

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



CONTRIBUIÇÃO PARA A CARACTERIZAÇÃO ANDROLÓGICA DE OVINOS DA RAÇA  
CAMPANIÇA

AFONSO MANUEL DE SOUSA PALMA NEVES

ORIENTADOR:

Doutor João Nestor das Chagas e Silva

TUTOR:

Dr. Miguel Lança Madeira

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



CONTRIBUIÇÃO PARA A CARACTERIZAÇÃO ANDROLÓGICA DE OVINOS DA RAÇA  
CAMPANIÇA

AFONSO MANUEL DE SOUSA PALMA NEVES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutor Luís Filipe Lopes da Costa

VOGAIS:

Doutora Ana Catarina Belejo Mora Torres

Doutor João Nestor das Chagas e Silva

ORIENTADOR:

Doutor João Nestor das Chagas e Silva

TUTOR:

Dr. Miguel Lança Madeira

## DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA TESE OU DISSERTAÇÃO

Nome:

Alfonso Manuel de Sousa Palma Neto

Título da Tese ou Dissertação:

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2021

Designação do curso de

Mestrado ou de

Doutoramento:

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

Clínica

Produção Animal e Segurança Alimentar

Morfologia e Função

Sanidade Animal

Declaro sob compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de  6 meses,  12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;

\* Indique o motivo do embargo (OBRIGATORIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- 1. É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.**
2. É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
3. DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 3 de Setembro de 2021

(indicar aqui a data da realização das provas públicas)

Assinatura:

Alfonso Palma Neto

## **Agradecimentos**

Começo por agradecer ao Professor Nestor, pela amizade e simpatia. Agradeço por me ter aceitado como seu orientando e toda a formação que me deu, que foi fundamental para a realização desta dissertação.

Ao Dr. Miguel Madeira, como meu tutor, por toda a ajuda, simpatia e acolhimento. Sem tudo isso não seria possível este tema de dissertação.

Ao Dr. Rui Silva por toda a amizade e pelos conhecimentos que me transmitiu, mas sobretudo por ser um exemplo e por mostrar-me o que é ser um médico veterinário com dedicação e paixão pelos bovinos.

À Dra. Marta Rato, pela amizade, simpatia e conselhos.

Ao Eng. Claudino Matos pela ajuda e disponibilidade na análise e tratamento estatístico dos dados recolhidos.

À ACOS, especialmente ao Sr. Paulo Dias que sempre me acompanhou no campo, com toda a disponibilidade e simpatia, e aos seus sócios produtores que se disponibilizaram prontamente para ceder os seus animais para integrarem este estudo.

À Piedade por me ter revisto o texto da dissertação.

A todos os meus amigos, especialmente aqueles que me acompanharam mais de perto nestes anos de faculdade: Manel, Zé, Diogo e Miguel.

À Margarida como melhor amiga, como companheira nesta jornada de estudante de medicina veterinária e como apoio nos momentos mais difíceis destes 6 anos. Sempre disponível para me ajudar, incentivar e ajudar a ser melhor, como pessoa e profissionalmente.

A toda a minha família, que foram muito importantes e um apoio constante.

Ao Manel por todo o carinho e amizade.

À Avó Maria Guerreiro, Avô Palma e Avó Maria da Conceição, que ficaram muito orgulhosos por me verem entrar no curso que sempre desejei e que sempre tiveram orgulho em mim. Infelizmente partiram durante esta jornada, mas que certamente continuarão orgulhosos.

Ao meu pai por toda a ajuda e por toda as palavras de força, conforto e orgulho.

Um obrigado especial à minha mãe, que me apoiou em todos os momentos. Obrigado por todo o carinho e confiança que me passaste todos os dias.

# **Contribuição para a Caracterização Andrológica de Ovinos da Raça Campaniça**

## **Resumo**

O objetivo deste estudo foi o de caracterizar andrológicamente a raça Campaniça de forma a melhorar as características reprodutivas adequadas à idade e, definir caracteres andrológicos importantes na escolha de reprodutores, como o perímetro escrotal, reduzindo-se a possibilidade da transmissão de características não desejadas à descendência.

Os exames andrológicos foram realizados entre janeiro e maio de 2021, englobando 184 carneiros da raça Campaniça, provenientes de 7 explorações diferentes.

Começou-se o exame andrológico pela recolha da história pregressa do animal, seguido do exame físico e ao trato reprodutivo. A recolha de sémen fez-se com recurso à electroejaculação e determinou-se a mobilidade massal, a mobilidade individual e identificaram-se e contabilizaram-se as formas anómalas dos espermatozoides.

O perímetro escrotal médio, excluindo os animais insatisfatórios e questionáveis, foi de 31,70 cm. Relativamente à bolsa escrotal, 81,52% apresentaram a bolsa sem bilobação, enquanto 11,96% a tinham ligeiramente bilobada, 3,80% bilobada e apenas 2,72%, muito bilobada. A forma dos testículos revelou-se, na sua maioria, ovóide (84,68%), enquanto nos restantes 15,32% ela foi globosa.

O volume médio dos ejaculados foi 1,10 mL e a mobilidade massal média foi 3,73, enquanto a individual foi 65,87%. A anisoespermia média foi 6,31%. O grupo etário com mais anomalias foi o de idade inferior a 2 anos, com cerca de 32,94% de anomalias, enquanto o grupo de idade superior a 6 anos revelou o menor valor registado (cerca de 12,94%).

Dos 184 carneiros em estudo, 151 (82,07%) obtiveram ao exame andrológico, uma classificação de satisfatório, 17 (9,24%) uma classificação de questionável e, 16 de insatisfatório (8,70%), segundo os critérios pré-estabelecidos.

Foi registada uma associação significativa entre a condição corporal e o perímetro escrotal ( $p < 0,001$ ) e entre a condição corporal e a vitalidade dos espermatozoides ( $p = 0,048$ ). A mobilidade individual e a anisoespermia ( $p < 0,001$ ) revelaram uma correlação positiva, assim como a forma testicular e a mobilidade individual ( $p = 0,033$ ) e a forma testicular e a vitalidade dos espermatozoides ( $p = 0,029$ ). Foi igualmente observada uma associação significativa entre a idade e a mobilidade individual ( $p < 0,001$ ), bem como a idade e o perímetro escrotal ( $p < 0,001$ ).

## **Palavras-Chave**

Andrológico, Carneiro, Campaniça, Electroejaculação, Perímetro escrotal

## **Contribution to the Andrological Characterization of Campaniça Rams**

### **Abstract**

The objective of this study is to characterize the Campaniça breed andrologically to improve the age-appropriate productive characteristics and, to define important andrological characters in the choice of sires, like a scrotal perimeter, to prevent them from transmitting unwanted characteristics to offspring.

The andrological examinations were performed between January and May 2021, consisting of 184 rams of the Campaniça breed from 7 different farms.

The andrological examination began with the collection of the animal's history, followed by a physical examination and examination of the reproductive tract. Semen collection was done by electroejaculation, and mass and individual motility were determined, and abnormal sperm forms were identified and counted.

The average scrotal circumference, excluding non-approved and questionable animals, was 31,70cm. Regarding the scrotal sac, 81,52% presented the sac without bilocation, while 11,96% slightly bilobated, 3,80% bilobated and only 2,72% very bilobated. Testicular shape was mostly ovoid, 84,68% while 15,32% globose.

The average volume was 1,10 mL, the mass motility, on average, 3,73, while individual 65,87%. The average value of anomalous spermatozoa was 6,31%. The group with the highest number of anomalies was under 2 years of age, accounting for about 32,94% of the alterations, while the group over 6 years of age had the lowest recorded value, about 12,94%.

Of the 184 rams under study, 151 (82,07%) obtained a satisfactory classification at examination, 17 (9,24%) a questionable classification, and 16 unsatisfactory (8,70%), according to the established criteria.

A significant association was observed between body condition and scrotal circumference ( $p < 0,001$ ) and between body condition and sperm vitality ( $p = 0,048$ ). Individual motility and sperm abnormalities ( $p < 0,001$ ) correlated, as did testicular shape and individual motility ( $p = 0,033$ ) and testicular shape and sperm vitality ( $p = 0,029$ ). A significant association was observed between age relates to individual mobility ( $p < 0,001$ ), as well as age and scrotal perimeter ( $p < 0,001$ ).

### **Keywords**

Andrological, Ram, Campaniça, Electroejaculation, Scrotal Perimeter

## Índice Geral

<b>1. Relatório de Estágio</b> .....	1
<b>2. Introdução</b> .....	3
<b>3. Revisão Bibliográfica</b> .....	4
<b>3.1. Breve descrição da Raça Ovina Campaniça</b> .....	4
<b>3.2. Anatomia do aparelho genital do carneiro</b> .....	4
<b>3.2.1. Produção espermática</b> .....	5
<b>3.2.1.1 Bolsa escrotal e testículos</b> .....	5
<b>3.2.1.2 Cordões espermáticos</b> .....	6
<b>3.2.2. Transporte espermático</b> .....	6
<b>3.2.2.1. Sistema de transporte tubular</b> .....	6
<b>3.2.2.2. Ductos deferentes</b> .....	6
<b>3.2.3. Transferência do sémen</b> .....	6
<b>3.2.3.1. Pênis</b> .....	6
<b>3.2.4. Vascularização</b> .....	7
<b>3.2.5. Inervação</b> .....	8
<b>3.2.6. Glândulas acessórias</b> .....	8
<b>3.3. Fisiologia do aparelho genital do carneiro</b> .....	9
<b>3.3.1. Organização do sistema reprodutivo</b> .....	9
<b>3.3.1.1. Ativação do sistema reprodutivo</b> .....	9
<b>3.3.1.2. Sazonalidade</b> .....	10
<b>3.3.1.3. Comportamento sexual do macho</b> .....	11
<b>3.3.2. Espermatogênese</b> .....	11
<b>3.3.2.1. Espermatocitogênese</b> .....	12
<b>3.3.2.3. Espermiogênese</b> .....	12
<b>3.3.2.4. Libertação e maturação dos espermatozoides</b> .....	12
<b>3.4. Exame andrológico do carneiro</b> .....	13
<b>3.4.1. Comportamento reprodutivo: fatores a avaliar</b> .....	13
<b>3.4.1.1. Avaliação da aptidão para a cobrição</b> .....	13
<b>3.4.1.2. Líbido e a capacidade de montar</b> .....	13
<b>3.4.2. Exame físico</b> .....	14
<b>3.4.2.1. Saúde geral</b> .....	14
<b>3.4.2.2. Cabeça e superfície corporal</b> .....	14
<b>3.4.2.3. Tronco</b> .....	15
<b>3.4.2.4. Membros</b> .....	15
<b>3.4.2.5. Condição corporal</b> .....	16
<b>3.4.3. Exploração do aparelho reprodutor do carneiro</b> .....	16
<b>3.4.3.1. Exploração do escroto</b> .....	16

3.4.3.2. Exploração do conteúdo escrotal .....	17
3.4.3.3. Exploração do pênis e do prepúcio .....	19
3.4.4. Obtenção e avaliação do sémen .....	20
3.4.4.1. Recolha de sémen.....	20
3.4.4.2. Avaliação do sémen: análise seminal básica .....	20
3.4.4.2.1. Cor, odor e fluidez .....	21
3.4.4.2.2. Volume .....	21
3.4.4.2.3. Concentração .....	21
3.4.4.2.4. Mobilidade.....	22
3.4.4.2.5. Morfologia .....	23
3.4.4.2.5.1. Anomalias sem consequências na fertilidade .....	24
3.4.4.2.5.2. Anomalias com consequências na fertilidade .....	25
3.4.4.2.5.2.1. Defeitos da cabeça .....	25
3.4.4.2.5.2.2. Defeitos da peça intermédia .....	26
3.4.4.2.5.2.3. Defeitos da cauda .....	28
3.4.4.2.5.2.4. Outras células no ejaculado .....	29
3.4.4.2.5.6. Aberrações na qualidade do sémen.....	29
4. Objetivos do trabalho experimental.....	30
5. Materiais e métodos .....	31
5.1. Caracterização da amostra em estudo .....	31
5.2. Desenho Experimental .....	31
5.2.1. Critérios de inclusão na amostra .....	31
5.2.2. Recolha de dados e processamento.....	31
5.2.3. Exame Andrológico.....	31
5.2.3.1. História Progressiva .....	31
5.2.3.2. Exame Físico .....	32
5.2.3.3. Exame ao Trato Genital .....	33
5.2.3.4. Colheita e Exame de Sémen.....	36
5.2.3.5. Preparação de Amostras.....	38
5.2.3.6. Análise Posterior das Amostras .....	38
5.2.3.7. Classificação .....	39
5.3. Análise estatística.....	40
6. Resultados.....	40
6.1. Idade .....	40
6.2. Condição corporal .....	41
6.3. Avaliação do Trato Reprodutor.....	42
6.3.1. Anomalias físicas no trato reprodutor .....	42
6.3.2. Perímetro escrotal .....	44

6.3.3. Bilobação escrotal.....	44
6.3.4. Forma Testicular.....	44
6.4. Avaliação Seminal .....	44
6.4.1. Avaliação macroscópica.....	44
6.4.2. Avaliação microscópica.....	45
6.4.2.1. Mobilidade .....	45
6.4.2.2. Concentração .....	45
6.4.2.3. Anomalias dos espermatozoides (anisoespermia).....	45
6.5. Classificação dos exames.....	48
6.6. Resultados da segunda colheita.....	49
6.7. Relação entre variáveis .....	49
6.7.1. Mobilidade individual e idade .....	49
6.7.2. Perímetro escrotal e idade.....	50
6.7.3. Condição corporal, qualidade do sémen e perímetro escrotal .....	51
6.7.4. Perímetro escrotal e qualidade do sémen .....	51
6.7.5. Bilobação escrotal e qualidade do sémen.....	51
6.7.6. Forma testicular e qualidade do sémen.....	51
6.7.7. Idade e qualidade do sémen .....	52
6.7.8. Perímetro escrotal e idade.....	52
6.7.9. Anisoespermia e mobilidade individual.....	52
7. Discussão .....	52
7.1. Anamnese e exame físico geral .....	53
7.2. Trato reprodutor.....	54
7.3. Avaliação seminal.....	56
7.4. Resultado dos exames andrológicos .....	58
8. Conclusão.....	60
9. Referências Bibliográficas.....	61
10. Anexos .....	65
Anexo 1 – Folha de registos do exame andrológico.....	65

## **Lista de Figuras**

<b>Figura 1- Anatomia do aparelho genital do carneiro .....</b>	<b>5</b>
<b>Figura 2- Eixo hipotálamo-hipofiso-testicular .....</b>	<b>10</b>
<b>Figura 3- Carneiro com dificuldade de locomoção .....</b>	<b>32</b>
<b>Figura 4- Anomalias no exame físico.....</b>	<b>33</b>
<b>Figura 5- Anomalias no trato genital.....</b>	<b>34</b>
<b>Figura 6- Bilobação da bolsa escrotal .....</b>	<b>35</b>
<b>Figura 7- Carneiro contido em tronco, em decúbito lateral direito, preparado para colheita de sémen .....</b>	<b>36</b>
<b>Figura 8- Análise macroscópica da cor do sémen.....</b>	<b>37</b>
<b>Figura 9- Análise macroscópica da fluidez do sémen .....</b>	<b>38</b>

## **Lista de gráficos**

<b>Gráfico 1- Distribuição dos animais por grupos de idade.....</b>	<b>41</b>
<b>Gráfico 2- Valor médio da CC por grupos de idade .....</b>	<b>42</b>
<b>Gráfico 3- Distribuição dos machos com trato genital normal vs alterado, em função da idade .....</b>	<b>43</b>
<b>Gráfico 4- Distribuição dos machos em função do tipo de anomalias do trato reprodutor.....</b>	<b>43</b>
<b>Gráfico 5- Classificação dos exames andrológicos.....</b>	<b>48</b>
<b>Gráfico 6- Distribuição da mobilidade individual por grupos de idade .....</b>	<b>50</b>
<b>Gráfico 7- Distribuição do perímetro escrotal médio por grupos de idade.....</b>	<b>50</b>

## **Lista de Tabelas**

<b>Tabela 1- Critérios de classificação do exame andrológico.....</b>	<b>40</b>
<b>Tabela 2- Distribuição da forma da bolsa escrotal .....</b>	<b>44</b>
<b>Tabela 3- Distribuição das anomalias espermáticas por escalão etário .....</b>	<b>47</b>
<b>Tabela 4- Distribuição e motivos para a classificação como questionável ou insatisfatório.....</b>	<b>49</b>
<b>Tabela 5- Resultados dos parâmetros avaliados em relação à qualidade de sémen ....</b>	<b>52</b>

## **Lista de Abreviaturas**

**Spz/mL**- Espermatozoides por mililitro

**%**- percentagem

**cm**- Centímetro

**GnRH** - Gonadoliberina

**LH ou ICSH** - Hormona Luteinizante

**FSH** - Hormona Folículo-Estimulante

**°C**- Graus Celsius

**mL**- Mililitro

**ADN** – Ácido desoxirribonucleico

**CASA** – Computer assisted semen analysis

**EUA** - Estados Unidos da América

**CC** - Condição Corporal

**FMV-ULisboa** – Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Lisboa

## 1. Relatório de Estágio

O estágio curricular que deu origem a presente dissertação, teve lugar na Associação de Agricultores do Sul- ACOS, sediada em Beja, sob a supervisão do Dr. Miguel Madeira, com duração de 4 meses (18 semanas), de 01 de janeiro de 2021 a 31 de janeiro de 2021 e de 01 de abril de 2021 a 30 de junho de 2021, totalizando 500 horas.

Este estágio constou na realização de exames andrológicos a carneiros da raça Campaniça. Os resultados obtidos foram utilizados nesta dissertação de mestrado, com o objetivo de poderem vir a ser um contributo para a caracterização andrológica desta raça.

Os exames andrológicos tiveram duas componentes, uma primeira no campo, com a obtenção da história pregressa, exame físico geral do animal, exame ao trato reprodutor, colheita de sémen, análise macroscópica e microscópica do ejaculado. E uma segunda, realizada posteriormente, em ambiente laboratorial, com a determinação da concentração espermática e com a avaliação da vitalidade e da anisoespermia, através da observação de um esfregaço corado com eosina-nigrosina. Por fim, atribuiu-se uma classificação andrológica a cada um dos reprodutores e os resultados comunicados aos respetivos proprietários.

Para além do estágio curricular, foi ainda realizado um estágio extracurricular. Este estágio teve lugar na empresa Vettotal, sediada em São Teotónio, sob a supervisão do Dr. Rui Silva, com duração de 5 meses (21 semanas), de 01 de outubro de 2020 a 31 de dezembro de 2020 e de 01 de fevereiro de 2021 a 31 de março de 2021, totalizando 1450 horas.

Durante este período, 90% de atividade desenvolvida foi na área dos grandes ruminantes, dos quais cerca de 70% com bovinos aleitantes e 30% com bovinos leiteiros. Os restantes 10% do estágio foram na área dos pequenos ruminantes.

Relativamente aos bovinos aleitantes, cerca de 40% do trabalho realizado foi em sanidade animal: ações de erradicação da brucelose, através da colheita de sangue para pesquisa de anticorpos anti-brucélicos, e de rastreio da tuberculose bovina através do teste da intradermotuberculização comparada e testes de pré-movimentação animal. Aquando destas ações, era também frequente a administração de um desparasitante de largo espetro e a vacinação contra *Clostridium spp.* ou outra doença previamente diagnosticada no efetivo em questão.

Os restantes 60% do trabalho consistiram em clínica ambulatória. A maioria dos animais assistidos foram vitelos. Entre as variadas doenças diagnosticadas é de destacar as diarreias neonatais causadas maioritariamente por *Cryptosporidium parvum* e *Escherichia coli* K99, diarreias por coccidioses causadas por *Eimeria spp.*, as onfalites e as doenças respiratórias.

Uma grande parte dos serviços em bovinos aleitantes consistiram em consultas de urgência, maioritariamente partos distócicos, prolapsos uterinos, mamites, pneumonias e metrites. Durante os 5 meses de estágio foram assistidos cerca de 70 partos distócicos. Os problemas mais frequentemente registados em vacas parturientes com dificuldade de parto foram a desproporção feto-materna, torção uterina ou coordenadas fetais anormais. Destes, 90% foram resolvidos com manobras obstétricas através do canal obstétrico, por vezes, com recurso a um extrator obstétrico. Em algumas circunstâncias foi necessário o recurso à cesariana, após uma avaliação obstétrica completa. A maioria dos animais em que ocorreram os partos distócicos eram novilhas.

Relativamente aos bovinos leiteiros, cerca de 60% do trabalho foi controlo reprodutivo por via ecográfica. As vacas podem ser sujeitas a um controlo ecográfico: no período pós-parto, para diagnóstico de gestação precoce (a partir dos 28 dias pós-inseminação) e sua reconfirmação, aos 70 a 100 dias e imediatamente antes do período de secagem.

Os restantes 40% da clínica de bovinos leiteiros passaram por ações de consultadoria, resolução de deslocamentos do abomaso por via cirúrgica, correção de alterações metabólicas e extração de tumores peri-oculares. Por vezes, também foram realizados serviços de podologia, normalmente corte corretivo das úngulas quando existia claudicação, relutância e dor à locomoção.

## **2. Introdução**

O sucesso da produção de ovinos é a criação de borregos e/ou a produção de leite para a indústria e lã. Por isso, 50% do êxito reprodutivo depende do carneiro (Molina et al. 2012). Assim, num rebanho, o número de machos deve ser superior a 2%, ou idealmente a 4% (Mayayo et al. 2012), de forma a assegurar o seu papel fundamental.

