incluindo vários fatores (do sêmen ou não), como por exemplo não existir diluidor *in vitro* que reflita a competência da alta variabilidade que o trato feminino da vaca possui, bem como a imprevisibilidade do erro humano em todos os passos desde a coleta de sêmen, envase, criopreservação, descongelamento e inseminação, quando usados em protocolos de IATF (HUNTER et al. 2011, OLSON et al. 2011, SINGH, et al. 2021). Diversos são os mecanismos que impactam no resultado final da prenhez. Nesse sentido, no que diz respeito ao uso dos métodos a campo, ainda existem motivos que impedem a maior frequência no uso, como o preço, a aplicabilidade na rotina, metodologia da técnica, a diluição as amostras e a interpretação dos parâmetros. Mais estudos são necessários para avaliar a performance desses métodos quando correlacionados com a fertilidade a campo.

### **3.4 Conclusão**

No presente estudo, ambas as análises do Isperm® e do CASA CEROS 2 foram incapazes de prever a fertilidade, uma vez que não houve correlação positiva entre os parâmetros. No entanto, foi relatado correlação entre os parâmetros de ambos os softwares, que valida a aplicabilidade do Isperm® como um CASA portátil com resultados significativos quando comparado com seu antecessor.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O trabalho apresentado anteriormente é oriundo de uma pesquisa em andamento, enriquecendo ainda mais o aprendizado adquirido durante o período de estágio obrigatório. Assim, a elaboração do mesmo foi benéfica para a aplicação prática dos conhecimentos teóricos.

A escolha de dois locais diferentes para sua a realização do estágio proporcionou uma visão ampla e diversificada das abordagens adotadas pelos profissionais acompanhados. Em especial, a comparação entre as particularidades do trabalho em uma empresa estatal e em uma sociedade privada revelou-se uma experiência enriquecedora, permitindo uma compreensão mais profunda das diferentes dinâmicas, desafios e estratégias presentes.

## 5. REFERÊNCIAS

AIDMICS BYOTECHNOLOGY. **iSperm Technical Document Content**. 2017. Disponível em <[https://www.genepro-inc.com/wp-content/uploads/2017/06/iSperm-Technical-Document\\_0302.pdf](https://www.genepro-inc.com/wp-content/uploads/2017/06/iSperm-Technical-Document_0302.pdf)> Acesso em: 10 nov. 2024.

AMANN, R. P.; KATZ, D. F. Reflections on CASA after 25 years. **Journal of Andrology**. v25. p317–25. 2004.

AMANN, R. P.; WABERSKI, D. Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments. **Theriogenology**. v81. p5-17, 2014.

BARBOSA, R. T.; ESPER, C. R.; FREITAS, A. R. Comprimento da peça intermediária de espermatozoides bovinos e suas relações com características do sêmen e fertilidade. 19 de março de 1998.

BARBOSA, R. T.; et al. A importância do exame andrológico. **Circular Técnica**. v41. 2005

BEDFORD, J. M.; HOSKINS, D. D. The mammalian spermatozoon: morphology, biochemistry and physiology. **Lamming, G. E. Marshall's Physiology of Reproduction**. v2. p379-568, 1990.

BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nord. Veterinaermed**. v25, n. 7/8, p. 383-391, 1973.

BULKELEY E; et al. Assessment of an iPad-based sperm motility analyzer for determination of canine sperm motility. **Transl Anim Sci**, v5(2), p1-7, 2021.

Cepea – Centro de estudos avançados em economia aplicada. **PIB do Agronegócio Brasileiro**. 2024. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do->

agronegocio-brasileiro.aspx>. Acesso em: 10 nov 2024.

Conab – Companhia nacional de abastecimento. **Produção recorde de carne bovina garante exportações e aumento na oferta do produto no mercado interno.** 2024. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5637-producao-recorde-de-carne-bovina-garante-exportacoes-e-aumento-na-oferta-do-produto-no-mercado-interno>>. Acesso em 10 nov 2024.

FARRELL, P. B.; et al. Quantification of bull sperm characteristics measured by computer-assisted sperm analysis (CASA) and the relationship to fertility. **Theriogenology**. v9(4), p871–79, 1998.