Estima-se que entre 3,5 % a 10 % dos machos em cobrição sejam inférteis e cerca de 30%, subférteis (Rivero et al. 2012). Portanto, estes animais apresentam uma elevada importância na fertilidade geral de uma exploração e torna-se fundamental identificar os animais problemáticos e afastá-los da cobrição.

Em Portugal, o principal objetivo produtivo dos criadores de ovinos de aptidão cárnica é a obtenção de borregos. Seja para assegurar a reposição de reprodutores, com uma maior diversidade no momento da escolha, seja para obtenção de borregos para comercialização, os produtores têm que ser eficientes. Como referido por Arrebola-Molina et al. (2020), apenas em um ano após a retirada de carneiros não aprovados no exame andrológico, passou-se de 0,88 borregos/ovelha para 1,32 borregos/ovelha e entregaram-se na cooperativa mais 51% de animais.

Uma vez que a raça Campaniça se trata de uma raça autóctone, cujo efetivo é relativamente pequeno, com muito pouca informação disponível, o papel do macho é fundamental no sucesso da exploração e, conseqüentemente, na conservação deste tipo de animais.

Por tudo isso, há a necessidade de caracterizar andrológicamente a raça Campaniça, melhorar as suas características produtivas, definir andrológicamente a raça por grupo etário, analisar diferenças andrológicas entre diferentes efetivos, definir parâmetros andrológicos importantes na seleção dos reprodutores e, retirar da reprodução animais andrológicamente insatisfatórios, evitando que possam penalizar o processo reprodutivo e produtivo.

### **3. Revisão Bibliográfica**

#### **3.1. Breve descrição da Raça Ovina Campaniça**

A Raça Campaniça é caracterizada por animais de estatura baixa, lã tipo cruzado, membros finos, cara e cabos deslanados (ACOS c2021a). Como principal virtude, os ovinos campaniços apresentam uma notável resistência às condições ambientais menos favoráveis e uma elevada rusticidade, resultante duma seleção quase natural (ACOS c2021b), em que se selecionaram os reprodutores mais resistentes e não necessariamente os mais produtivos (Silva et al. 2020).

No passado, estes animais eram explorados para a tripla função, carne, leite e lã. No entanto, hoje em dia, são criados, sobretudo, na vertente de produção de carne (Silva et al. 2020), em que o tradicional sistema de produção extensivo tem vindo a converter-se num regime mais equilibrado, com recurso à melhoria das pastagens e suplementação alimentar nas épocas de escassez (Silva et al. 2020).

O seu solar de origem é o Campo Branco (Silva et al. 2020), região que compreende os concelhos de Mértola, Almodôvar, Castro Verde e parte do de Ourique (ACOS c2021a). Atualmente, os ovinos desta raça encontram-se distribuídos pelos concelhos de Barrancos, Beja, Castro Verde, Mértola, Serpa, Vidigueira e Loulé (Silva et al. 2020).

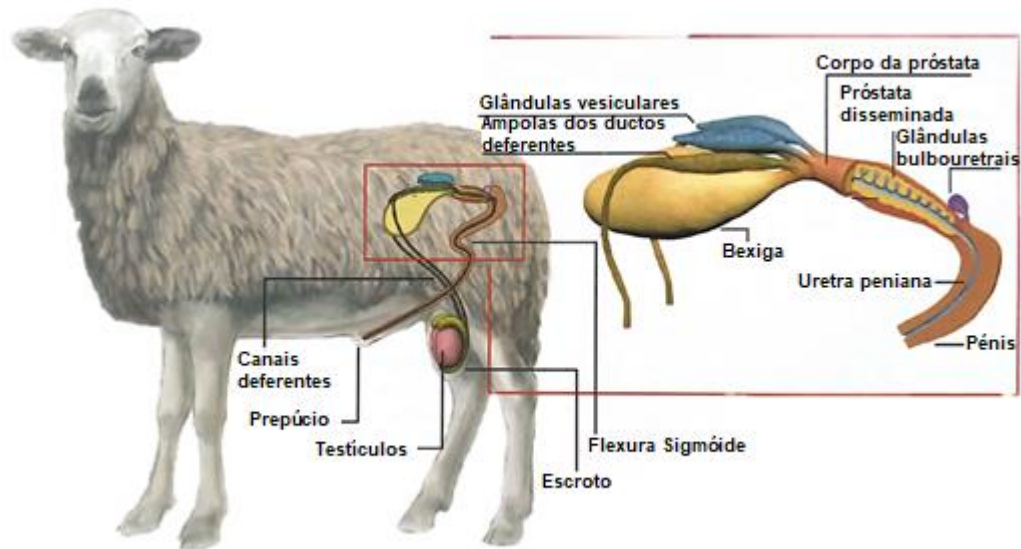
A raça Campaniça apresenta uma fertilidade global de 97,1% e uma prolificidade de 1,04. Os borregos nascem com um peso médio de 2,65 Kg, apresentam um peso ajustado aos 60 dias em cerca de 12,35 Kg e um ganho médio diário de 157 g (Matos 2012).

O Livro Genealógico foi criado pela Direção Geral dos Serviços Pecuários em 6 de novembro de 1987, quando foram inscritos 1.616 animais (ACOS c2021b) e hoje, encontra-se sob a responsabilidade da Associação de Agricultores do Sul (ACOS) (Silva et al. 2020). Presentemente, tem cerca de 10.000 animais inscritos.

#### **3.2. Anatomia do aparelho genital do carneiro**

Anatomicamente, o aparelho reprodutor pode dividir-se em estruturas externas, ou seja, palpáveis e, em estruturas internas, não palpáveis (Figura 1). As estruturas externas são o escroto, testículos, epidídimo, parte do ducto deferente, a porção livre do pénis e prepúcio. As estruturas internas correspondem à porção abdominal dos ductos deferentes, as ampolas do ducto deferente, as glândulas anexas, como, as glândulas vesiculares, as glândulas bulbouretrais e a próstata disseminada, a uretra pélvica e a porção pélvica do pénis (Antón et al. 2012a).

O sistema reprodutor masculino também pode dividir-se por grupos de componentes funcionais, como a produção, o transporte e a transferência de espermatozoides (Nabors and Linford 2015).



**Figura 1- Anatomia do aparelho genital do carneiro** (Adaptado de Antón et al. 2012a)

### **3.2.1. Produção espermática**

O parênquima testicular é responsável pela produção de células germinativas, de espermatozoides e pela produção de hormonas esteroides (Antón et al. 2012a). Ele está dividido em lóbulos que contêm os túbulos seminíferos que, por sua vez, possuem as espermatogónias, a partir das quais se desenvolvem as células espermáticas maduras e, as células de Sertoli que lhes dão suporte (Nabors and Linford 2015). Já as células de Leydig, localizadas no espaço intersticial, são responsáveis pela produção de testosterona (Antón et al. 2012a).

#### **3.2.1.1 Bolsa escrotal e testículos**

Os testículos encontram-se localizados numa bolsa escrotal bilobada, situada na região inguinal, que tem função de proteção e desempenha um papel fundamental na termorregulação testicular (Antón et al. 2012a). Ela é composta por várias camadas, sendo a mais externa constituída pela pele, e internamente, pela túnica dartos, fáschia perineal superficial, fáschia espermática externa, fáschia cremastérica, fáschia espermática interna, e túnica vaginal parietal (Nabors and Linford 2015). Os testículos são, externamente, compostos pela túnica vaginal visceral, que é a camada mais interna da túnica vaginal, que faz parte do peritoneu, e pela túnica albugínea, que é uma cápsula fibrosa que reveste o testículo e que mantém o conteúdo testicular sob pressão (Nabors and Linford 2015). Esta, internamente, forma os septos de tecido conjuntivo que dividem os testículos em lóbulos (Mansour et al. 2018). O espaço entre os folhetos da túnica vaginal, a cavidade vaginal, tem um papel importante na regulação da temperatura testicular (Nabors and Linford 2015), por

permitir a elevação das gónadas para junto do corpo ou o afastamento, através da contração ou relaxamento da túnica dartos e do músculo cremáster (Mansour et al. 2018).

### **3.2.1.2. Cordões espermáticos**

Do cordão espermático fazem parte a porção inguinal do ducto deferente, os vasos sanguíneos e linfáticos e os nervos que enervam os testículos e epidídimos (Mansour et al. 2018).

### **3.2.2. Transporte espermático**

Os espermatozoides são transportados dos testículos, através de um sistema tubular composto, pelos túbulos seminíferos, rete testis, ductos eferentes, epidídimos, ductos deferentes e uretra (Mansour et al. 2018).

#### **3.2.2.1. Sistema de transporte tubular**

A espermatogénese ocorre nos túbulos seminíferos contornados (Fails and Magee 2018). Após terminar a espermiogénese, os espermatozoides seguem para os túbulos seminíferos retos e, posteriormente, para a rete testis (Nabors and Linford 2015). Esta, localizada dentro do mediastino testicular, liga os túbulos seminíferos aos ductos eferentes, que saem dos testículos no polo dorsal (Nabors and Linford 2015). De seguida, os espermatozoides seguem pelos epidídimos, que se dividem anatomicamente em cabeça, corpo e cauda e, funcionalmente, em região proximal, onde ocorre a maturação espermática, e região distal, onde ocorre o armazenamento dos espermatozoides maduros (Parkinson 2019).

#### **3.2.2.2. Ductos deferentes**

O ducto deferente é a continuação da cauda do epidídimo. Entra na cavidade abdominal através do canal inguinal, atravessa o ligamento lateral da bexiga, alarga-se na ampola e termina no colliculus seminalis da uretra (Nabors and Linford 2015).

### **3.2.3. Transferência do sémen**

A transferência dos espermatozoides é conseguida pelo processo de intromissão (cópula), que requer a ereção do pénis e a ejaculação (Nabors and Linford 2015).

#### **3.2.3.1. Pénis**

O pénis, com cerca de 40 cm de comprimento (Antón et al. 2012a), pode ser dividido em raiz, corpo e glande (Nabors and Linford 2015). A raiz tem como origem os músculos

penianos e o tecido erétil do corpo cavernoso, que constitui a maioria do pênis, sendo composta por duas estruturas emparelhadas, que se originam separadamente de cada lado do arco isquiático, medialmente à tuberosidade isquiática. Ventralmente e rodeando a uretra, encontra-se o corpo esponjoso (Nabors and Linford 2015). O tecido erétil é coberto, externamente, pela túnica albugínea, um invólucro denso, com uma camada circular interna e uma camada longitudinal externa de fibras compostas por células cartilaginárias (Habel and Budras 2003).

Caudalmente à raiz, o pênis é composto pelos músculos isquiocavernoso, bulboesponjoso e retrator do pênis. Durante a ereção, o músculo isquiocavernoso contrai-se empurrando o sangue para o corpo do pênis e as fibras musculares do bulboesponjoso, que correm transversalmente, fazem a propulsão do sêmen através da uretra (Nabors and Linford 2015). Os músculos retratores do pênis estendem-se das vértebras coccígeas e do esfíncter anal interno até ao corpo do pênis, que apresenta forma de “S”, distalmente à flexura sigmoide e relaxam durante a ereção, permitindo que o pênis se distenda e exteriorize (Antón et al. 2012a).

A glândula é a região terminal do pênis, em que a uretra, na sua porção final, se projeta cerca de 3 a 4 cm, formando o processo uretral, também apelidado de apêndice vermiforme (Sisson 1986).

O prepúcio é composto por uma prega interna e uma externa. Esta última é uma prega da pele com pelo, ligada ao abdómen ventral que termina no orifício prepucial (Antón et al. 2012a).

#### **3.2.4. Vascularização**

Para que ocorra ereção, ejaculação e manutenção dos tecidos é necessário um fornecimento adequado de sangue ao pênis e músculos, o que é conseguido através da artéria ilíaca interna, que é uma continuação direta da aorta abdominal, na entrada da cavidade pélvica (Nabors and Linford 2015).

Diversos ramos da artéria ilíaca interna irrigam diferentes tecidos. A artéria umbilical fornece sangue ao ducto deferente e à bexiga, enquanto a artéria prostática irriga a próstata, glândulas vesiculares, ducto deferente, uréter e uretra. Mais caudalmente, ela divide-se em artéria glútea caudal e artéria pudenda interna e, posteriormente, em artéria perineal ventral, artéria uretral e continua como artéria peniana, da qual deriva a artéria do bulbo do pênis que irriga o músculo bulboesponjoso e os espaços cavernosos do corpo esponjoso (Nabors and Linford 2015). Da artéria peniana deriva também o ramo da artéria profunda do pênis, que irriga o corpo cavernoso. Após ramificar-se, a artéria peniana continua como artéria dorsal do pênis que passa dorsalmente ao pênis em direção à glândula e ao prepúcio (Nabors and Linford 2015).

Os testículos são irrigados pelas artérias testiculares (Fails and Magee 2018), um ramo da aorta abdominal que surge caudalmente às artérias renais (Nabors and Linford 2015). Estas atravessam a parede abdominal lateral e passam ventralmente através do canal inguinal. No seu percurso descendente, ao aproximarem-se do testículo começam a espiralar juntamente com o plexo pampiniforme da veia testicular formando o cone vascular, essencial na termorregulação testicular (Antón et al. 2012a).

O sistema venoso apresenta-se, por norma, paralelamente às artérias correspondentes (Habel and Budras 2003), exceto as seguintes. A divisão terminal da veia cava caudal nas veias ilíacas comuns ocorre ao nível da primeira vértebra sagrada. A veia sagrada mediana provém da veia cava caudal, e a veia ilíaca circunflexa profunda provém da veia ilíaca comum. A veia ilíaca comum esquerda emite a veia testicular esquerda. Medialmente ao ílio, a veia ilíaca comum divide-se em veias ilíacas externas e internas. Pouco antes da sua entrada no triângulo femoral, a veia ilíaca externa emite a veia pudendoepigástrica. A veia ilíaca interna emite a veia obturadora. Por fim, a veia do ducto deferente provém da veia prostática.

### **3.2.5. Inervação**

O nervo pudendo e os seus ramos são responsáveis pelo suprimento nervoso do trato reprodutor. Ao nível da fossa isquiorretal, divide-se nos ramos prepucial, escrotal e nervo dorsal do pénis (Nabors and Linford 2015). Os testículos e epidídimos são enervados pelo nervo testicular (Fayrer-Hosken 1997).

### **3.2.6. Glândulas acessórias**

As glândulas acessórias incluem as glândulas vesiculares, as ampolas dos ductos deferentes, a próstata disseminada e as glândulas bulbouretrais (Antón et al. 2012a). As suas secreções formam o plasma seminal, que dará volume e fluidez ao ejaculado, formando um meio que serve para o transporte e nutrição dos espermatozoides (Antón et al. 2012a).

As glândulas vesiculares são lobuladas, com cerca de 4 cm de comprimento e 2 cm de espessura e encontram-se localizadas dorsalmente, junto ao colo da bexiga, e produzem um fluido amarelado que compõe cerca de 50% do ejaculado (Antón et al. 2012a). A próstata é rudimentar (disseminada) e situa-se caudalmente ao colo da bexiga, produzindo um pequeno volume de uma secreção rica em sais minerais e enzimas (Antón et al. 2012a). As glândulas bulbouretrais, muito pequenas, com cerca de 1,5 cm de comprimento e 1cm de largura, encontram-se junto à uretra sobre o músculo bulbocavernoso e segregam um fluido claro, com função lubrificante que permite a limpeza da uretra (Antón et al. 2012a).

### **3.3. Fisiologia do aparelho genital do carneiro**

Uma plena compreensão da fisiologia reprodutiva do carneiro constitui a base para as abordagens práticas de gestão de um programa de reprodução e de melhoria da eficiência reprodutiva (Fitzgerald and Morgan 2007).

#### **3.3.1. Organização do sistema reprodutivo**

Durante a vida intrauterina, a organização sexual do tecido nervoso ocorre sob a influência dos testículos que estimulam o desenvolvimento do hipotálamo que, por sua vez, produz e segrega a gonadoliberina (GnRH) e induz o desenvolvimento de regiões cerebrais, envolvidas no comportamento sexual.

A GnRH desempenha um papel fulcral na reprodução. Induz a secreção da hormona luteinizante (LH) e da hormona folículo-estimulante (FSH) a partir da adeno-hipófise (Fitzgerald and Morgan 2007), que estão envolvidas na função testicular. A testosterona testicular fetal, segregada durante a fase final do desenvolvimento embrionário, organiza os neurónios hipotalâmicos e extra-hipotalâmicos associados à expressão do comportamento sexual do carneiro adulto (Fitzgerald and Morgan 2007).

A competência reprodutiva e a fertilidade nos carneiros, dependem da migração dos testículos para o escroto por volta dos 80 dias de gestação (Parkinson 2019), onde atingem a plena maturação e, quando em idade reprodutiva, os espermatozoides adquirem potencial fertilizante (Fitzgerald and Morgan 2007). No entanto, essa migração não é indispensável à função endócrina dos testículos.

##### **3.3.1.1. Ativação do sistema reprodutivo**

O desencadear da puberdade é marcado pelo início da produção de espermatozoides e do comportamento sexual. Ocorre, em média, por volta dos 6 meses e com cerca de dois terços do peso vivo de adulto (Antón et al. 2012a), dependendo um pouco da raça e da época de nascimento (Fitzgerald and Morgan 2007). Nos climas temperados, os borregos nascidos na primavera, revelam um tamanho testicular superior aos nascidos no outono (Fitzgerald and Morgan 2007) e, conseqüentemente, uma ativação mais precoce do sistema reprodutivo (Lea and England 2018).

O início da atividade sexual começa com o funcionamento do eixo hipotalâmico-hipofiso-testicular (Fitzgerald and Morgan 2007). O hipotálamo produz GnRH que estimula a produção de FSH e LH (adeno-hipófise) (Antón et al. 2012a). A FSH atua sobre os túbulos seminíferos e estimula a espermatogénese. Por sua vez, as células de Sertoli produzem inibina, que tem um efeito de retroação negativa sobre a secreção de FSH (Antón et al.

2012a). A LH (ou ICSH) atua sobre as células de Leydig, regulando a secreção de testosterona (Figura 2).

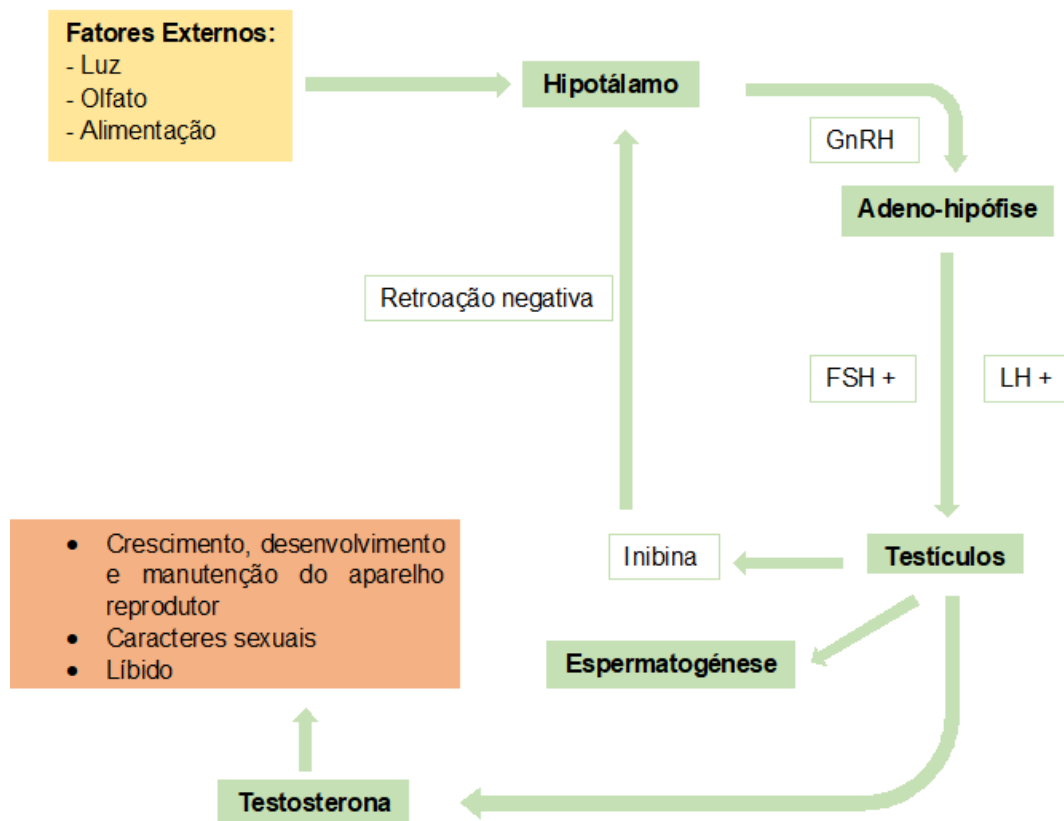


Figura 2- Eixo hipotálamo-hipofisário-testicular (Adaptado de Antón et al. 2012a)

### 3.3.1.2. Sazonalidade

O tamanho testicular, a produção espermática, a qualidade dos ejaculados, assim como o comportamento de acasalamento (a libido) variam de acordo com a estação do ano. Aumentam no final do verão e outono (época de cobrição) e apresentam níveis mínimos no inverno (Antón et al. 2012a). Isto garante que, em condições naturais, os borregos nasçam na época mais favorável do ano (Fitzgerald and Morgan 2007).