FIRMAN, R. C.; SIMMONS, L. W. Sperm midpiece length predicts sperm swimming velocity in house mice. **Biology letters**. v6. p513-516, February, 2010.

FONSECA, V. O.; et al. Potencial reprodutivo de touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) em monta natural: proporção touro:vaca 1:40 e fertilidade. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.15, n.1/2, p.103-108, 1991

GILLAN, L.; et al. Assessment of in vitro sperm characteristics in relation to fertility in dairy bulls. **Animal Reproduction Science**, 103 (3-4), 201-14, 2008.

GOMES, I. P.; JUNIOR, J. S. O.; NOGUEIRA, E. Relação entre o comprimento da bainha mitocondrial da cauda dos espermatozoides, fertilidade e características reprodutivas em touros utilizados em inseminação artificial. **REASE**. v8. n10. p4163-4182, out. 2022.

KATHIRAVAN, P.; et al. Objective sperm motion analysis to assess dairy bull fertility using computer-aided system – A review. **Reproduction in Domestic Animals**. v46(1). p165–72, 2011.

LUKEFAHR, S.D.; HOHENBOKEN, W. Characteristics of spermatozoan midpiece length and its relationship with economically important traits in cattle. **Journal of Dairy Science**. v64. n3. p508-512. Mar., 1981.

LUPOLD, S.; et al. Sperm morphology and sperm velocity in passerine Birds. **Proceedings The Royal Society**. v276. p1175-1181. 23 December 2008.

MANN, T.; LUTWAK-MANN, C. **Male reproductive function and semen**. 1981.

MARIANO, R. S. G.; et al. Exame andrológico em bovinos – revisão de literatura. **Nucleus Animalium**. v7. n1. p131-135. 2015.

MORAES, C. R.; Technical Note: The use of Isperm® technology for on-farm measurement of equine sperm motility and concentration. **Transl Anim Sci**. v3(4). p1513-1520. 2019.

OLIVEIRA, L. Z.; et al. Assessment of in vitro sperm characteristics and their importance in the prediction of conception rate in a bovine timed-AI program. **Animal Reproduction Science**. v137(3–4). p145-55. 2013.

PANDYA, D.K.; JOHAR, K.S.; SINGH, A. Study on dimensional characteristics of Jersey bull spermatozoa. **Indian Veterinary Journal**. v62. N6. p494-498. June 1985.

RIJSSELAERE, T.; et al. Computer-assisted sperm analysis in dogs and cats: An update after 20 years. **Reproduction in Domestic Animals**. v47. p204-07. 2012.

SANTOS, R. M. S. **Contribuição do isperm® para o exame andrológico em bovinos de carne**. Universidade de Lisboa. 2023.

SINGH, A. K.; BRAR, P. S.; CHEEMA, R. S. Relationships among frozen-thawed semen fertility, physical parameters, certain routine sperm characteristics and testosterone in breeding Murrah buffalo (*Bubalus bubalis*) bulls. **Veterinary World**. v7(9). p644–51. 2014.

SINGH, A. K.; BRAR, P. S.; CHEEMA, R. S. Relationship between sperm penetration distance in cervical mucus and frozen semen characteristics vis-à-vis buffalo bull fertility. **Indian Journal of Animal Sciences**. v86(12). p1405-08. 2016.

STAUB, C.; JOHNSON, L. Review: Spermatogenesis in the bull. **Animal**. v12. p27–35. 2018.

USDA – Departamento de agricultura dos Estados Unidos. **USDA Agricultural Projections to 2031**. 2022. Disponível em: <<https://www.usda.gov/sites/default/files/documents/USDA-AgriculturalProjections-to-2031.pdf>>. Acesso em: 10 nov 2024.

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN, K. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**. v57. p149-79. 2002.

VLADIC, T. V.; AFZELIUS, B. A.; BRONNIKOV, G. E. Sperm quality as reflected through morphology in salmon alternative life histories. **Biology of reproduction**. v66. p98-105. August, 2002.