A época de cobrição é regulada pelo fotoperíodo (Abecia et al. 2015). Na transição de dias longos para curtos, o hipotálamo torna-se mais ativo, aumentando a secreção de GnRH que, por sua vez, induz um aumento das concentrações sanguíneas de LH e FSH. Fora da época natural de cobrição, há uma inibição da liberação de GnRH e, conseqüentemente, de LH e FSH. Este processo deve-se à retroação negativa da testosterona testicular (Antón et al. 2012a).

A melatonina é pois, responsável pela alteração sazonal da sensibilidade do hipotálamo à testosterona (Fitzgerald and Morgan 2007). A epífise ao produzir melatonina, durante a noite, exerce um efeito estimulante sobre a secreção de GnRH (Satta et al. 2018).

Por outro lado, os dias de fotoperíodo crescente inibem a produção de melatonina. No entanto, os dias curtos favorecem a sua síntese. Assim, no outono, a concentração de melatonina sanguínea é elevada ao longo de uma parte mais longa do dia (Fitzgerald and Morgan 2007).

De referir que os machos são menos sensíveis que as fêmeas a este calendário e os estímulos, para início da atividade sexual, começam cerca de mês a mês e meio antes das fêmeas, de forma a eles estarem plenamente ativos quando as ovelhas começam a ciclar (Antón et al. 2012a).

### **3.3.1.3. Comportamento sexual do macho**

O desencadear do comportamento sexual ocorre, nos borregos, associado à puberdade e sazonalmente, no carneiro adulto. Este comportamento começa a ser observado na altura do desmame e varia consoante a estação do ano. É menos frequente e intenso em contra-estação e em períodos durante os quais as ovelhas se encontram, naturalmente, em anestro. Isto pode dever-se às diferentes concentrações sanguíneas de gonadotrofinas e ao número de recetores nervosos para o estradiol (Fitzgerald and Morgan 2007).

### **3.3.2. Espermatogénese**

A espermatogénese é dividida em espermatocitogénese e espermiogénese (Fayrer-Hosken 1997). A espermatocitogénese é todo o processo que leva à formação de espermatídios a partir da espermatogónia, enquanto a espermiogénese consiste na formação dos espermatozoides a partir dos espermatídios (Fayrer-Hosken 1997). Nos carneiros, este processo dura cerca de 48 a 50 dias (Antón et al. 2012a).

Durante o desenvolvimento embrionário, as células germinais primordiais migram para os testículos embrionários, onde são sujeitas a divisões mitóticas para dar origem aos gonócitos. Mesmo antes da puberdade, os gonócitos diferenciam-se em espermatogónias (Ryan 2015).

A espermatogénese, no interior dos túbulos seminíferos, passa por três fases distintas: a espermatocitogénese, a meiose e a espermiogénese (Parkinson 2019).

As secções transversais, ao longo do comprimento dos túbulos seminíferos, têm diferentes aparências morfológicas. Todavia, numa determinada secção, a atividade celular é semelhante (Parkinson 2019).

### **3.3.2.1. Espermatocitogénese**

Sendo a primeira etapa, trata-se de uma fase proliferativa em que a espermatogónia sofre divisões mitóticas para formar espermatócitos primários (Ryan 2015). Durante este processo, é mantido um suporte de células germinais, que irá proporcionar as novas gerações de espermatogónias (Parkinson 2019).

A segunda etapa é a da meiose, em que os espermatócitos primários ( $4n$ ) originam espermatócitos secundários diploides ( $2n$ ), concluindo-se com a divisão final com os espermatócitos redondos haploides ( $n$ ) (Ryan 2015). Este processo meiótico não só reduz para metade o número de cromossomas nos espermatócitos, mas também assegura a diversidade genética através da replicação do ADN e do crossing-over, obtendo-se geneticamente, espermatozóides únicos (Ryan 2015).

### **3.3.2.3. Espermiogénese**

A etapa final da espermatogénese é a espermiogénese, quando ocorre a diferenciação dos espermatídios haploides redondos, no compartimento adluminal, entre as células Sertoli (Parkinson 2019), por via de alterações metamórficas, para a formação dos espermatozoides alongados e flagelados (Ryan 2015).

Esta diferenciação tem quatro fases, nomeadamente, a fase de Golgi, a fase de cobertura, a fase acrossomal e a fase de maturação (Ryan 2015). Durante a fase de Golgi, pequenas vesículas de Golgi, presentes no citoplasma do espermatídio, juntam-se para formar uma outra maior ligada à membrana - o acrossoma, que contém várias enzimas (Parkinson 2019). Com a diferenciação, o acrossoma achatado começa a migrar para dar origem a uma cobertura sobre um terço do núcleo da célula (Ryan 2015). Ao mesmo tempo, o núcleo e o citoplasma sofrem um alongamento e o núcleo começa a ocupar a região da cabeça do espermatídio. A peça intermédia e a cauda formam-se, iniciando assim, a fase de maturação. No citoplasma, as mitocôndrias migram para formar uma espiral em torno do flagelo, posteriormente ao núcleo, definindo a peça intermédia (Ryan 2015). O flagelo tem origem no centríolo distal, que forma o axonema. Este último liga-se à base do núcleo e estende-se através da peça central, continuando a formar a peça principal ou cauda (Parkinson 2019). Durante a formação desta, encontramos uma gota citoplasmática na peça intermédia. Uma vez terminada a metamorfose, o espermatídio flagelado e alongado é, então, apelidado de espermatozoide (Ryan 2015).

### **3.3.2.4. Libertação e maturação dos espermatozoides**

Depois de terminada a espermatogénese, as células sexuais masculinas emergem do compartimento adluminal e são libertadas no lúmen dos túbulos seminíferos (Parkinson

2019). Durante o processo de migração através da rete testis e do epidídimo e, finalmente com a ejaculação, os espermatozoides libertam as suas gotas citoplasmáticas (Ryan 2015). Porém, antes de serem capazes de fertilizar, devem ser sujeitos a uma maturação adicional no epidídimo. A capacitação, a fase final da maturação quando os espermatozoides adquirem finalmente, a capacidade de penetrar na zona pelúcida, ocorre no trato reprodutivo feminino (Ryan 2015).

### **3.4. Exame andrológico do carneiro**

#### **3.4.1. Comportamento reprodutivo: fatores a avaliar**

Do exame de rotina fazem parte o exame físico do macho, a avaliação da capacidade de produção de sémen e a avaliação da qualidade do sémen. No entanto, a avaliação da libido e/ou a capacidade de cópula não são, muitas vezes, avaliadas (Koziol and Armstrong 2018a). Para que ocorra a fecundação de um oócito, é essencial que o carneiro tenha interesse na fêmea e que seja capaz de completar o salto com o encobrimento, intromissão e, por fim, a ejaculação (Antón et al. 2012a).

##### **3.4.1.1. Avaliação da aptidão para a cobrição**

A avaliação da aptidão para a cobrição, em pastagem, é a forma mais correta de apreciação deste parâmetro. Porém, pode tornar-se complicado em virtude da extensão do terreno. O processo torna-se mais fácil quando uma fêmea está em estro, numa área confinada e, então, deve observar-se a ereção e a cópula completas, a destreza na localização da vulva, a penetração, assim como o movimento ejaculatório. Deste modo, podem ser detetadas determinadas anomalias como, problemas de ereção, desvios penianos ou lesões nervosas (Koziol and Armstrong 2018a).

##### **3.4.1.2. Líbido e a capacidade de montar**

A libido, a disponibilidade, a capacidade e a destreza do macho em montar, afeta o número de fêmeas cobertas. Sendo a libido uma característica hereditária, é importante determinar quando há problemas (Koziol and Armstrong 2018a).

Para a sua avaliação, deve expor-se o animal a uma fêmea em estro, durante 20 minutos, e observar e registar o seu comportamento, como cheirar a região genital da ovelha, aquisição de postura de cabeça levantada e lábio superior retraído - o “flehmen” (Antón et al. 2012a). Pode seguir-se uma aproximação lateral da fêmea, que pode ser acompanhada por vocalizações (Antón et al. 2012a). Um macho hábil será capaz de montar a ovelha, introduzir o pénis na vagina e ejacular, com um movimento lombar brusco, em cerca de 10-20 segundos (Antón et al. 2012a). Em seguida, rapidamente desmonta a

ovelha, seguindo-se um curto período de desinteresse – pausa refratária. Posteriormente, procura outra ovelha em cio ou volta a montar a mesma ovelha (Antón et al. 2012a).

### **3.4.2. Exame físico**

#### **3.4.2.1. Saúde geral**

Anomalias nos olhos, membros, escroto, testículos, na genitália interna ou externa, podem ter um impacto muito significativo na capacidade de montar e, por isso, na performance reprodutiva de um carneiro (Hérendez et al. 2012). O exame andrológico de rotina deve incluir um exame à saúde geral, tendo em consideração a condição corporal (CC), a harmonia da locomoção e o aspeto das fezes (Koziol and Armstrong 2018b).

A primeira avaliação do animal passa por observar o animal no seu meio, sem interferência do homem e num ambiente livre de stress. Os carneiros devem revelar-se em alerta, movimentarem-se livremente, apresentar um velo uniforme e sem zonas de alopecia, e a alimentarem-se ou a ruminar normalmente (Antón et al. 2012b). Aspectos que se consideram anormais são a indiferença do animal ao meio que o rodeia, separação do grupo, ausência de movimentos ruminais, postura ou comportamentos anormais, CC inadequada, perda do velo, rigidez de movimentos e apatia (Antón et al. 2012b).

#### **3.4.2.2. Cabeça e superfície corporal**

O animal deve estar alerta, seguir um qualquer movimento e ser expressivo (Antón et al. 2012b). Os olhos devem encontrar-se limpos e brilhantes, sem secreções anormais e sem defeitos visuais como cegueira, estrabismo, queratoconjuntivite, cataratas ou entrópion (Koziol and Armstrong 2018b).

As orelhas devem apresentar-se móveis e sem lesões. Devem seguir os ruídos e não apresentar sinais de ectoparasitismo no pavilhão auricular (Antón et al. 2012b). As narinas e as suas secreções devem ser normais, de coloração transparente e em pouca quantidade (Lovatt 2010).

Em relação à exploração da boca, deve começar-se por verificar a idade do animal (Antón et al. 2012b) e o desgaste dos dentes, já que a longevidade dos ovinos está relacionada com a capacidade dos seus dentes tolerarem o desgaste causado, maioritariamente, pela alimentação. É importante identificar problemas que comprometam uma alimentação correta e a manutenção de um estado corporal adequado (Koziol and Armstrong 2018b). Os incisivos devem ter uma oclusão correta e livres de deficiências hereditárias, como prognatismo ou braquignatismo (Antón et al. 2012b). A zona dos dentes molares e pré-molares deverá ser palpada, assim como a mandíbula, de modo a identificar

qualquer alteração, como periodontite, corpos estranhos ou a presença algum tecido anormal (Lovatt 2010).

A zona da frente e dos cornos apresentam, por vezes, feridas ou lesões com tecido córneo cicatricial, proveniente de traumas comuns nas lutas entre machos (Antón et al. 2012b). Pode também existir a presença de miíases, de fratura de cornos ou queimaduras solares, por ser uma zona glabra em algumas raças.

### **3.4.2.3. Tronco**

As regiões cervical e torácica devem aparentar harmonia, com ausência de luxações ou de lesões musculares. A arcada costal não deve apresentar lesões ou sinais de fraturas (Lovatt 2010), assim como os movimentos respiratórios devem ser amplos, com movimento torácico e abdominal. À auscultação pulmonar não devem estar presentes ferveres, diminuição dos ruídos respiratórios ou presença de ruídos anormais, o mesmo acontecendo com a auscultação cardíaca (Antón et al. 2012b). A lã deve ser sã, contínua, sem zonas exsudativas ou pruriginosas, desprovida de ectoparasitas, de *Dermatophilus congolensis* ou de fungos tricófitos (Antón et al. 2012b).

Quanto ao abdómen devemos observar e auscultar movimentos ruminais (Lovatt 2010), verificando se não há a presença de hérnias, abscessos ou lacerações.

### **3.4.2.4. Membros**

A avaliação dos membros deve ser completa, estática em estação e, dinâmica em distintos andamentos (Antón et al. 2012b). Na avaliação em repouso, deve verificar-se uma possível presença de feridas, abscessos, lesões ou sintomas e sinais indicativos de alguma lesão, recente ou antiga. Aprumos corretos são essenciais para a cópula (Koziol and Armstrong 2018b), sem desvios anteriores, posteriores ou laterais. Problemas nos aprumos devem ser considerados aquando da escolha de um reprodutor, pois trata-se de uma característica hereditária (Antón et al. 2012b) e fundamental para a prevenção de lesões, durante a época de cobrição e, essenciais na longevidade do reprodutor.

As claudicações, especialmente nos membros posteriores, requerem muita atenção, uma vez que eles têm de garantir todo o apoio durante o encabritamento e no momento do salto (Antón et al. 2012b). Um carneiro com um processo doloroso com sede nos membros vai passar longos períodos em decúbito, quando deveria estar a procurar as ovelhas em cio. Para além disso, vai passar menos tempo a alimentar-se e também poderá ter a espermatogénese afetada (Antón et al. 2012b). É necessário procurar a origem do problema através do exame detalhado de todas as estruturas anatómicas envolvidas. As causas mais frequentes são maus aprumos e úngulas compridas e deformadas.

### **3.4.2.5. Condição corporal**

A avaliação da CC faz-se através da palpação e valoração, a nível lombar, da deposição de tecido adiposo e muscular sobre as apófises transversas e processos espinhosos das vértebras lombares (Antón et al. 2012b). Para quantificar a CC deve seguir-se a escala 1-5 (Practice 1984).

Durante a época de cobrição, os carneiros perdem CC, cerca de 0,5 unidades por semana, na escala de 1-5 (Gouletsou and Fthenakis 2010), devendo por isso, iniciar a época de cobrição com uma CC na ordem dos 3,5 - 4. Quando apresentam uma CC superior, os animais têm dificuldade em montar, apresentam libido reduzida e a acumulação de gordura escrotal compromete a termorregulação testicular, o que afeta a espermatogénese e reduz a qualidade seminal. Em oposição, quando se encontram com fraca CC, a espermatogénese fica comprometida devido a um défice energético e por prolongada deficiência proteica e de micronutrientes (Gouletsou and Fthenakis 2010).

### **3.4.3. Exploração do aparelho reprodutor do carneiro**

A palpação do aparelho reprodutor permite encontrar muitas anomalias que, macroscopicamente, não seriam detetáveis. É aconselhável fazê-lo em estação ou colocar o animal em decúbito costal ou sentado (Gouletsou and Fthenakis 2010) para permitir a exteriorização do pénis e observação do prepúcio (Antón et al. 2012c).

#### **3.4.3.1. Exploração do escroto**

O primeiro passo será a avaliação da bolsa testicular, registando o seu tamanho, forma, textura e sensibilidade do animal à palpação (Lovatt 2010).

O tamanho depende do seu conteúdo. Machos hermafroditas, criptorquídios ou quando castrados em jovens apresentam bolsas testiculares pequenas ou quase inexistentes. Pelo contrário, a presença de abscessos, hérnias, hidrocelos, processos inflamatórios (infeciosos), podem ser associados ao aumento da sua dimensão, turgescência e, por vezes, a aumento da temperatura (Antón et al. 2012c). A sua proximidade ou afastamento da parede abdominal está associado à temperatura ambiental e, por norma, com temperatura amena não deve ultrapassar, ventralmente, os curvilhões do animal (Antón et al. 2012c).

A forma normal é oval e nota-se uma silhueta bilobada e simétrica. Por vezes, pode ocorrer uma bilobação escrotal de origem congénita, presente em vários graus ao nível da rafe testicular. Esta característica, em determinadas raças, não é considerada patológica, mas sim um sinal de adaptação a climas quentes (Rocha et al. 2018).

A pele deve ser suave e flexível, coberta de pelo fino ou, no caso de algumas raças, de lã. Alterações da mesma podem significar anomalias, também no conteúdo escrotal. As mais frequentes são as dermatites, associadas a processos infecciosos ou parasitários e ainda podem existir papilomas, calos, hematomas, aderências ou cicatrizes (Koziol and Armstrong 2018c). As aderências podem comprometer a motilidade testicular e, conseqüentemente a termorregulação, o que pode alterar a qualidade seminal.

### **3.4.3.2. Exploração do conteúdo escrotal**

Depois do exame do escroto, devemos palpar todo o conteúdo, como os testículos, epidídimos e cordões espermáticos (Gouletsou and Fthenakis 2010). Qualquer reação estranha e que expresse dor durante a exploração deve ser considerada. Podem estar na sua origem processos infecciosos com alteração do conteúdo, tais como varicoceles, abscessos, hidroceles, hérnias, entre outros.

A palpação deve ser, sempre que possível, simultânea entre os testículos, para que seja possível uma comparação entre ambos (Antón et al. 2012c). Sempre que se tratar de um animal com patologia testicular, ele deverá ser afastado da reprodução, exceto se se tratar de anomalia adquirida sem o comprometimento da fertilidade (Antón et al. 2012c).

A palpação deve ser executada num sentido dorsoventral. Dorsalmente, localiza-se o cordão espermático em que a porção inguinal do ducto deferente apresenta uma consistência superior relativamente ao restante conteúdo (Antón et al. 2012c). Mais ventralmente, encontra-se o plexo pampiniforme, uma estrutura venosa com uma consistência flácida e esponjosa, que se localiza sobre o polo dorsal do testículo e que cobre, parcialmente, a cabeça do epidídimo (Antón et al. 2012c). Ainda mais ventralmente, sobre o polo dorsal dos testículos, em forma de U aberto, encontra-se a cabeça do epidídimo, de consistência firme e elástica. Nos casos em que não há qualquer alteração, quase não se nota diferença entre ela e o testículo (Antón et al. 2012c).

Continuando com a palpação devemos procurar o corpo do epidídimo, como um cordão achatado, junto à rafe escrotal, na parte medial dos testículos. Normalmente é palpada com dificuldade, exceto quando existe alguma alteração. Para facilitar a sua palpação, deve fixar-se o testículo a palpar, o mais ventral possível, dentro do escroto e empurrar dorsalmente o testículo contralateral e assim, conseguir a exploração completa do corpo do epidídimo. Posteriormente, deve palpar-se a cauda do epidídimo que é uma estrutura com cerca de 2-4 cm, em forma de avelã/noz (Antón et al. 2012c). Há então que verificar se existe aderência ou alguma limitação ao movimento dos testículos ou do epidídimo, relativamente ao escroto (Koziol and Armstrong 2018c).

Durante a exploração dos testículos são importantes os seguintes aspetos:

- Posição: a temperatura ambiente tem influência na posição dos testículos. Em presença de temperaturas elevadas, eles devem estar mais descidos, enquanto, pelo contrário, com temperaturas mais baixas, encontram-se elevados, mais próximos da parede abdominal (Antón et al. 2012c).
- Forma: a forma deve ser ovóide, com dimensões aproximadas de 10 – 11 cm de comprimento e 7 – 8 cm de diâmetro. No entanto, podem encontrar-se diferenças significativas de acordo com a raça do animal (Antón et al. 2012c).
- Simetria: os testículos devem ser semelhantes, tanto em forma, como em tamanho e apresentarem a mesma posição dentro da bolsa escrotal (Gouletsou and Fthenakis 2010).
- Consistência: devem ser túrgidos à palpação, com um tónus fibro-elástico (Koziol and Armstrong 2018c). Esta consistência pode perder-se depois de uma intensa época de cobrição, que depois é recuperada após umas semanas de repouso, em animais sãos e bem nutridos (Antón et al. 2012c). A consistência diminui com a idade e torna-se branda-elástica em animais com idade avançada, malnutridos ou com doenças crónicas (Antón et al. 2012c). Pode ser branda-flácida e flutuante quando em presença de abscessos com líquido ou de consistência dura, em processos patológicos de carácter inflamatório.
- Elasticidade: embora o parênquima testicular seja túrgido, apresenta elasticidade. A deformação normal é cerca de 25-30 % das dimensões testiculares. Se atingir os 40%, os testículos estarão demasiado deformáveis e, se não chegar aos 20%, considerar-se-á que estão excessivamente rígidos (Antón et al. 2012c).
- Temperatura: deverá ser sempre inferior à temperatura corporal e igual para ambas as gónadas. Aquando da palpação testicular, deve ter-se em atenção a temperatura ao toque ou então utilizar-se a termografia por infravermelhos (Júnior et al. 2015). Esta técnica é não invasiva e segura para medir a temperatura da superfície escrotal do carneiro. Produz uma imagem a cores, que varia consoante a temperatura da superfície da pele. A imagem termográfica do escroto normal deverá apresentar coloração semelhante em ambos os testículos e uma diminuição da temperatura com o aproximar do bordo caudal ventral do escroto (Koziol and Armstrong 2018c).
- Tamanho: um macho adulto, saudável e fértil deve ter testículos grandes e com uma estreita relação entre o volume, a circunferência escrotal, o diâmetro testicular, a produção espermática e quantidade de hormonas masculinas produzidas (Antón et al. 2012c). Os testículos pesam cerca de 200 a 300 gramas. Todavia, podem pesar até mais 130 gramas na época de fotoperíodo decrescente, quando se verifica o pico do potencial fértil. Em Portugal, será no outono e início do inverno.

Atualmente, a técnica mais utilizada para a avaliação do tamanho testicular é a medição do perímetro escrotal, através da medição da sua circunferência no local de maior diâmetro, com recurso a uma fita métrica (Greig 2008). Este valor varia com a raça, idade, época do ano ou da época de cobrição. Uma mensuração normal encontra-se entre os 34 - 36 cm para adultos de raças leves, e entre os 36 - 38 cm, para os de raças pesadas. Os machos jovens, com 7 - 9 meses, devem revelar pelo menos, 28 - 30 cm e, com 18 meses, devem apresentar, no mínimo, 3 - 4 cm a menos que o valor indicado para o animal adulto da sua raça e rebanho (Antón et al. 2012c). Durante a época de cobrição ou imediatamente depois da mesma, o tamanho testicular pode diminuir até 5 - 9 cm, se o animal se encontrar em contra estação ou, 3 - 4 cm se ele estiver em época de atividade sexual (Antón et al. 2012c).

### **3.4.3.3. Exploração do pénis e do prepúcio**

Com o animal em estação, podemos fazer a palpação do pénis, através da pele desde a curvatura sigmoide até à glande, e a do prepúcio. Para se conseguir uma exploração mais detalhada, podemos sentar o carneiro sobre a sua garupa ou colocá-lo em decúbito lateral direito (Tibary et al. 2018). A porção pendente do prepúcio não deve ter uma dimensão superior a 4 cm. Quando são grandes, pendentes e fibrosos (Tibary et al. 2018), associam-se frequentemente a postites e apresentam elevada probabilidade de ocorrência de miíases (Antón et al. 2012c). O orifício prepucial deve estar limpo, sem sangue, material purulento ou cristais junto aos pelos (Tibary et al. 2018). Não devem existir sinais de deformação ou de fibrose, como no caso de miíases e, deve ser suficientemente amplo para permitir a exteriorização e a recolha do pénis (Antón et al. 2012c).

Posteriormente, deve exteriorizar-se manualmente o pénis, o que se consegue numa extensão de cerca de 15 cm (Antón et al. 2012c), com posterior retorno fácil ao interior do prepúcio. Não devem existir desvios e deve estar íntegro. A glande e o apêndice vermiforme devem ter cor rosada e ausência de lesões (Tibary et al. 2018). A ausência ou a necrose do apêndice vermiforme podem afetar de forma negativa a fertilidade do reprodutor (Antón et al. 2012c).

Até esta fase do exame, cerca de 10 a 15% dos machos reprovam no exame andrológico (Antón et al. 2012c).

### **3.4.4. Obtenção e avaliação do sémen**

#### **3.4.4.1. Recolha de sémen**

A recolha de sémen pode ser feita por diferentes métodos, dependendo das condições disponíveis e do fim a que se destina o ejaculado, pelo que dever-se-á seleccionar o processo mais adequado para tal.

A colheita por vagina artificial é o método de eleição (González et al. 2012), pois podemos recolher sémen com as mesmas características presentes na monta natural. Podem-se, igualmente, fazer colheitas seriadas sem causar stress ao animal. Porém, só é possível em machos previamente treinados (Koziol and Armstrong 2018d).

O método da electroejaculação consiste na estimulação eléctrica por via transretal (Pezzanite et al. 2010) e resulta na utilização de uma corrente eléctrica ligeira que provoca uma estimulação nervosa do plexo sagrado do parassimpático pélvico e das glândulas acessórias (Mcgowan 2019), com a consequente contração dos músculos pélvicos e ejaculação. Quando utilizado um procedimento correto por um médico veterinário experimentado, consegue obter-se um ejaculado com características semelhantes ao colhido com a vagina artificial (González et al. 2012). No entanto, por vezes, pode haver uma sobrestimulação das glândulas acessórias e o ejaculado pode ser mais diluído ou revelar contaminação com urina (Koziol and Armstrong 2018e). O animal pode estar em estação ou em decúbito lateral direito, pelo que se deve aparar a lã e os pelos junto ao prepúcio e remover toda a sujidade presente na área, para que não ocorra contaminação do sémen (González et al. 2012).

Outra técnica que pode ser utilizada é a recolha de espermatozoides da cauda do epidídimo, utilizada exclusivamente *postmortem* ou após orquiectomia. Consiste na disseção do epidídimo e, seguidamente, na lavagem retrógrada da cauda do epidídimo com um diluidor apropriado (González et al. 2012).

Ao contrário dos touros e gananhões, nos quais não é incomum ter sémen de fraca qualidade na ausência de outras anomalias do trato genital, no carneiro é raro tal acontecer. Assim, nesta espécie, o exame físico do aparelho reprodutor deve ser realizado, sempre com muita atenção, já que muitos carneiros inférteis podem ser detetados sem a necessidade do exame seminal (Mcgowan 2019).

#### **3.4.4.2. Avaliação do sémen: análise seminal básica**

Os verdadeiros indicadores da fertilidade de um macho são o índice de fertilização e o de nascimentos (González et al. 2012), ambos influenciados pela fertilidade do carneiro, da ovelha e do maneio da exploração. A avaliação prévia da fertilidade do macho é uma ferramenta útil para aumentar a eficiência reprodutiva. No entanto, a avaliação seminal não

constitui um indicador absolutamente fiável da fertilidade do reprodutor. Sendo assim, a baixa qualidade seminal é um bom indicador de subfertilidade. Porém, uma boa qualidade do sémen não é garantia absoluta do reprodutor ser fértil (González et al. 2012). Há reprodutores, que, tendo revelado todos os parâmetros analisados dentro dos limites normais possuem, todavia, diferentes graus de subfertilidade ou infertilidade, apesar de estarem sujeitos a um bom manejo.

#### **3.4.4.2.1. Cor, odor e fluidez**

O sémen de carneiro é normalmente de cor branco-marfim (Scott 2015). Devem descartar-se ejaculados que apresentem cor branco-rosada, em virtude da presença de sangue, ou de cor cinzenta, devido à presença de pus como resultado de alguma infeção no aparelho reprodutor (González et al. 2012) ou ainda, de cor amarelada, por presença de urina, quando associada ao cheiro característico da mesma (Koziol and Armstrong 2018e).

A fluidez dos ejaculados está relacionada com a concentração espermática. Avalia-se através da observação do ejaculado, agitando suavemente o copo de recolha e analisando o movimento do sémen. Pode apresentar diferentes graus de fluidez, como aquoso, turvo, leitoso, cremoso e cremoso denso, que correspondem a concentrações seminais crescentes (Antón et al. 2012c).

#### **3.4.4.2.2. Volume**

O volume pode ser muito díspar entre os machos. No entanto, o volume médio é de 1 mL, variando entre 0,3 mL e 3 mL (González et al. 2012).

#### **3.4.4.2.3. Concentração**

A concentração expressa o número de espermatozoides presentes no ejaculado, relativamente ao volume do mesmo. Assim, os valores médios variam entre 3.000 e 5.000 milhões de Spz/mL, com um intervalo muito amplo, de 1.500 Spz/mL a 6.000 milhões de Spz/mL (González et al. 2012).

Para a determinação da concentração espermática podemos recorrer à uma câmara de contagem como o hematocitómetro (Brito et al. 2016), que é um método direto de contagem de células, sendo o mais exato e fiável. Cada modelo de câmara apresenta instruções detalhadas de uso. Genericamente, apresentam um espaço quadriculado, visível ao microscópio, o qual é coberto por uma lamela e coloca-se, no espaço entre a câmara e a lamela, um volume fixo de sémen, previamente diluído em solução hipertónica a uma concentração fixa (González et al. 2012). Posteriormente, com uma fórmula matemática que tem em conta a diluição realizada e a profundidade, superfície, o número de quadrados da

quadrícula observados e o número de espermatozoides contados, teremos o valor da concentração (Brito et al. 2016).

Também se pode determinar a concentração através de espectrofotometria. Esta técnica mede a transmitância, ou seja, a quantidade de luz que passa através do ejaculado (Brito et al. 2016) e, a absorvância, que é a quantidade luz que nele fica retida. Assim, os valores obtidos por densidade ótica são convertidos no valor da concentração espermática (González et al. 2012).

Outro método, mais recente, é o obtido com recurso a sistema computadorizado de análise de sémen - o CASA (Computer Assisted Semen Analysis), que deteta as cabeças dos espermatozoides presentes num determinado volume da amostra e, a partir daí, calcula a concentração seminal (Brito et al. 2016).

#### **3.4.4.2.4. Mobilidade**

A mobilidade massal é avaliada pelas características das ondas do sémen puro (Tibary et al. 2018), em gota espessa, sobre uma lâmina aquecida a 35 - 37°C (González et al. 2012), observada, em baixa ampliação, ao microscópio ótico, munido de platina térmica aquecida igualmente a 35-37°C (Mcgowan 2019).

A mobilidade massal é influenciada pela concentração espermática, pela percentagem de espermatozoides com movimentos retilíneos progressivos e pela velocidade dos mesmos (Koziol and Armstrong 2018e). Por isso, a mobilidade massal deve ser interpretada com cautela e o mais correto é ela estar associada à mobilidade individual como fator de determinante da qualidade seminal (Koziol and Armstrong 2018e).

Desta forma, verifica-se se há ou não movimento de onda e a velocidade desse mesmo movimento ondulatório, que então é classificado numa escala de 0-5 graus. As ondas podem apresentar as seguintes características:

- 5- Ondas densas de movimentos muito rápidos (ondas em ómega ou em chicote);
- 4- Ondas com remoinhos vigorosos, mas não tão rápidos;
- 3- Ondas de movimento lento;
- 2- Não aparecem ondas, mas vêm-se movimentos espermáticos;
- 1- Muito poucos movimentos;
- 0- Ausência de movimento.

A mobilidade individual retilínea e progressiva determina-se com recurso a uma amostra de sémen diluído em soro fisiológico ou em diluidor comercial, que é colocada entre lâmina e lamela num microscópio ótico, com platina térmica a 35 - 37°C (González et al. 2012). Devem ser observados vários campos e avaliada a percentagem de espermatozoides

que se movem de forma retilínea e progressiva, relativamente aos que estão imóveis ou que revelam outro tipo de movimento.

O reprodutor só deve ser classificado como satisfatório se tiver, pelo menos, 30% dos espermatozoides com movimentos retilíneos e progressivos (Koziol and Armstrong 2018e).

#### **3.4.4.2.5. Morfologia**

A avaliação espermática é um método não invasivo de avaliação das funções testicular e epididimária, fornecendo informação semelhante à recolhida por biópsia testicular (Koziol and Armstrong 2018e). Um spermograma anormal, suportado por evidência histórica ou pelo exame físico, é um indicador importante de uma função testicular anómala e, conseqüentemente, importante no prognóstico de resolução ou de potencial tratamento (Koziol and Armstrong 2018e). Um conhecimento da espermatogénese normal e anormal permite compreender e interpretar o spermograma. As alterações na morfologia espermática relacionam-se com a infertilidade do macho e são uma componente fundamental da análise da qualidade seminal (Koziol and Armstrong 2018e).

A utilização de uma coloração supravital permite diferenciar os espermatozoides vivos dos mortos. A coloração utilizada, mais comum, é a eosina-nigrosina. A nigrosina cora o fundo do campo, assim como a eosina atua como corante supravital, corando de rosa os espermatozoides mortos (Hopper and King 2015), por apresentarem uma membrana celular permeável. No caso dos espermatozoides viáveis, o corante não é capaz de penetrar, não sendo corados. Por vezes, surgem espermatozoides corados apenas na parte posterior da cabeça, quando há algum dano na membrana. Tal situação ocorre porque a membrana do acrossoma está firmemente aderente ao núcleo na região equatorial e a coloração da eosina é, inicialmente, impedida pela região equatorial (Koziol and Armstrong 2018e). Este dano ocorre, geralmente, quando o processamento seminal se verifica em condições indevidas. Assim, só devemos considerar como mortos os espermatozoides totalmente corados (Koziol and Armstrong 2018e). Os espermatozoides considerados vivos apresentam uma elevada correlação com a percentagem de mobilidade individual progressiva (Koziol and Armstrong 2018e).

As lâminas devem ser coradas em camada fina de espermatozoides, separados entre si e, com secagem rápida, preferencialmente sobre uma platina térmica. A contagem diferencial dos espermatozoides deve ser executada com o recurso a uma objetiva de imersão, com um aumento de 1000x (Hopper and King 2015).

Há diversas tabelas de classificação das anomalias espermáticas. No entanto, a que tem obtido maior consenso, hoje em dia, é a que se preocupa com a capacidade fertilizante do sémen, correlacionando os defeitos espermáticos com o aumento do número de

espermatozoides viáveis na dose seminal, ou seja, as anomalias são classificadas em compensáveis ou não compensáveis, considerando-se ou não o aumento da concentração espermática da dose seminal (Koziol and Armstrong 2018e). Espermatozoides anormais, sem capacidade de chegar ao oviduto ou sem capacidade de penetração ou de iniciar a fertilização e, conseqüentemente, sem ativação do bloqueio de zona (que impede outro espermatozoide de penetrar o ócito), são considerados como defeitos compensáveis (Koziol and Armstrong 2018e), sem impactos na fertilidade por via do aumento do número de espermatozoides na dose seminal. Pelo contrário, espermatozoides anormais, com capacidade de transpor o oviduto e atravessar a zona pelúcida e ativar o bloqueio de zona, mas sem capacidade de fecundação ou de um desenvolvimento embrionário sadio, são considerados não compensáveis (Koziol and Armstrong 2018e).

As anomalias devem ser registadas e determinada a sua percentagem – a anisoespermia. Assim, quando existem poucas formas anómalas, a contagem diferencial de 100 espermatozoides será suficiente. Porém, com elevadas percentagens anomalias será necessário contarem-se 200 para se obter um resultado mais preciso no espermograma (Koziol and Armstrong 2018e). Para que esta análise seja considerada satisfatória, o máximo de anomalias registadas no espermograma deverá ser de 30% (Hopper and King 2015).

#### **3.4.4.2.5.1. Anomalias sem conseqüências na fertilidade**

##### **Gota citoplasmática distal**

A presença da gota citoplasmática distal, não está relacionada com a fertilidade de um reprodutor. Mesmo quando em elevado número, não deve ser considerada como anómala (Koziol and Armstrong 2018e). Foi provado que num ejaculado, com elevado número de gotas citoplasmáticas distais, após uma incubação de 15-30 minutos e, posteriormente, sujeito a ligeira agitação, elas destacavam-se dos espermatozoides (Koziol and Armstrong 2018e).

##### **Implantação Abaxial**

Esta alteração resulta de espermatozoides em que a peça intermédia não está acoplada à cabeça na fossa de implantação, mas sim lateralmente (Koziol and Armstrong 2018e). Em touros, com um elevado número de espermatozoides apresentando implantação abaxial, a fertilidade não ficou afetada, nem revelou qualquer relação com mortes embrionárias (Hopper and King 2015).

### **3.4.4.2.5.2. Anomalias com consequências na fertilidade**

#### **3.4.4.2.5.2.1. Defeitos da cabeça**

##### **Cabeça Piriforme**

Neste caso, a cabeça do espermatozoide apresenta o perfil de pera (Hopper and King 2015), com o acrossoma normal e um estreitamento posteriormente ao acrossoma. Esta anomalia está relacionada com a ocorrência de períodos de stress ou com a administração de dexametasona, ou ainda, com uma insolação escrotal. No entanto, após o final desses insultos, a produção espermática volta ao normal (Koziol and Armstrong 2018e). A ocorrência desta anomalia afeta várias etapas da fertilização: o transporte seminal, a ligação ao oócito, a penetração na zona pelúcida, bem como, eventos após a fertilização (Koziol and Armstrong 2018e).

##### **Vacúolos nucleares**

Este defeito é caracterizado pela invaginação da membrana nuclear no nucleoplasma da cabeça do espermatozoide (Koziol and Armstrong 2018e). Os espermatozoides afetados são deficientes na sua capacidade de penetração da zona pelúcida (Koziol and Armstrong 2018e). Este defeito apresenta uma predisposição genética, sendo variável num curto espaço de tempo. Assim, um animal que revele uma tendência para apresentar esta anomalia deve ser frequentemente monitorizado (Koziol and Armstrong 2018e). Trata-se de uma anomalia não compensável (Hopper and King 2015).

##### **Macrocefalia e microcefalia**

Estes defeitos caracterizam-se por cabeças claramente maiores ou menores, relativamente aos espermatozoides normais presentes na preparação. Tamanhos aberrantes da cabeça devem-se ao excesso ou déficit de cromatina nuclear (Koziol and Armstrong 2018e), pelo que é improvável que estes espermatozoides sejam capazes de fertilizar o oócito ou que o embrião se desenvolva (Koziol and Armstrong 2018e).

##### **Condensação anormal do ADN**

Nos estádios iniciais da espermatogénese, o ADN está associado a grandes histonas nucleoproteicas. No entanto, durante as etapas finais, a estrutura da cromatina modifica-se e as histonas são substituídas por pequenas protaminas (Koziol and Armstrong 2018e). Esta substituição permite que as cadeias de ADN fiquem paralelas para facilitar a formação de um núcleo compacto resistente à desnaturação (Koziol and Armstrong 2018e). A condensação incompleta e a retenção de histonas resultam em malformações espermáticas, que não são visíveis ao microscópio ótico, nem em preparações com corantes de rotina. É

necessário utilizar-se uma coloração específica para identificar ADN, como a coloração de Feulgen (Koziol and Armstrong 2018e).

### **Anomalias do acrossoma**

As anomalias do acrossoma incluem um ápice irregular ou incompleto, aumentado, enrugado ou vacuolizado. Todos estes defeitos estão relacionados com infertilidade, pois reduzem as hipóteses de fecundação e de desenvolvimento embrionário, sugerindo assim tratem-se de defeitos não compensáveis (Koziol and Armstrong 2018e).

### **Cabeça normal destacada**

Machos com elevada percentagem de cabeças normais destacadas estão associados à uma redução da fertilidade e, em certos casos, à infertilidade (Koziol and Armstrong 2018e). Esta anomalia está relacionada com uma senescência dos espermatozoides normais durante o seu armazenamento na cauda do epidídimo ou na ampola do ducto deferente (Koziol and Armstrong 2018e). Este defeito parece resultar de uma formação anormal da placa basal e/ou da fossa de implantação. É classificado como um defeito compensável (Hopper and King 2015).

### **Espermatozoides decapitados**

É um defeito hereditário, associado a uma anomalia na placa basal e na fossa de implantação. A cabeça do espermatozoide e a cauda têm uma ligação fraca e estão ligados apenas pela membrana citoplasmática. A separação ocorre quando a cauda se começa a mover (Koziol and Armstrong 2018e). Geralmente, quando aparecem espermatozoides decapitados num esfregaço, são afetados 80-100% dos espermatozoides observados, o que se associa à uma elevada prevalência de caudas isoladas que, no exame a fresco, ainda revelam mobilidade (Koziol and Armstrong 2018e). Por norma, também há bastantes gotas citoplasmáticas proximais, com ou sem a cauda do espermatozoide por perto.

#### **3.4.4.2.5.2.2. Defeitos da peça intermédia**

Os defeitos na peça intermédia são considerados como compensáveis, porque são anomalias que afetam a mobilidade (Hopper and King 2015), excetuando a gota citoplasmática proximal, que afeta negativamente a fertilidade (Koziol and Armstrong 2018e), pelo que ela é classificada como não compensável (Hopper and King 2015).

### **Gota citoplasmática proximal**

As gotas citoplasmáticas proximais são condensações esféricas de citoplasma, localizadas na porção proximal da peça intermédia do espermatozoide (Koziol and

Armstrong 2018e). Esta porção de citoplasma deveria fazer um percurso descendente na peça intermédia, durante a espermiogénese. Uma proporção elevada desta alteração deve-se a um comprometimento da função do epidídimo e, por sua vez, relaciona-se com uma incorreta maturação espermática ou com uma espermiogénese anormal (Hopper and King 2015).

### **Pseudogota citoplasmática**

Esta anomalia está associada a um local de estreitamento na peça intermédia do espermatozoide, muitas vezes relacionado com uma tumescência de uma porção da peça intermédia (Koziol and Armstrong 2018e). Este defeito pode, por vezes, confundir-se com uma gota citoplasmática. No entanto, apresenta uma forma mais alongada e não esférica, como no caso da gota citoplasmática. As pseudogotas, por norma, localizam-se na porção média da peça intermédia, em contraste com o que normalmente ocorre nas gotas citoplasmáticas (Koziol and Armstrong 2018e).

### **Defeitos no folheto da mitocôndria**

A alteração mais comum na mitocôndria é a sua ausência que resulta numa peça intermédia estreita, enfraquecida e com predisposição para fratura (Koziol and Armstrong 2018e).

### **“DAG” (designação proveniente de um touro Jersey de nome “Dag”)**

Este defeito é caracterizado por múltiplas fraturas nas fibras do axonema da peça intermédia que causam roturas do folheto da mitocôndria (Koziol and Armstrong 2018e). Estas fraturas originam um enrolamento ao longo de toda a peça intermédia. É um defeito hereditário e congénito (Hopper and King 2015). Por vezes, ocorre em praticamente todos os espermatozoides ou, quando em menor número, pode relacionar-se com distúrbios na espermatogénese.

### **Retroflexão distal da peça intermédia**

Esta anomalia é a mais comum entre as presentes na peça intermédia (Hopper and King 2015). Apresenta-se como uma retroflexão na porção distal da peça intermédia, geralmente com a presença de uma gota citoplasmática distal na zona da curvatura. A mobilidade retrógrada destes espermatozoides ocorre em círculos. Este defeito está normalmente associado a anomalias na cauda do epidídimo (Koziol and Armstrong 2018e). Pode ocorrer secundariamente a momentos de stress que induzem a secreção de cortisol, com decréscimo da LH e, posteriormente, da testosterona, que é necessária em elevada concentração para uma correta função epididimária (Koziol and Armstrong 2018e).

### **Peça intermédia curvada**

Normalmente, trata-se de um artefacto resultante do momento em que o espermatozoide é imobilizado, durante a contração flagelar, ao secar-se a preparação (Koziol and Armstrong 2018e).

### **Peça intermédia em forma de saca-rolhas**

Este defeito caracteriza-se por uma distribuição irregular da mitocôndria ao longo do comprimento do seu folheto (Koziol and Armstrong 2018e). A forma mais clássica deste defeito ocorre em espermatozoides mortos, aparecendo corados pela eosina (Koziol and Armstrong 2018e).

### **3.4.4.2.5.2.3. Defeitos da cauda**

Os defeitos na cauda são considerados compensáveis e, são anomalias que afetam a mobilidade.

#### **Defeito de coto da cauda**

Ao microscópio ótico, os esfregaços apresentam aparentemente, uma elevada frequência de cabeças destacadas. No entanto, num exame mais atento, nota-se que a cauda é substituída por um pequeno coto na base da cabeça do espermatozoide (Koziol and Armstrong 2018e). Os ejaculados de touros, com esta anomalia, apresentam normalmente uma baixa concentração e mobilidade. Este defeito associa-se, geralmente, a outros como DAG, vacúolos nucleares ou a cabeças piriformes (Koziol and Armstrong 2018e).

#### **Peças principais enroladas**

Esta anomalia consiste no enrolamento da peça principal em torno de uma gota citoplasmática em vários níveis ao longo do seu comprimento. A evidência experimental sugere que este defeito ocorre durante a espermatogénese. Todavia, um outro estudo sugere uma origem epididimária (Koziol and Armstrong 2018e). Esta alteração também pode estar relacionada com baixos níveis de testosterona (Koziol and Armstrong 2018e).

#### **Formas duplas e caudas acessórias**

Durante a espermatogénese, a formação da cauda resulta da migração dos centríolos proximal e distal para a base do núcleo redondo do espermatídio (Koziol and Armstrong 2018e). O centríolo proximal origina a zona do capitulum do espermatozoide, enquanto o centríolo distal dá origem à cauda do espermatozoide. Num espermatídio normal, a replicação dos centríolos é inibida (Koziol and Armstrong 2018e) e assim, só se

forma uma cauda. No caso de falha na inibição ou de uma supressão parcial da divisão centriolar, podem ocorrer caudas acessórias ou duplas (Koziol and Armstrong 2018e).

#### **Peças principais dobradas**

O espermatozoide apresenta uma curvatura em forma de laço, distalmente, na peça principal. Choques hipotônicos causam este tipo de anomalia, sem no entanto, se verificar a presença de gota citoplasmática, na zona da curvatura (Koziol and Armstrong 2018e).

#### **Cauda pequena**

Este defeito é caracterizado por uma cauda significativamente pequena, ou pela ausência da peça principal (Koziol and Armstrong 2018e) em todos os espermatozoides.

### **3.4.4.2.5.2.4. Outras células no ejaculado**

#### **Células redondas**

Estas células são precursoras dos espermatozoides ou de leucócitos. As células seminais imaturas resultam de uma libertação prematura, por parte das células de Sertoli. Esta situação está relacionada com a imaturidade sexual ou degenerescência e regeneração testicular secundária a um insulto local (Koziol and Armstrong 2018e). Elas podem ser espermatócitos primários, secundários ou espermatídios. Os leucócitos estão presentes em infeções do aparelho reprodutor ou do prepúcio e da glândula.

#### **Teratóides**

São espermatozoides com defeitos severos como a condensação anormal do ADN, a deformação do núcleo, peça intermédia e peça principal enroladas à volta do núcleo (Koziol and Armstrong 2018e). São células anormais da espermatogénese e podem ser, por vezes, confundidas com detritos ou células inflamatórias.

#### **Células Medusa**

As células em forma de medusa resultam da descamação epitelial de células do ducto eferente (Koziol and Armstrong 2018e).

### **3.4.4.2.6. Aberrações na qualidade do sémén**

#### **Oligospermia/Azoospermia**

Oligospermia diz respeito à presença de um ejaculado com baixa concentração de espermatozoides e, a azoospermia é a ausência total de espermatozoides (Koziol and Armstrong 2018e). Com machos fisicamente normais, a falha na obtenção de uma amostra

de sémen raramente está relacionada com uma real oligospermia ou azoospermia (Koziol and Armstrong 2018e). Deve-se tentar obter uma nova amostra, com recurso a um outro método de recolha, antes de emitir um diagnóstico definitivo. Quando existe uma oligospermia/azoospermia real, são normalmente, encontradas células teratóides e detritos no ejaculado (Koziol and Armstrong 2018e).

### **Hemospermia**

Hemospermia consiste na presença de células sanguíneas no ejaculado, que então apresenta uma cor rosada ou vermelha. Se ocorrer em baixa concentração, não são encontradas alterações macroscópicas. Apenas microscopicamente se regista a presença de eritrócitos (Antón et al. 2012c). Normalmente, resulta de uma lesão ou traumatismo no trato reprodutor. Porém, quando o sémen é exposto, durante horas, à presença de sangue a sua fertilidade é reduzida (Koziol and Armstrong 2018e).

### **Urospermia**

A urospermia consiste na presença de urina no ejaculado. Por vezes, quando a recolha de sémen é feita por electroejaculação, a estimulação elétrica pode causar micção em simultâneo com a ejaculação, o que dá origem a um ejaculado de cor amarela, por norma diluído, com cheiro a urina (Antón et al. 2012c), sendo no caso, a mobilidade ao microscópio mínima ou ausente. Estes ejaculados devem ser descartados e deve proceder-se a uma outra recolha (Koziol and Armstrong 2018e).

## **4. Objetivos do trabalho experimental**

O presente estudo teve como principal objetivo a caracterização andrológica de ovinos da raça Campaniça. Sendo esta não só uma raça autóctone, relativamente a qual existe pouca informação e cujo efetivo é relativamente pequeno, mas também uma raça em que o papel do macho é fundamental no sucesso da exploração e consequentemente, na conservação da mesma, sentiu-se a necessidade de a caracterizar andrologicamente.

Esta caracterização permitirá:

- Definir andrologicamente a raça;
- Melhorar as suas características produtivas e reprodutivas;
- Desenvolver uma escala, por idades, de caracteres andrológicos mais adequados à raça;
- Verificar diferenças andrológicas entre diferentes efetivos;
- Definir caracteres andrológicos importantes na escolha de reprodutores;
- Retirar da reprodução animais que andrologicamente são insatisfatórios, evitando que passem essas características à descendência;

## **5. Materiais e métodos**

### **5.1. Caracterização da amostra em estudo**

O presente estudo incluiu 184 carneiros da raça Campaniça. Os machos foram provenientes de sete explorações, localizadas nas regiões do Baixo Alentejo e Algarve, nomeadamente, uma no concelho de Loulé, duas no concelho de Barrancos, uma no concelho de Ourique, uma no concelho de Serpa e duas no concelho de Mértola. As amostras foram recolhidas entre janeiro e maio de 2021, tendo sido este o período que antecedeu a cobrição e durante o qual a temperatura ambiental não se revelou nem demasiado elevada, nem demasiado baixa, de forma a não influenciar a espermatogénese.

### **5.2. Desenho Experimental**

#### **5.2.1. Critérios de inclusão na amostra**

Para serem incluídos no estudo, os carneiros tiveram de satisfazer os seguintes critérios de inclusão:

- Inscritos no livro genealógico da raça Campaniça;
- Machos com idade superior a 1 ano;
- Com um período mínimo de abstinência sexual de 60 dias.

#### **5.2.2. Recolha de dados e processamento**

Os exames andrológicos foram realizados pelo autor, sob orientação do orientador e/ou do tutor. No total, realizaram-se 184 exames andrológicos, sendo efetuados entre 4 e 20 exames andrológicos por dia. A primeira componente do exame andrológico, feita em campo, antecedeu uma segunda parte realizada no dia seguinte, em laboratório.

Foram registados todos os dados obtidos, através do exame andrológico, numa folha de registos (Anexos 1 e 2). Posteriormente, todos os dados foram inseridos numa folha de cálculo Excel: uma linha correspondendo a um animal e cada coluna representando um parâmetro.

#### **5.2.3. Exame Andrológico**

##### **5.2.3.1. História Progressiva**

A história progressiva do animal foi obtida com base nas informações fornecidas pelo produtor, nomeadamente:

- Pesquisa de agentes infecciosos com impacto na reprodução;
- Utilização anterior do reprodutor;

- Duração da época de cobrição;
- Data do último salto;
- Doença recente;
- Administração de fármacos ao animal;
- Período do saneamento anual;
- Registo de problemas na saúde do efetivo;
- Número de borregos nascidos no efetivo;
- Número de abortos;
- Identificação e quantificação de anomalias registadas no efetivo.

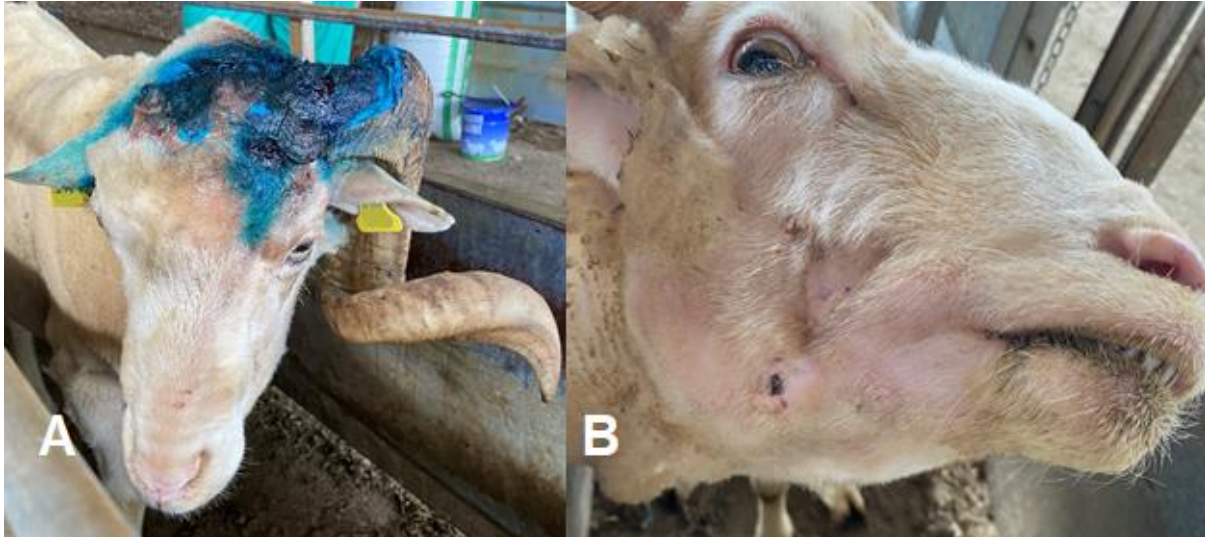
A Figura 3 mostra um reprodutor que, segundo a história progressa, apresentava uma suspeita de problemas de locomoção. Essa suspeita foi confirmada através do seu exame físico. O carneiro em questão está em decúbito, ao contrário dos restantes animais saudáveis que estão em posição de estação, durante o período de espera.



**Figura 3- Carneiro com dificuldade de locomoção (Original)**

#### **5.2.3.2. Exame Físico**

A cada um dos animais em estudo, foi feito o exame físico completo (Figura 4), com especial atenção ao aparelho locomotor e genital. O aparelho locomotor tem uma grande importância no processo reprodutivo, pois caso existam anomalias nos membros, estas podem resultar em dificuldades na monta.



**Figura 4- Anomalias no exame físico-** (Fotografias originais)

A - Fratura recente do corno direito, com uma lesão com tecido inflamatório, resultante de uma luta entre machos.

B - Lesão extensa ao nível da mandíbula, o que impossibilita o animal de se alimentar corretamente

#### **5.2.3.3. Exame ao Trato Genital**

Realizou-se um exame detalhado ao trato genital que consistiu em:

- Observação e palpação do prepúcio e pênis;
- Exteriorização e observação do pênis e das suas porções;
- Observação do escroto;
- Palpação do conteúdo escrotal: cordões espermáticos, cabeça, corpo e cauda dos epidídimos e testículos;
- Medição do perímetro escrotal, utilizando uma fita de medição cefálica;

Foram observadas diversas anomalias, como se pode observar na figura seguinte (Figura 5).



**Figura 5- Anomalias no trato genital (Fotografias originais)**

A - Alteração no apêndice vermiforme, que se apresenta pequeno e aumentado em espessura.

B - Abscesso na zona da cabeça do epidídimo direito.

C - Alteração prepucial, com necrose tecidual na sua porção cranial. O animal urinava para a zona abdominal, o que originou lesões na parede abdominal por ação cáustica da urina.

D - Tecido fibroso cicatricial resultante de antiga balanopostite, causada por uma miíase.

A bolsa escrotal pode ser caracterizada quanto à sua bilobação. Uma bolsa com ligeira bilobação é caracterizada pela separação de cerca de 1 cm da bolsa escrotal. Por outro lado, uma bolsa escrotal bilobada é caracterizada pela separação de cerca de 2-3 cm da bolsa escrotal ao longo da rafe testicular, enquanto numa bolsa escrotal muito bilobada a separação passa a ser superior a 2 a 3 cm. A figura que se segue (Figura 6) ilustra o que se referiu.



**Figura 6- Bilobação da bolsa escrotal** (Fotografias originais)

A – Bolsa escrotal bilobada

B – Bolsa escrotal muito bilobada

Posteriormente ao exame ao trato genital, fez-se a limpeza do prepúcio e posterior corte do pelos e lã, presentes na zona do orifício prepucial, para evitar a contaminação seminal.

#### 5.2.3.4. Colheita e Exame de Sémén

Para a recolha de sémén colocou-se o carneiro num tronco, em decúbito lateral direito, com os membros, posteriores e anteriores, amarrados de forma a minimizar o movimento do animal (Figura 7).



**Figura 7- Carneiro contido em tronco, em decúbito lateral direito, preparado para colheita de sémén (Original)**

O método utilizado para a colheita de sémén foi a electroejaculação. O electroejaculador utilizado foi o “Lane Ram Ejaculator” (Lane Manufacturing, EUA). A sonda transretal foi lubrificada com lubrificante obstétrico para facilitar a introdução e a transmissão elétrica.

Inicialmente, estimulou-se fisicamente com a sonda transrectal, durante cerca de 10 a 20 segundos. Em seguida, na voltagem menor (9V), intercalaram-se ciclos de 4 segundos

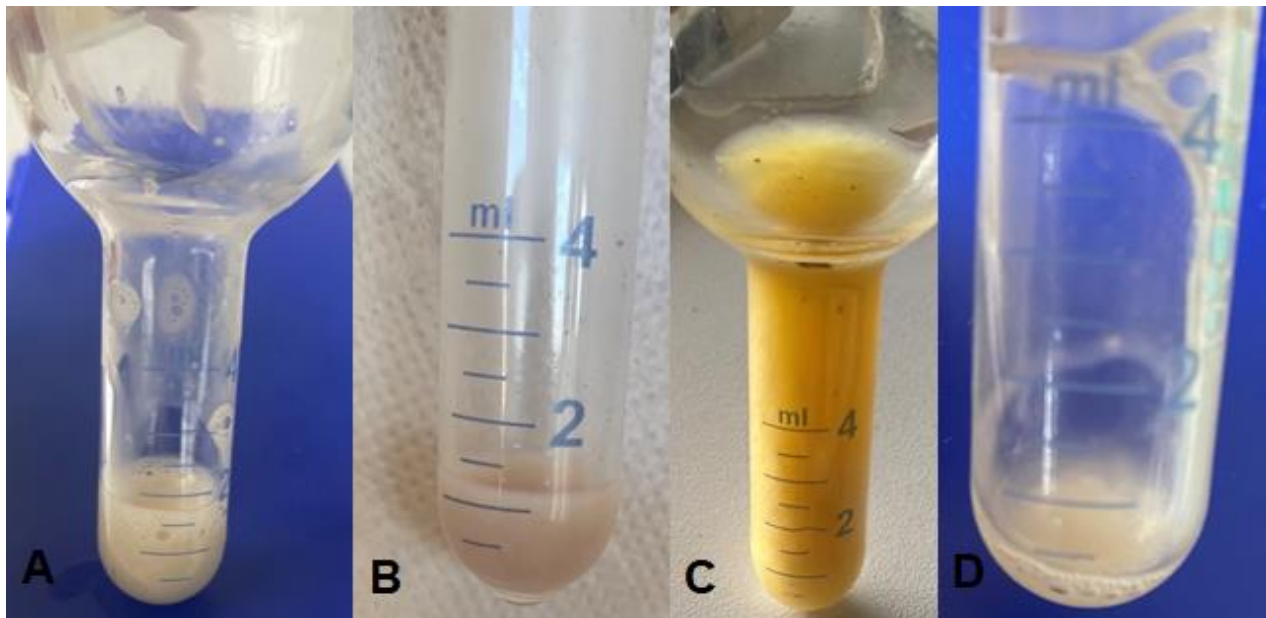
de estimulação com ciclos de 4 segundos de repouso. Utilizaram-se, no máximo, 8 estímulos por ciclo de estimulação, e registou-se o número de estímulos necessários para cada macho.

Em caso de ausência de resposta à primeira estimulação, respeitou-se um período de repouso pelo menos 5 minutos antes de se iniciar uma nova estimulação.

Dos 184 animais do estudo, 155 (84,24%) exteriorizaram o pénis à electroestimulação.

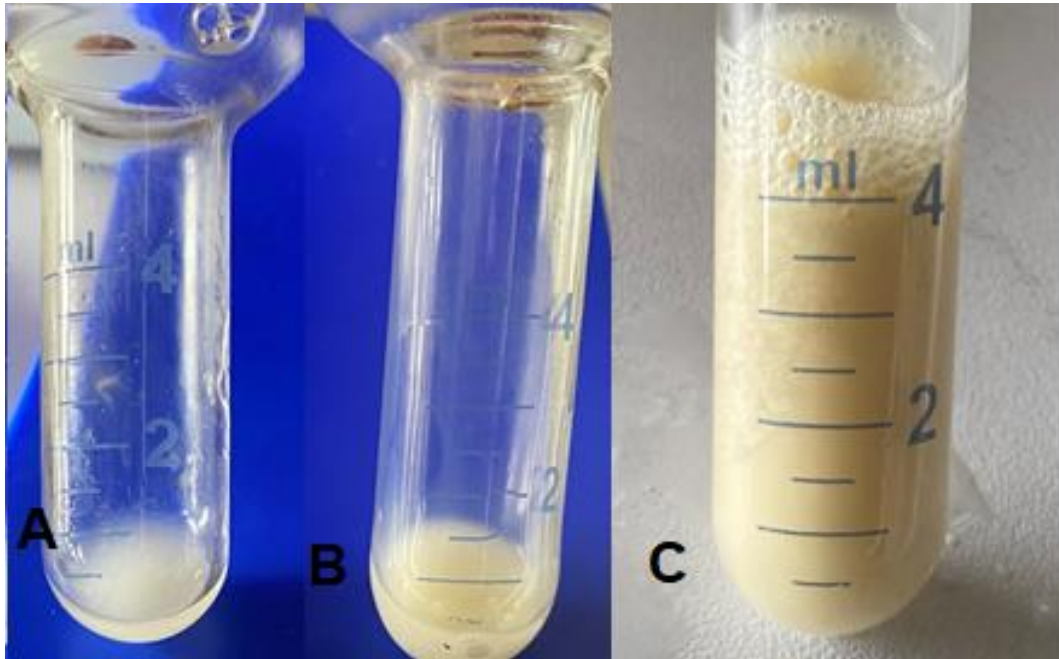
O sémen foi recolhido para um copo de vidro em forma de tulipa, previamente aquecido a 37°C.

De seguida, passou-se à análise macroscópica do sémen (Figuras 8 e 9). Inicialmente, sem retirar o sémen do banho-maria a 37°C, observou-se a cor, fluidez, volume e cheiro da amostra. Caso ela apresentasse cor amarela e cheiro a urina, repetia-se a recolha.



**Figura 8- Análise macroscópica da cor do sémen (Fotografias originais)**

- A - Ejaculado de cor branco marfim
- B - Ejaculado de cor branco rosado
- C - Ejaculado de cor amarela
- D - Ejaculado de cor transparente



**Figura 9- Análise macroscópica da fluidez do sémen** (Fotografias originais)

- A - Ejaculado de fluidez aquosa
- B - Ejaculado de fluidez leitosa
- C - Ejaculado de fluidez cremosa

Posteriormente, observou-se o sémen ao microscópio ótico (Olympus CX23, Japão), equipado com platina térmica aquecida a 37°C. Avaliou-se não só a mobilidade massal, em gota espessa sobre a lâmina, como também a mobilidade individual, entre lâmina e lamela, com uma gota de sémen previamente diluído com diluidor comercial (EquiPlus- Minitube, Alemanha). Quando a mobilidade individual não foi satisfatória (inferior a 30%), realizou-se, de seguida, uma nova colheita de sémen para nova análise antes de se emitir um parecer sobre o reprodutor.

#### **5.2.3.5. Preparação de Amostras**

Utilizou-se formol a 4% para fixar uma amostra de sémen diluído (na diluição de 1:200), de cada carneiro, para posterior determinação da concentração.

Prepararam-se também duas lâminas de cada amostra de sémen, coradas com eosina-nigrosina, de forma a identificar e contabilizar as anomalias morfológicas dos espermatozoides.

#### **5.2.3.6. Análise Posterior das Amostras**

O trabalho laboratorial, de análise das amostras, ocorreu nas 24 horas seguintes à recolha das amostras.

A concentração foi calculada através da amostra fixada em formol a 4% e a contagem foi feita através de uma câmara de contagem modelo Improve Neubauer (Hawksley, Inglaterra).

Com recurso às duas lâminas previamente coradas com eosina-nigrosina, os espermatozoides foram observados e identificados, quanto às suas características morfológicas como:

- Morfologia normal;
- Defeitos do acrossoma;
- Cabeça normal isolada;
- Macrocabeça;
- Microcabeça;
- Cabeça piriforme;
- Teratóide;
- Espermatozoide decapitado;
- Peça intermédia anómala;
- Dag;
- Retroflexão da cauda;
- Cauda enrolada;
- Dupla cauda;
- Pseudogota;
- Gota citoplasmática proximal.

Contaram-se 100 espermatozoides em animais que apresentaram até 20% de formas anómalas. Perante uma percentagem superior de anomalias, contabilizaram-se 200 espermatozoides.

#### **5.2.3.7. Classificação**

A classificação do exame andrológico foi dividida em três níveis: insatisfatório, questionável ou satisfatório (Tabela 1).

Para que um exame fosse classificado como satisfatório, consideravam-se os seguintes aspetos: inexistência de anomalias físicas que comprometam a cobertura; perímetro escrotal em animais adultos de pelo menos 30 cm; perímetro escrotal em animais jovens de pelo menos 27 cm; sémen com mobilidade retilínea e progressiva igual ou superior a 30% e anisoespermia inferior a 30%.

Por outro lado, para que um exame fosse classificado como questionável, consideravam-se os seguintes aspetos: anomalias físicas que comprometam a cobertura, caso estas sejam resolúveis com o tempo, ejaculado conspurcado ou perímetro escrotal em animais jovens entre 25 e 27 cm e sem outras anomalias.

Por fim, para que um exame fosse classificado como insatisfatório consideravam-se os seguintes aspetos: perímetro escrotal em animais adultos inferior a 30 cm; perímetro

escrotal em animais jovens inferior a 25 cm; anomalias físicas que comprometam a cobertura; sémen com mobilidade retilínea e progressiva inferior a 30% e/ou anisoespermia igual ou superior a 30%.

**Tabela 1- Critérios de classificação do exame andrológico**

<b>Classificação</b>	<b>Satisfatório</b>	<b>Questionável</b>	<b>Insatisfatório</b>
<b>Anomalias que comprometam a cobertura</b>	Não	Sim, caso sejam resolúveis com o tempo	Sim
<b>Perímetro escrotal</b>			
<b>Jovem (até 2,5 anos)</b>	≥ 27 cm	25-27 cm	< 25 cm
<b>Adulto</b>	≥ 30 cm	-	< 30 cm
<b>Ejaculado conspurcado</b>	Não	Sim	Não
<b>Mobilidade individual progressiva</b>	≥ 30 %	-	< 30 %
<b>Anisoespermia</b>	< 30 %	-	≥ 30 %

### 5.3. Análise estatística

Os dados foram organizados e analisados no software Microsoft Excel® de 2015 e a sua análise estatística foi realizada recorrendo ao programa SPSS® (Statistical Package for the Social Sciences) versão 28.

Foi realizada uma análise descritiva das variáveis, com a obtenção de médias, medianas, desvio-padrão, frequências relativas e absolutas, mínimos e máximos, consoante a necessidade de caracterizar as variáveis.

## 6. Resultados

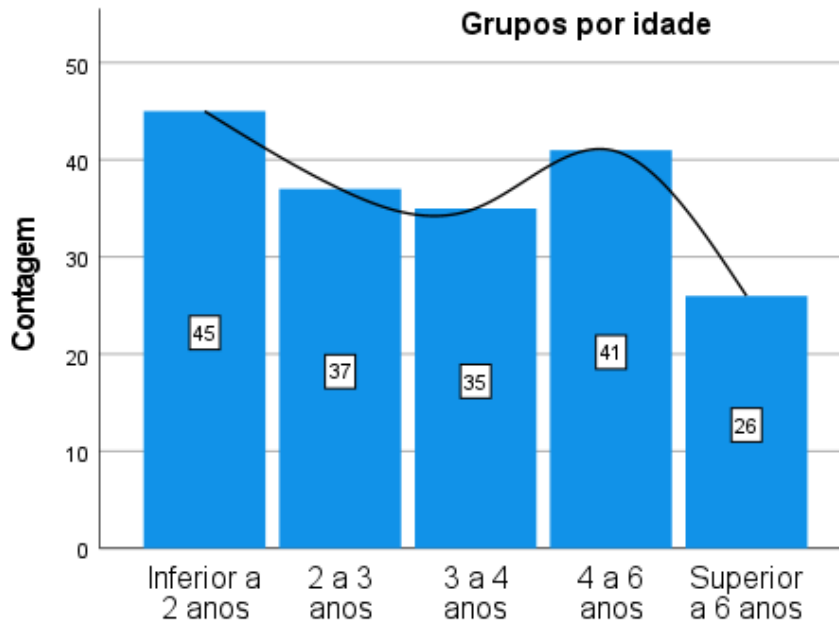
### 6.1. Idade

No presente estudo, a média de idades da amostra utilizada foi de 3 anos e 6 meses, com o animal mais jovem, com 12 meses e o animal mais velho, com 9 anos e 3 meses.

De modo a facilitar a análise estatística, os animais foram divididos em cinco escalões etários, sendo que em cada um destes grupos foram incluídos os animais que se encontravam em fases reprodutivas semelhantes. O primeiro grupo incluiu os machos com idade inferior a 2 anos, seguindo-se o grupo entre os 2 e 3 anos, o grupo entre os 3 a 4 anos, o grupo entre os 4 a 6 anos e, finalmente, o grupo de animais com idade superior a 6 anos.

O grupo mais jovem teve 45 animais, o grupo entre os 2 e 3 anos, 37 animais, o grupo entre os 3 e 4 anos incluiu 35 animais, enquanto o grupo entre os 4 e 6 anos ficou com 41 animais. O grupo com o menor número de animais foi o de idade superior a 6 anos, com 26 carneiros (Gráfico 1).

**Gráfico 1- Distribuição dos animais por grupos de idade**



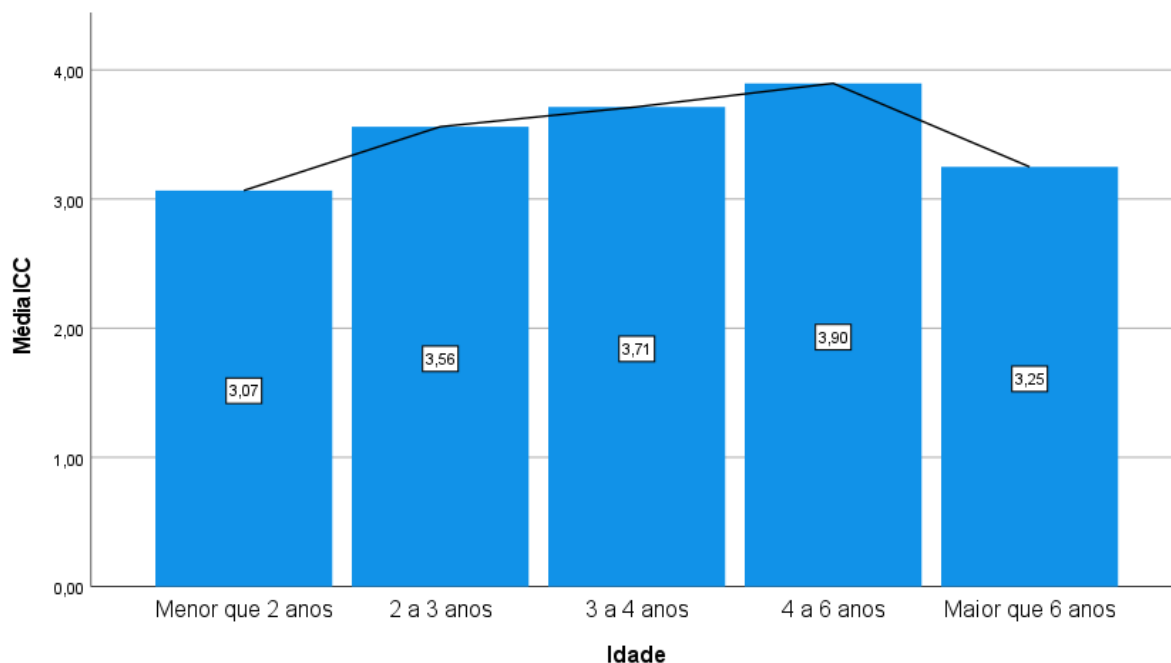
## 6.2. Condição corporal

Como o peso pode variar, de acordo com a raça e o tamanho do animal, a avaliação da CC é um procedimento importante na determinação do estado corporal dos carneiros. Todos os animais em estudo foram avaliados consoante a sua CC numa escala de 1 a 5.

A média e a mediana da CC da amostra foi de 3,5 e 3,75 respetivamente, tendo sido a CC mínima 1,5 e a CC máxima 4,5.

Como se pode ver no Gráfico 2, o valor médio da CC aumenta até ao grupo dos 4 a 6 anos de idade e diminui no grupo com mais de 6 anos.

**Gráfico 2- Valor médio da CC por grupos de idade**



### **6.3. Avaliação do Trato Reprodutor**

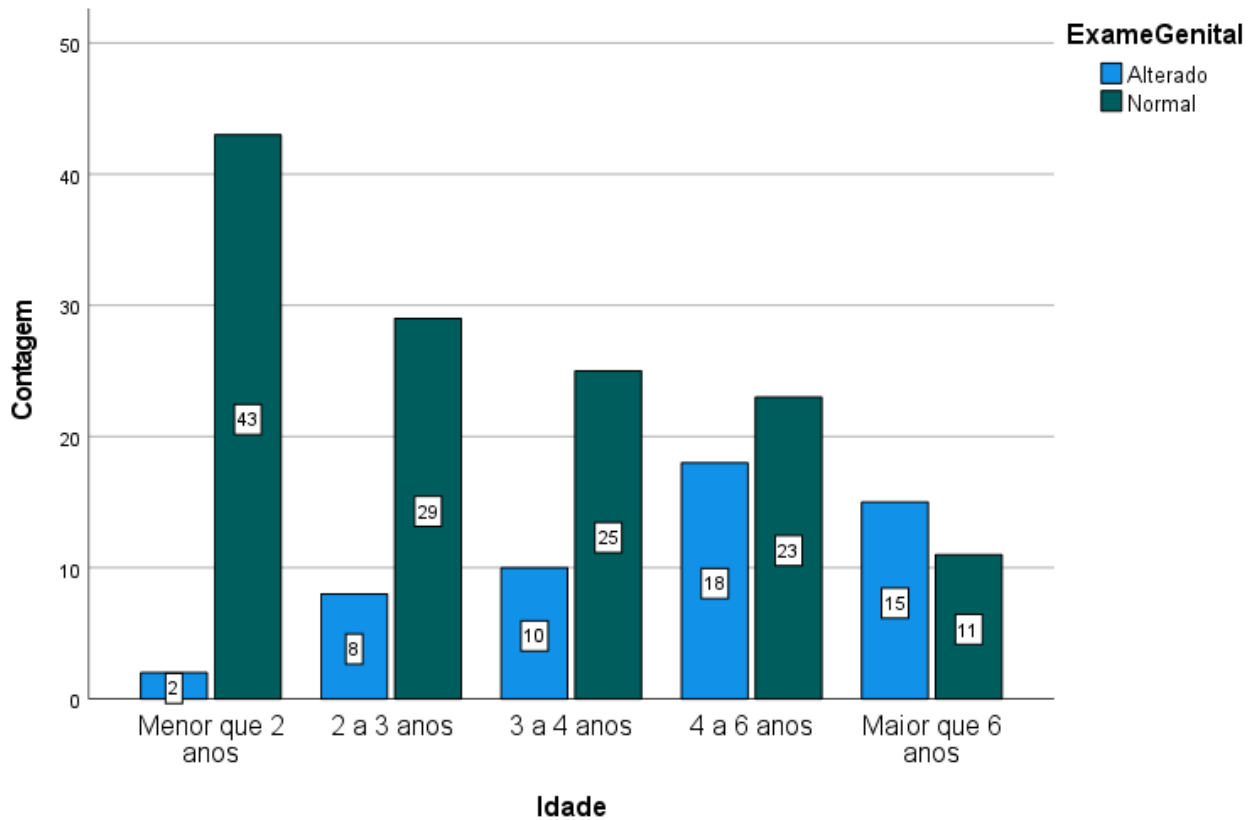
#### **6.3.1. Anomalias físicas no trato reprodutor**

As anomalias físicas no trato reprodutor incluem as alterações no orifício prepucial, na porção livre do pênis, nos cordões espermáticos, no escroto, nos testículos e nos epidídimos.

Dos 184 animais, incluídos no estudo, 131 (71,2%) não apresentaram qualquer tipo de anomalias com essa localização. Por outro lado, 53 carneiros (28,8%) revelaram anomalias físicas dessa índole.

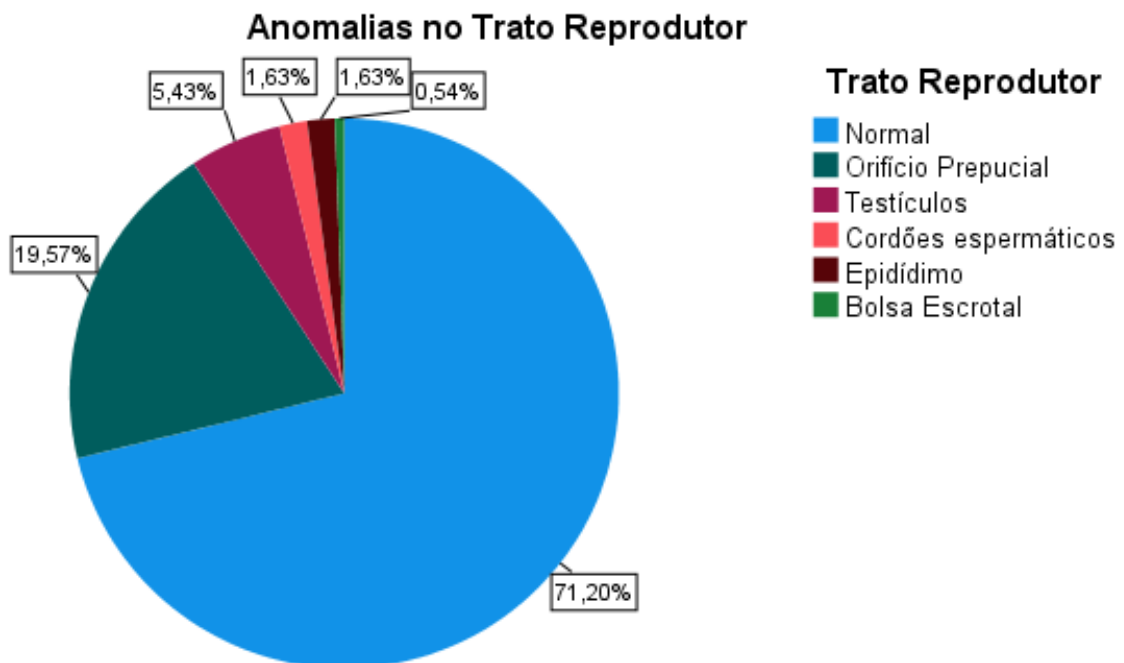
No Gráfico 3, pode verificar-se que as alterações no trato reprodutor aumentam com a idade, sendo quase nulas nos machos com menos de 2 anos.

**Gráfico 3- Distribuição dos machos com trato genital normal vs alterado, em função da idade**



A grande maioria das anomalias registradas foram alterações prepuciais adquiridas, 19,57% (36/184), maioritariamente resultante de antigas miíases (Fig.5D). Seguidamente, prevaleceram as alterações testiculares, 5,43% (10/184), as alterações nos epidídimos e nos cordões espermáticos, 1,63% (com 3/184 em cada) e, em menor número, as anomalias no escroto, 0,54% (1/184) (Gráfico 4).

**Gráfico 4- Distribuição dos machos em função do tipo de anomalias do trato reprodutor**



### 6.3.2. Perímetro escrotal

Todos os animais da raça Campaniça, envolvidos no presente estudo, apresentaram o escroto lanoso.

A média e a mediana do perímetro escrotal da amostra foi de 31,3 cm ( $\pm 2,7$  cm) e 31,5 cm, respetivamente, tendo sido o menor perímetro de 19,5 cm e o maior de 37,5 cm.

Excluindo os animais não aprovados e questionáveis ao exame andrológico, ficou-se com um total de 152 animais, e com uma média de 31,7 cm e mediana de 32,0 cm.

### 6.3.3. Bilobação escrotal

Para definir os diferentes graus de bilobação escrotal ao nível da rafe testicular, presente na raça Campaniça, foram definidas 3 classes de bilobação.

As proporções de cada classe de bilobação encontram-se descritas na Tabela 2, sendo que dos 184 animais do estudo, 150 (81,52%) apresentaram a forma da bolsa escrotal normal, em 22 (11,96%) machos a bolsa apresentou-se ligeiramente bilobada, enquanto em 7 (3,8%) carneiros ela era bilobada. Apenas 5 (2,72%) animais evidenciaram uma bolsa escrotal muito bilobada.

Tabela 2- Distribuição da forma da bolsa escrotal

	Frequência	Percentagem (%)
<b>Bolsa Escrotal</b>		
<b>Normal</b>	150	81,52
<b>Ligeiramente bilobada</b>	22	11,96
<b>Bilobada</b>	7	3,8
<b>Muito bilobada</b>	5	2,72
<b>Total</b>	<b>184</b>	<b>100,0</b>

### 6.3.4. Forma Testicular

Para a análise desta característica a amostra foi de 111 animais, dado que nos primeiros exames realizados este parâmetro não foi registado. Nesta amostra de 111 carneiros, verificou-se que 94 animais (84,68%) revelaram testículos ovóides, enquanto apenas 17 machos (15,32%) apresentaram testículos globosos.

## 6.4. Avaliação Seminal

### 6.4.1. Avaliação macroscópica

A caracterização do volume foi apenas realizada nos carneiros que apresentavam um ejaculado sem conspurcação, ou seja, 173 animais. A média e a mediana do volume do

sémen foi 1,1 mL ( $\pm 0,55$  mL) e de 1,0 mL, respetivamente, tendo sido o volume mínimo de 0,25 mL e o máximo de 3,5 mL.

Relativamente à cor, 93,99% (172/183) dos animais apresentaram um ejaculado branco-marfim, 4,92% amarelo (9/183), 0,55% rosado (1/183) e 0,55% transparente (1/183).

À semelhança do que aconteceu com a caracterização do volume, também a análise da fluidez foi realizada apenas nos animais que apresentavam um ejaculado sem conspurcação, ou seja, em 173 animais. Destes, 72,25% (125/173) apresentaram um ejaculado cremoso, 25,43% (44/173) leitoso e 2,31% (4/173) aquoso.

Neste contexto, é importante referir que a análise do cheiro é fundamental, especialmente em ejaculados de cor amarela, para confirmar ou excluir, a contaminação com urina.

## **6.4.2. Avaliação microscópica**

### **6.4.2.1. Mobilidade**

A avaliação da mobilidade massal foi apenas realizada nos machos que apresentaram um ejaculado sem conspurcação por urina, ou seja, em 173 animais.

A média e a mediana da mobilidade massal foram de 3,73 e 4,0, respetivamente, numa escala de 0 a 5.

Também a avaliação da mobilidade individual foi realizada apenas em animais que apresentaram um ejaculado limpo, sem conspurcação, ou seja, 173 animais. Apenas o primeiro ejaculado de cada animal foi utilizado na avaliação da mobilidade individual. A média e a mediana da mobilidade individual foi de 65,87% ( $\pm 20,2\%$ ) e 70,0%, respetivamente, tendo sido o valor mínimo de 0,0% e o máximo de 90,0%.

### **6.4.2.2. Concentração**

Na determinação da concentração seminal, foi utilizado o primeiro ejaculado de cada animal (n=168), excluindo-se os machos que apresentaram mobilidade individual inferior a 30,00%. A média e a mediana da concentração seminal foi de  $2,50 \times 10^9$  Spz/mL e  $2,38 \times 10^9$  Spz/mL, respetivamente, sendo o seu valor mínimo de  $3,40 \times 10^8$  Spz/mL e o máximo de  $8,10 \times 10^9$  Spz/mL.

### **6.4.2.3. Anomalias dos espermatozoides (anisoespermia)**

Em relação à contabilização das anomalias obtidas no spermograma, foi utilizado o primeiro ejaculado, não conspurcado, de cada animal, excluindo os machos que revelaram uma mobilidade individual inferior a 30,0%. A média e a mediana da percentagem de

anomalias registadas foi de 6,31% ( $\pm 5,46\%$ ) e de 5,0%, respetivamente, tendo sido o seu valor mínimo de 0,0% e o máximo de 49,0%.

Aquando da utilização da coloração com o corante eosina-nigrosina, o espermatozoide corado tem a membrana permeável, ou seja, é considerado morto. À semelhança do que aconteceu com a determinação da anisoespermia, também na contabilização dos espermatozoides corados (mortos) foi utilizado o primeiro ejaculado, não conspurcado de cada animal, excluindo-se os machos que apresentaram mobilidade individual inferior a 30,0%. A média e a mediana da percentagem de espermatozoides corados (necroespermia) foi de 12,6% ( $\pm 7,01\%$ ) e 11,0%, respetivamente, tendo sido o seu valor mínimo de 2,0% e o máximo de 40,0%.

Foram sujeitos a esta análise 167 animais, tendo sido feita a classificação e o registo das anomalias no primeiro ejaculado. Excluíram-se os animais que apresentaram mobilidade individual inferior a 30% e/ou o ejaculado conspurcado. Os resultados do registo das anomalias estão apresentados na Tabela 3.

No registo das diferentes anomalias, considerou-se o valor igual ou superior a 3% de uma determinada anomalia como sendo o limite a partir do qual ela seria significativa para um dado macho da raça. Assim, o número de uma dada anomalia só teria significado quando a sua presença era igual ou superior a 3%.

Constatou-se a existência de machos que apresentaram mais do que uma anomalia em número de valor igual ou superior a 3%.

Quanto à presença de anomalias por escalão etário, os carneiros entre os 4 e 6 anos foram os que apresentaram a anisoespermia mais elevada (44,44%), enquanto os que revelaram a mais baixa (34,78%) foram os de idade superior a 6 anos.

As anomalias mais frequentes foram as cabeças normais isoladas (16,77%), seguindo-se anomalias do acrossoma (12,57%). Teratóide, dupla cauda e gota citoplasmática proximal foram residuais, dado que nenhum macho registou um valor igual ou superior a 3 % em qualquer uma delas. As cabeças normais isoladas são as anomalias encontradas mais frequentemente em todos os escalões etários, exceto no grupo de 2 a 3 anos, que apresentou em maior número anomalias do acrossoma.

Todos os escalões etários apresentaram animais com anomalias do acrossoma, cabeça normal isolada e retroflexão distal da peça intermédia. No entanto, a macrocabeça e a microcabeça não foram encontradas nos animais com idade superior a 4 anos. Pelo contrário, cabeças piriformes apenas foram registadas em animais dos 2 anos aos 6 anos e as anomalias da peça intermédia em animais com idade superior a 4 anos. A anomalia Dag foi encontrada em todas as idades, exceto nos animais entre os 3 e 4 anos. Caudas

enroladas foram registadas num único animal, com idade entre os 2 e os 3 anos.

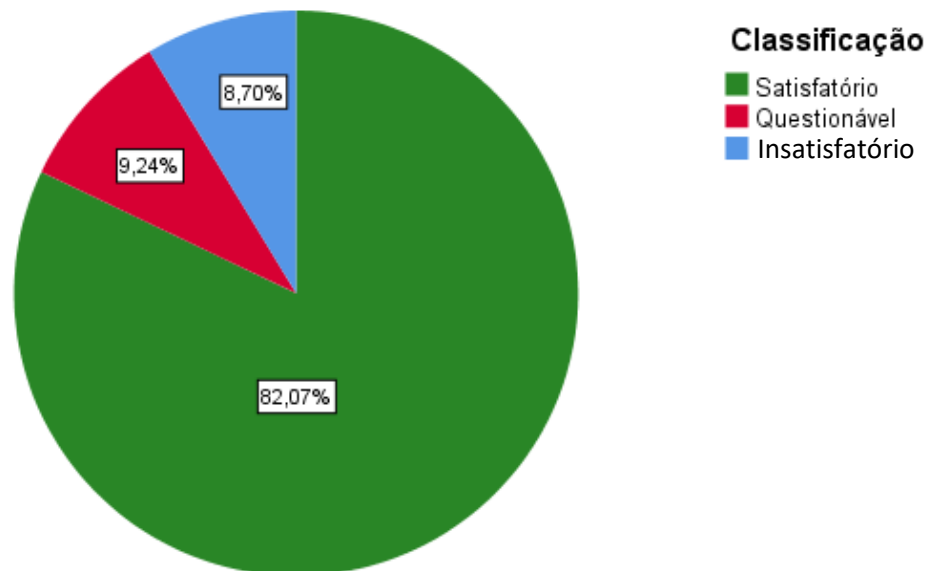
**Tabela 3- Distribuição das anomalias espermáticas por escalão etário**

Idade	Inferior a		3 a 4 anos	4 a 6 anos	Superior		Total
	2 anos	2 a 3 anos			a 6 anos	a 6 anos	
<b>Acrossoma</b>	7/40 (17,5%)	6/34 (17,65%)	2/34 (5,88%)	3/36 (8,33%)	3/23 (13,04%)	<b>21/167-</b> 12,57%	
<b>C. normal isolada</b>	10/40 (25,0%)	3/34 (8,82%)	5/34 (14,71%)	5/36 (13,89%)	5/23 (21,74%)	<b>28/167-</b> 16,77%	
<b>Macrocabeça</b>	2/40 (5,0%)	1/34 (2,94%)	1/34 (2,94%)	-	-	<b>4/167-</b> 2,40%	
<b>Microcabeça</b>	1/40 (2,5%)	1/34 (2,94%)	1/34 (2,94%)	-	-	<b>3/167-</b> 1,80%	
<b>Cabeça piriforme</b>	-	3/34 (8,82%)	4/34 (11,76%)	2/36 (5,56%)	-	<b>9/167-</b> 5,39%	
<b>Peça intermédia</b>	-	-	-	2/36 (5,56%)	1/23 (4,35%)	<b>3/167-</b> 1,80%	
<b>Dag</b>	4/40 (10,0%)	1/34 (2,94%)	-	1/36 (2,78%)	1/23 (4,35%)	<b>7/167-</b> 4,19%	
<b>Retroflexão</b>	4/40 (10,0%)	2/34 (5,88%)	1/34 (2,94%)	1/36 (2,78%)	1/23 (4,35%)	<b>9/167-</b> 5,39%	
<b>Cauda enrolada</b>	-	1/34 (2,94%)	-	-	-	<b>1/167-</b> 0,60%	
<b>Dupla cauda</b>	-	-	-	-	-	-	
<b>Gota cito. prox.</b>	-	-	-	-	-	-	
<b>Teratóide</b>	-	-	-	-	-	-	
<b>Total de anomalias</b>	<b>28</b>	<b>18</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>11</b>	<b>85</b>	
<b>Animais com anomalias</b>	<b>15</b>	<b>14</b>	<b>13</b>	<b>16</b>	<b>8</b>	<b>66</b>	
<b>Animais incluídos</b>	<b>40</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>36</b>	<b>23</b>	<b>167</b>	
<b>% de animais com alterações relativamente aos da sua idade</b>	37,5%	41,18%	38,24%	44,44%	34,78%	<b>39,52%</b>	

## 6.5. Classificação dos exames

Dos 184 animais em estudo, 151 (82,07%) obtiveram uma classificação de exame satisfatório, 17 (9,24%) questionável e 16 (8,70%) insatisfatório, segundo os critérios pré-estabelecidos (Gráfico 5).

**Gráfico 5- Classificação dos exames andrológicos**



Os principais motivos assinalados para os exames andrológicos terem sido classificados como questionáveis foram o perímetro escrotal entre 25 e 27 cm, em animais jovens, (10/17) e o ejaculado conspurcado com urina (5/17). Relativamente aos exames classificados como insatisfatórios, os principais motivos assinalados foram o perímetro escrotal inferior a 27 cm, em adultos, e 25 cm, em jovens, (9/16) e anisoespermia igual ou superior a 30% (3/16), como se pode observar na Tabela 4.

**Tabela 4- Distribuição e motivos para a classificação como questionável ou insatisfatório**

<b>Motivo</b>	<b>Nº de animais</b>
<b>Questionável</b>	
• Perímetro escrotal entre 25 - 27cm em jovens	10
• Ejaculado contaminado com urina	5
• Balanopostite	1
• Claudicação	1
<b>Insatisfatório</b>	
• Perímetro escrotal inferior a 27 cm em adultos e 25 cm em jovens	9
• Anisoespermia igual ou superior a 30%	3
• Hipoplasia testicular	1
• Alteração testicular	2
• Claudicação crónica	1

## **6.6. Resultados da segunda colheita**

Dos 184 animais em estudo, foi necessário realizar uma segunda recolha de sémen a 19 carneiros.

Os critérios considerados para repetir-se a recolha foram diversos. Assim, desses 19 machos, 10 apresentaram uma mobilidade individual inferior a 30%, 8 tiveram o seu ejaculado contaminado com urina e 1 carneiro, simplesmente, não respondeu à primeira estimulação. Em resumo, dos animais sujeitos a uma segunda recolha de sémen, 11 carneiros tiveram o exame classificado como satisfatório, 6 como questionável e 2 animais foram classificados como insatisfatório.

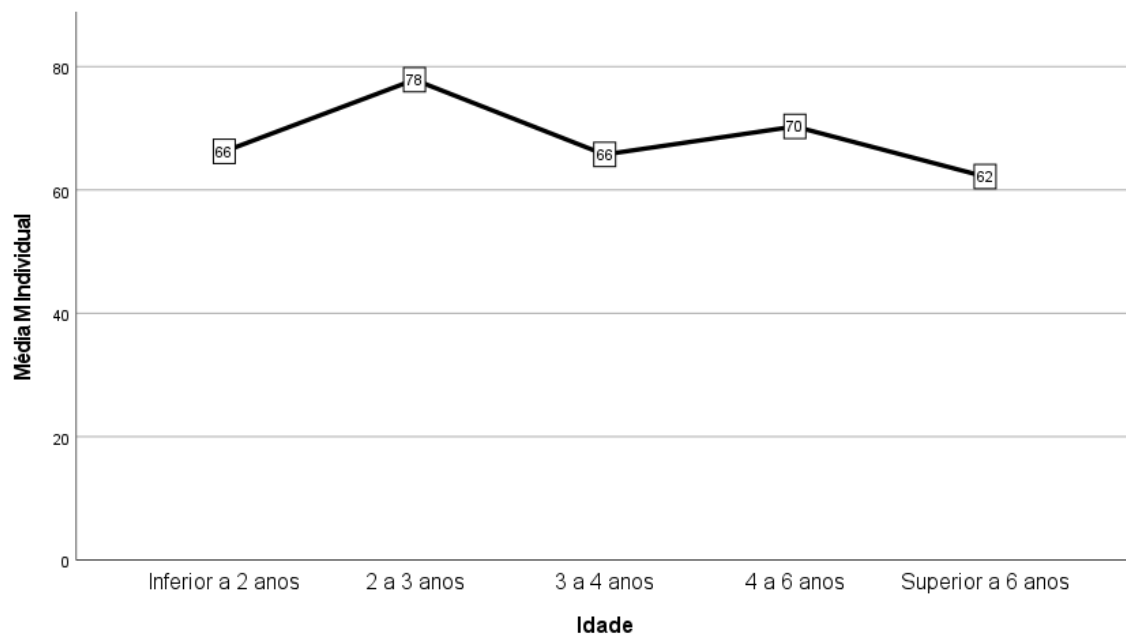
## **6.7. Relação entre variáveis**

### **6.7.1. Mobilidade individual e idade**

Para avaliação da mobilidade individual por escalão etário, excluíram-se os animais com alterações no trato genital ou por conspurcação do ejaculado com urina ou sangue.

Assim, como se pode verificar no Gráfico 6 que a seguir se apresenta, o valor médio da mobilidade individual revela o seu máximo no grupo de idades entre os 2 e 3 anos (78%), e o mínimo no grupo de idades superior a 6 anos (62%).

**Gráfico 6- Distribuição da mobilidade individual por grupos de idade**

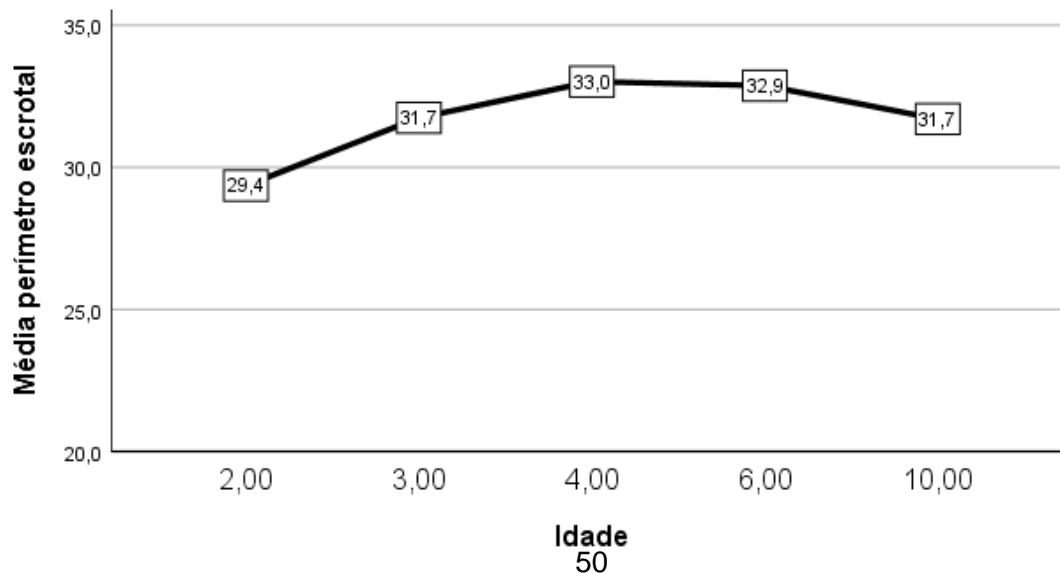


### 6.7.2. Perímetro escrotal e idade

Para avaliação do perímetro escrotal por escalão etário, excluíram-se os animais com exame andrológico questionável ou insatisfatório.

Assim, como se pode observar no Gráfico 7, a média do perímetro escrotal aumenta até aos 3 a 4 anos, onde atinge o valor mais elevado de 33,0 cm. Posteriormente, diminui ligeiramente até os 31,7 cm.

**Gráfico 7- Distribuição do perímetro escrotal médio por grupos de idade**



### **6.7.3. Condição corporal, qualidade do sémen e perímetro escrotal**

Através da correlação de Spearman, foram avaliadas as correlações entre a CC dos animais em estudo e o perímetro escrotal ( $p < 0,001$ ;  $r = 0,363$ ), mobilidade individual ( $p = 0,906$ ), anomalias no espermograma ( $p = 0,967$ ) e vitalidade dos espermatozoides ( $p = 0,048$ ;  $r = 0,156$ ). Foi apenas observada associação significativa entre a CC e o perímetro escrotal e a CC e a vitalidade dos espermatozoides.

### **6.7.4. Perímetro escrotal e qualidade do sémen**

Através da correlação de Spearman, foram avaliadas as correlações entre o perímetro escrotal dos animais em estudo e a mobilidade individual ( $p = 0,697$ ), anomalias no espermograma ( $p = 0,184$ ) e vitalidade dos espermatozoides ( $p = 0,303$ ). Não foi observada qualquer associação significativa entre o perímetro escrotal e os parâmetros de avaliação da qualidade do sémen.

### **6.7.5. Bilobação escrotal e qualidade do sémen**

Através do teste de Kruskal-Wallis, tentou verificar-se se existiam relações entre a bilobação escrotal dos animais em estudo e a mobilidade individual ( $p = 0,966$ ), anomalias no espermograma ( $p = 0,240$ ) e vitalidade dos espermatozoides ( $p = 0,163$ ). Não foi observada qualquer associação significativa entre a bilobação escrotal e os parâmetros atrás referidos.

### **6.7.6. Forma testicular e qualidade do sémen**

Através do teste de Mann-Whitney, tentou verificar-se se existiam relações entre a forma testicular dos animais em estudo e a mobilidade individual ( $p = 0,033$ ), anisoespermia ( $p = 0,490$ ) e vitalidade dos espermatozoides ( $p = 0,029$ ) (Tabela 5). Não foi observada qualquer associação significativa entre a forma testicular e a anisoespermia. Por outro lado, registou-se uma associação significativa entre a forma testicular e, a mobilidade individual e a vitalidade dos espermatozoides.

**Tabela 5- Resultados dos parâmetros avaliados em relação à qualidade de sémen**

<b>Forma Testicular</b>		<b>Mobilidade Individual</b>	<b>Anisoespermia</b>	<b>Vitalidade</b>
<b>Globosos</b>	<b>Média</b>	65,29	4,76	13,94
	<b>N</b>	17	17	17
	<b>Desvio padrão</b>	13,28	2,97	7,42
<b>Ovóide</b>	<b>Média</b>	72,44	6,23	10,22
	<b>N</b>	90	90	90
	<b>Desvio padrão</b>	15,24	6,39	5,76
<b>Total</b>	<b>Média</b>	71,31	6,00	10,81
	<b>N</b>	107	107	107
	<b>Desvio padrão</b>	15,11	5,99	6,17

### **6.7.7. Idade e qualidade do sémen**

Com recurso ao teste de Kruskal-Wallis, tentou verificar-se se existiam relações entre a idade dos animais em estudo e a mobilidade individual ( $p < 0,001$ ), anomalias no espermograma ( $p = 0,296$ ) e vitalidade dos espermatozoides ( $p = 0,075$ ). Não foi observada qualquer associação significativa entre a idade e a anisoespermia e a vitalidade dos espermatozoides. Por outro lado, registou-se uma associação significativa entre a idade e a mobilidade individual.

### **6.7.8. Perímetro escrotal e idade**

Através do teste de Kruskal-Wallis, tentou verificar-se se existia relação entre a idade dos animais em estudo e o perímetro escrotal ( $p < 0,001$ ). Conclui-se que se obteve uma associação significativa entre a idade e o perímetro escrotal.

### **6.7.9. Anisoespermia e mobilidade individual**

Através da correlação de Spearman, foi avaliada a correlação entre a mobilidade individual e a anisoespermia ( $p < 0,001$ ;  $r = -0,203$ ). Conclui-se que houve uma associação significativa entre a mobilidade individual e a anisoespermia.

## **7. Discussão**

Previamente à discussão dos resultados obtidos, importa referir que este estudo decorreu em 7 explorações que se encontram, geneticamente, muito ligadas entre si. Como se trata de uma raça que apresenta um número relativamente pequeno de animais inscritos no livro genealógico, os produtores, para assegurarem a variabilidade genética e reduzir a consanguinidade, adquirem animais de substituição fora da exploração. Todavia, fazem-no

maioritariamente numa única e mesma exploração, o que fez com que a maioria dos efetivos englobados neste estudo tivessem a mesma base genética.

### **7.1. Anamnese e exame físico geral**

A maioria dos carneiros em cobrição apresenta uma idade até aos 6 anos, o que poderá indicar que este seja o escalão etário a partir do qual, os reprodutores apresentam uma taxa de refugo mais elevada. As causas mais frequentes são a perda de dentição, a diminuição da condição corporal e a presença de doenças crónicas, o que está de acordo com o referido por Van Metre et al. (2012). Segundo estes autores, os carneiros mais velhos podem ter um maior risco de doenças crónicas, debilidade, anomalias físicas, doença dentária e/ou uma redução da fertilidade.

No entanto, na opinião de alguns outros autores, desde que os animais estejam aptos no exame andrológico e bem fisicamente, não há razão para refugar animais, por esse motivo (Ntemka et al. 2019). Assim, deve fazer-se uma seleção de reprodutores que consigam manter uma longevidade produtiva, para que possam transmitir esses caracteres à sua descendência, sendo por isso vantajoso mantê-los em reprodução, bem como os animais que não apresentem maior sensibilidade para as anomalias adquiridas ou os que revelam maior resistência à perda de dentição. De facto, a dentição condiciona a alimentação e por isso, pode afetar a condição corporal e representar um grande impacto na vida produtiva, já que é a maior causa de refugo de animais mais velhos.

A este propósito importa fazer referência a um estudo, realizado em Aragão (Espanha) entre março e dezembro de 2012, com 897 animais da raça Aragonesa, com um período mínimo de 2 meses de espera da última cobrição (Mozo et al. 2015), como aconteceu no presente trabalho. Esses autores obtiveram uma taxa de reprovação significativamente superior nos animais com idade superior a 72 meses, quando comparados com animais de idade inferior. Outro estudo, levado a cabo por Molina et al. (2020), também em Espanha, concluiu que a idade dos animais aprovados é menor e que o período ótimo da vida produtiva/reprodutiva se situa entre os 2 e 3 anos de idade. Considerou ainda que em idades mais avançadas se vão acumulando patologias, sendo mais elevada a prevalência de processos infecciosos, sobretudo miíases no prepúcio. Pudemos verificar que o mesmo acontece em relação à raça Campaniça em que, com o aumento da idade, o número de animais com alterações no exame físico foi mais elevado em relação aos animais mais jovens.

A idade média dos machos do presente estudo foi de 3,5 anos, o que vai ao encontro dos estudos de Arrebola-Molina et al. (2020) e de Molina et al. (2020). Estes trabalhos tiveram lugar na zona de Extremadura e Andaluzia (Espanha), zona contígua à área de realização do presente estudo, com 966 animais, em 45 explorações, com as recolhas feitas

entre setembro de 2017 e janeiro de 2019 (Arrebola-Molina et al. 2020). Registaram uma idade média de 3,26 anos nos animais aprovados e de 3,71 nos não aprovados.

A condição corporal média de 3,5 (escala de 1 a 5) encontra-se dentro do intervalo de valores recomendados para entrada à cobertura (3,5-4) (Gouletsou and Fthenakis 2010). Como esta recolha de dados decorreu entre o fim do inverno e o início da primavera, os animais, na sua grande maioria, encontravam-se a campo num período do ano em que existia alimento em abundância. Esta condição pode explicar que a mediana fosse de 3,75 e que se tenha verificado uma elevada percentagem de animais com condição corporal superior ao recomendado. No entanto, também se encontraram alguns animais com condição corporal inferior ao aconselhado, o que pode ter resultado da falta de suplementação alimentar ou em virtude de uma época de cobertura longa. Para além disso, observou-se que a condição corporal diminuiu nos animais com idade superior a 6 anos, o que pode dever-se à perda da dentição mais frequente nos machos mais velhos ou a uma maior prevalência de lesões. A condição corporal também se revelou inferior ao recomendado nos animais com idade inferior a 2 anos. No entanto, tal pode dever-se ao facto destes animais ainda se encontrarem em crescimento.

Um estudo semelhante (Santos et al. 2016), realizado em Espanha, com a avaliação do ponto de vista reprodutivo de machos ovinos de aptidão cárnica em regime de monta natural, registou uma condição corporal média de 3,32 (escala de 1 a 5). Quando comparada com a do presente estudo, os valores então obtidos foram inferiores, como o são inferiores relativamente aos valores recomendados para a entrada à cobertura (Gouletsou and Fthenakis 2010). No estudo de Molina et al. (2020) foi registada uma condição corporal de 3,26 nos machos aprovados e de 3,71, nos não aprovados, o que resultou que os animais aptos estavam, em média, com uma condição corporal inferior ao valor mínimo recomendado, enquanto os não aptos se encontravam dentro do intervalo ótimo. No entanto, ambos os estudos decorreram durante longos períodos de tempo ao longo de todas as épocas do ano, assim como em épocas de pouca disponibilidade alimentar, o que não aconteceu no presente trabalho, que coincidiu com a época do ano de maior abundância de pastagem.

## **7.2. Trato reprodutor**

Cerca de 28,8% dos animais do presente estudo apresentaram alguma alteração no trato reprodutor, sendo as mais frequentes as anomalias no orifício prepucial (19,57%) e as anomalias nos testículos (5,43%). Ao estabelecermos uma comparação com o estudo de Mozo et al. (2015), onde se verificou que 31,6% dos animais apresentavam alguma alteração nos genitais, 18,7% evidenciavam alterações no orifício prepucial e 5,3%

revelaram alterações nos testículos, pode-se concluir que os valores agora obtidos foram muito semelhantes.

De salientar que embora 28,8% dos animais estudados tenham apresentado alguma anomalia no trato reprodutor, isso não significou que fossem inférteis ou subférteis. A maioria das alterações localizaram-se no orifício prepucial e, não comprometendo a exteriorização e a recolha do pénis, estes animais puderam ter um exame satisfatório na ausência de outras alterações e quando a restante marcha do exame andrológico foi satisfatória.

Verificou-se ainda que as anomalias físicas adquiridas eram mais frequentes à medida que a idade ia aumentando e, no grupo com idade superior a 6 anos, registou-se um maior número de animais com algum tipo de anomalia. Estas alterações foram, sobretudo, alterações no orifício prepucial resultante de miíases, o que está em concordância com o trabalho de Molina et al. (2020). Num outro estudo (Mozo et al. 2015) foi identificada uma associação entre a idade e a prevalência de alterações, especialmente alterações no orifício prepucial, especificamente resultantes de miíases, tal como agora se verificou. No entanto, como referido por aqueles autores, o seu estudo teve como limitação não ter sido realizada a análise seminal.

Como seria de esperar, registou-se uma associação entre o perímetro escrotal e a idade, já que entre os animais em análise havia os que ainda se encontravam em crescimento (até aos 3 anos de idade). No entanto, o limiar mínimo da circunferência escrotal para raças pequenas, referido na literatura, parece ser muito elevado no que se refere à raça Campaniça. Um trabalho realizado em Espanha (Antón et al. 2012c), estabeleceu um perímetro escrotal para raças de pequeno porte, como a raça Campaniça de 34 - 36 cm, para os animais adultos e de 30-32 cm, para os animais jovens. No entanto, no presente trabalho obteve-se um valor médio, nos animais aprovados, de 31,7 cm, que é inferior a todos os apresentados por outros autores. Trabalhos semelhantes (Arrebola-Molina et al. 2020; Lovatt et al. 2016; Santos et al. 2016) (este último realizado em Inglaterra com 280 carneiros, no outono) obtiveram respetivamente, 33,85 cm, 37 cm e 34,66 cm, de valor médio do perímetro escrotal.

De acordo com os dados agora obtidos, verificou-se um aumento do valor médio do perímetro escrotal até ao grupo com idade entre os 3 a 4 anos, com o valor máximo médio de 33 cm. O valor médio decresce a partir do grupo com idades entre os 4 e 6 anos. No entanto, comparando com o estudo de Arrebola-Molina et al. (2020), verificou-se que na raça Campaniça, esse valor médio deixa de aumentar mais precocemente, já que no referido estudo ele aumentou até aos 5 anos de idade.

Para além disso, verificou-se uma correlação entre o perímetro escrotal e a idade, assim como entre a condição corporal e o perímetro escrotal, em concordância com outros

estudos (Arrebola-Molina et al. 2020; Boussena et al. 2014), sendo este último um estudo que caracterizou uma raça ovina da Argélia. No entanto, de acordo com os dados obtidos, concluiu-se que o perímetro escrotal não está relacionado com a qualidade do sêmen.

Do mesmo modo, pode concluir-se que não existe diferença estatística relativamente a bilobação escrotal e a qualidade do sêmen, o que está em concordância com o estudo de Rocha et al. (2018).

### **7.3. Avaliação seminal**

Em todos os trabalhos consultados foi utilizada a electroejaculação, como método de recolha de sêmen, o que também se verificou no presente trabalho.

A resposta à electroejaculação na obtenção de um ejaculado foi muito satisfatória, o que pode dever-se à época do ano, ao tipo de alimentação fornecida e ao domínio da técnica. De facto, todos os animais testados comiam alimento fresco, a campo, com elevado teor de água, o que está associado a uma maior facilidade de resposta à electroejaculação e à obtenção de melhores ejaculados (Mcgowan 2019).

O volume seminal médio da raça Campaniça foi de 1,1 mL, o que está de acordo com os valores médios encontrados na bibliografia. González et al. (2012) consideram um valor médio de 1 mL, podendo variar entre 0,3mL e 3 mL. Outros autores (Ainudeen et al. 2006) definem o valor médio entre 0,8 mL e 1,2 mL. Em dois estudos semelhantes (Arrebola-Molina et al. 2020, Santos et al. 2016) obtiveram-se valores distintos. O primeiro registou valores inferiores aos agora obtidos, enquanto o segundo obteve um valor superior. No entanto, todos estes valores encontram-se dentro do intervalo aceitável, registando-se no primeiro, 0,81 mL, nos animais aprovados e 0,73 mL, nos não aprovados e, no segundo 1,67 mL, respetivamente. Esta variação valida os resultados agora obtidos já que, à semelhança dos valores destes dois estudos, os obtidos no presente estudo encontram-se dentro dos intervalos médios.

A concentração do sêmen, com um valor médio de  $2,5 \times 10^9$  Spz/mL também se encontra, no presente estudo, dentro do intervalo de referência. No entanto, com um valor inferior aos valores médios entre  $3,0 \times 10^9$  Spz/mL e  $5,0 \times 10^9$  Spz/mL, de acordo com os resultados de González et al. (2012) e superior ao valor médio referido por Ainudeen et al. (2006) de  $1,5 \times 10^9$  Spz/mL. Todavia, este valor não está relacionado com a fertilidade do reprodutor. Trabalhos semelhantes (Santos et al. 2016; Arrebola-Molina et al. 2020), obtiveram uma média de  $2,92 \times 10^9$  Spz/mL e  $4,65 \times 10^9$  Spz/mL nos machos aprovados e de  $1,40 \times 10^9$  Spz/mL, nos não aprovados, respetivamente. Porém, estes trabalhos recorreram à estimativa da concentração por fotometria, enquanto no presente trabalho, recorreu-se ao hematocítmetro. Assim, o primeiro trabalho obteve um valor superior, englobando todos os animais e o segundo obteve um valor superior nos animais aprovados e um inferior nos não

aprovados, o que poderá estar de acordo com os dados agora apresentados, já que o valor da concentração é global.

A mobilidade massal média obtida neste estudo, foi de 3,73 (escala de 0 a 5), sendo superior à obtida nos estudos de Santos et al. (2016) e Arrebola-Molina et al. (2020), que registaram 2,75 (o primeiro) e, 2,97, nos animais aptos e 0,49 nos não aptos (o segundo), o que indica uma colheita e manipulação corretas dos ejaculados.

A mobilidade individual obtida neste estudo, com uma média 65,87 %, é superior à apresentada num estudo semelhante (Santos et al. 2016), que registou 55,9 %, e à apresentada no trabalho de Arrebola-Molina et al. (2020), que registaram 52,98 % de movimentos retilíneos uniformes nos animais aptos e 5,06 % nos não aptos. O estudo de Molina et al. (2020), em que os exames andrológicos decorreram ao longo do ano, reportou que não foi detetado qualquer efeito do fator estação do ano, exceto na concentração espermática. Assim sendo, poderemos comparar com maior segurança com os dados obtidos neste estudo, já que os exames andrológicos decorreram entre janeiro e maio do mesmo ano.

Foi observada uma relação entre a mobilidade individual e a anisoespermia, o que está de acordo com outros estudos (Boussena et al. 2014, Oliveira Menegassi et al. 2014), tendo este último sido realizado no Brasil, contemplando 1.017 exames andrológicos.

Registou-se igualmente uma associação entre a mobilidade individual e a idade, o que contraria o referido por Boussena et al. (2014) sendo que, no presente estudo, aquela aumenta entre o grupo com idade inferior aos 2 anos e o grupo com idade entre 2 a 3 anos, onde atinge o valor médio mais elevado (78%), e depois vai diminuindo sempre, até atingir o valor médio mais baixo no grupo com idade superior a 6 anos (62%). Tendo sido considerados apenas os machos que apresentam uma mobilidade superior ao mínimo aceite no exame andrológico satisfatório (30%).

Boussena et al. (2014) associaram, com significância estatística, o perímetro escrotal à morfologia anormal dos espermatozoides. No entanto, essa relação não foi encontrada neste trabalho.

Para além disso, observou-se, no presente trabalho, que a forma testicular está relacionada com a qualidade do sémen e verificou-se que a mobilidade individual, nos reprodutores com testículos de forma ovóide, era superior em 7% aos que apresentaram forma globosa. Os reprodutores com testículos ovóides também apresentaram uma vitalidade espermática superior em 4%, no entanto, registaram mais 1,5% de anomalias no espermograma. Assim, podemos especular que os reprodutores com testículos de forma ovóide apresentam uma qualidade seminal significativamente melhor, comparativamente aos reprodutores com testículos de forma globosa.

#### **7.4. Resultado dos exames andrológicos**

A bibliografia refere que cerca de 3,5% a 10% dos reprodutores ovinos machos são inférteis e, até 30% podem ser subférteis (Rivero et al. 2012). No entanto, neste trabalho, os resultados não corroboraram totalmente com aqueles valores, pois 82,07 % dos machos obtiveram um exame satisfatório, 9,24% questionável e 8,7% insatisfatório.

Todos os estudos consultados apresentaram valores superiores de exames andrológicos insatisfatórios, como Van Metre et al. (2012), Mozo et al. (2015), Lovatt et al. (2016) e Arrebola-Molina et al. (2020), respetivamente com 18,1%, 16,7%, 12,9% e 13,5%. Em relação aos exames questionáveis, Lovatt et al. (2016) e Arrebola-Molina et al. (2020) apresentaram valores muito inferiores de exames questionáveis, respetivamente, 3,2% e 3%. No entanto, Van Metre et al. (2012) obtiveram um valor ligeiramente superior ao verificado no presente estudo. A causa do número substancialmente superior da percentagem de exames questionáveis, pode ser explicada pelos critérios estabelecidos para o perímetro escrotal, já que esta é a principal causa para a atribuição de classificação questionável. Com efeito, como não está descrito e/ou definido o valor do perímetro escrotal mínimo para esta raça autóctone, ao especular-se, tendo por base outras raças e as características próprias da raça Campaniça, pode ser alterada a prevalência dos machos com classificação de questionável, quando em comparação com outros trabalhos relativos a outras raças. A título de exemplo, caso se considerasse um valor mínimo de perímetro escrotal semelhante ao usado para outras raças de ovinos, mais pesadas, obteríamos um maior número de animais com classificação insatisfatória e, conseqüentemente, menos animais com classificação questionável, o que provavelmente aproximaria estes resultados dos obtidos nos outros trabalhos.

Os estudos desenvolvidos por Mozo et al. (2015), Lovatt et al. (2016) e Arrebola-Molina et al. (2020), apresentam com classificação satisfatória, respetivamente, 83,3%, 83,9% e 83,5% dos animais examinados. Quando comparado com os resultados agora obtidos, observamos que estes valores são semelhantes, o que poderá significar que obtivemos resultados bastante realistas e semelhantes a trabalhos desenvolvidos por outras pessoas, noutras regiões e todos eles com uma amostra maior. Todavia, o estudo levado a cabo por Van Metre et al. (2012), com 14.667 exames andrológicos realizados nos Estados Unidos da América (EUA), apresenta 71,1% dos exames com classificação satisfatória, sendo um valor inferior ao obtido no presente trabalho. No entanto, o estudo em questão tem como limitação uma classificação dos exames andrológicos sem a realização do espermograma, nem a classificação e quantificação das anomalias dos espermatozoides, o que poderá ter condicionado os resultados por eles obtidos.

Embora a bibliografia sugira valores superiores de animais inférteis e subférteis do que aqueles que foram registados no presente estudo, com a exceção de um deles que foi

levado a cabo de forma incompleta, podemos especular que poderá existir um maior número de animais subférteis, que não foram identificados através de um único exame andrológico de rotina. Como exemplo, podemos referir animais com líbido reduzida, incapazes do encobrimento ou cujas anomalias dos espermatozoides não eram visíveis ao microscópico ótico. Perante o exposto, dentro dos animais com classificação satisfatória, poderão estar alguns machos subférteis.

Refira-se que uma das causas que poderá estar na origem destes valores pode ter a ver com o facto de os exames andrológicos terem sido realizados na altura do ano em que não ocorrem temperaturas ambientais muito elevadas, o que poderá estar na origem da baixa percentagem de infeções ativas no orifício prepucial - as balanopostites. No entanto, registou-se uma elevada prevalência de animais com deformações prepuciais com fibrose. Caso o trabalho tivesse sido realizado numa altura do ano com temperaturas elevadas, especialmente no verão, existiria, muito provavelmente, um maior número de animais com infeção ativa, o que seria motivo de reprovação ao exame andrológico.

O principal motivo registado para classificação de carneiros como questionáveis foi o perímetro escrotal entre 25 - 27 cm em animais juvenis (58,8%), seguindo-se os com ejaculados conspurcados com urina (29,4%).

No presente trabalho, o principal motivo para a classificação de machos como insatisfatórios foi o perímetro escrotal inferior a 27 cm em adultos e 25 cm em jovens (56,3%), seguido das anomalias no espermograma (18,8%). Estes dados não coincidem com os resultados obtidos por Molina et al. (2020), em que a principal causa de desclassificação foi a má qualidade seminal (61,6%), seguida de azoospermia ou anomalias nos testículos ambas com 12,3%. Um outro estudo (Van Metre et al. 2012) registou parâmetros seminais insatisfatórios como a maior causa de reprovação dos animais (43,8%). Para além disso, fez referência aos processos inflamatórios, à emaciação e às anomalias físicas.

Os carneiros podem apresentar alguma doença concomitante, que cause uma alteração seminal, o que pode comprometer o resultado do exame. No entanto, tal pode acontecer apenas num dado período de tempo (Mcgowan 2019). Daí a importância do registo de dois exames insatisfatórios, espaçados no tempo, antes de se decidir pelo refugo. Durante o período entre os exames, posteriormente a um primeiro exame insatisfatório ou até antes da realização do primeiro exame, aconselha-se a administração de selénio (Piagentini et al. 2017). Este oligo-elemento contribui para a diminuição da percentagem de espermatozoides anómalos.

## 8. Conclusão

Este estudo apresentou como limitação o número de animais analisados, de forma a obterem-se dados estatisticamente mais significativos para o que seria necessária uma amostra superior e proveniente de várias explorações geneticamente diferentes. Outra limitação foi a época do ano em que foram realizados os exames andrológicos. O estudo foi realizado, na totalidade, na mesma altura do ano (fim do inverno e primavera), o que poderá sugerir estar-se em contra estação, apesar dos particularismos mediterrânicos de Portugal. Podem existir variações do perímetro escrotal ao longo do ano. No entanto, não parece que difira muito do observado, já que se trata de uma raça autóctone, em explorações situadas no solar de origem e que não apresenta uma sazonalidade marcada, com períodos de cobrição ao longo do ano, com taxas de fertilidade e número de borregos nascidos satisfatórios.

Relativamente ao trato reprodutor, a maioria dos carneiros deste estudo não apresentou bilobação escrotal e apresentou testículos ovóides, podendo assim dizer-se que é o perfil mais comum na raça Campaniça.

A realização de exames andrológicos permite assim excluir animais inférteis e subférteis, apresenta um papel fundamental para assegurar os bons resultados na fertilidade dos rebanhos, assim como é uma ferramenta importante na seleção de reprodutores.

Considera-se importante, de futuro, que se realizem estudos de avaliação andrológica em malatos dos 8 a 9 meses e, posteriormente, quando maduros, por volta dos 3 anos, com o objetivo de correlacionar as características andrológicas do animal jovem e do adulto, num mesmo indivíduo, como ferramenta na escolha de futuros reprodutores, como sugerido em outro estudo (Abecia et al. 2020). Assim, poderíamos reduzir o número de animais adultos com características reprodutivas insatisfatórias.

Como ainda não foi definido um valor mínimo do perímetro escrotal aceite para esta raça e a média obtida nos animais aprovados no presente estudo, foi 31,7 cm, podemos, assim, propor que um perímetro escrotal mínimo, adequado à raça Campaniça, nos machos entre 1 e 2,5 anos, possa ser de 27 cm e nos adultos, com idade superior a 2,5 anos, seja de 30 cm.

## 9. Referências Bibliográficas

Abecia JA, Carvajal-serna CFM, Servet CDM, Servet M. 2020. La actividad sexual de corderos a los ocho meses de edad como predictor de su actividad sexual adulta. 116:306–310.

Abecia JA, Chemineau P, Flores JA, Keller M, Duarte G, Forcada F, Delgadillo JA. 2015. Continuous exposure to sexually active rams extends estrous activity in ewes in spring. *Theriogenology*. 84(9):1549–1555. doi:10.1016/j.theriogenology.2015.08.002. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.08.002>.

ACOS. 2021a. Sobre a Raça Ovina Campaniça. [accessed 2021 May 14]. <https://www.acos.pt/servicos/raca-ovina-campanica/sobre-a-raca-ovina-campanica>.

ACOS. 2021b. Livro Genealógico da Raça Ovina Campaniça. [accessed 2021 May 14]. <https://www.acos.pt/servicos/raca-ovina-campanica/livro-genealogico-da-raca-ovina-campanica>.

Ainudeen MR, Wahid H, Hafez ESE. 2006. Sheep and goats. *New Sci*. 189(2538):25.

Antón J, Mayayo L, Lozano D. 2012a. Anatomia y Fisiología. In: *Gestión integral del macho en las explotaciones de ovino y caprino*. ICE SALUD & VET. p. 22–40.

Antón J, Mayayo L, Lozano D. 2012b. Exploración general del morueco. In: *Gestión integral del macho en las explotaciones de ovino y caprino*. ICE SALUD & VET. p. 77–87.

Antón J, Mayayo L, Lozano D. 2012c. Evaluación del Aparato Reproductor. In: *Gestión integral del macho en las explotaciones de ovino y caprino*. ICE SALUD & VET. p. 89–104.

Arrebola-Molina FA, Sánchez-Gómez A, Querino-Santiago FJ, Pérez-Marín C, Borjas-Muñoz F, Abecia JA. 2020. Semen characteristics of a ram population in southern Spain: An on-farm program of elimination of low-fertility males diagnosed by electroejaculation. *Small Rumin Res*. 183(December 2019):106038. doi:10.1016/j.smallrumres.2019.106038. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.106038>.

Boussena S, Aimeur R, Hireche S, Bouaziz O, Tainturier D. 2014. Contrôle des performances de reproduction ( corporelles , testiculaires et spermatiques ) chez les antenais de race Ouled Djellal de la puberté jusqu ' à la mise à la reproduction. *Rev Med Vet (Toulouse)*. 165(9–10):289–296.

Brito LFC, Althouse GC, Aurich C, Chenoweth PJ, Eilts BE, Love CC, Luvoni GC, Mitchell JR, Peter AT, Pugh DG, et al. 2016. Andrology laboratory review: Evaluation of sperm concentration. *Theriogenology*. 85(9):1507–1527. doi:10.1016/j.theriogenology.2016.01.002. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.01.002>.

Fails A, Magee C. 2018. *Anatomy and Physiology of Farm Animals*. 8th ed. John Wiley & Sons, Inc.

Fayrer-Hosken R. 1997. Anatomy and physiology of the bull's reproductive system. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 13(2):195–202. doi:10.1016/S0749-0720(15)30335-2. [http://dx.doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30335-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30335-2).

Fitzgerald J, Morgan G. 2007. Reproductive Physiology of the Ram. In: Youngquist R, Threlfall W, editors. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. 2nd ed. Saunders Elsevier. p. 617–620.

González V, Silva C, Hernández J, Martínez M. 2012. Obtención y Valoración de semen en los centros de inseminación artificial. In: *Gestión integral del macho en las explotaciones de ovino y caprino*. ICE SALUD & VET. p. 106–116.

Gouletsou PG, Fthenakis GC. 2010. Clinical evaluation of reproductive ability of rams. *Small Rumin Res.* 92(1–3):45–51. doi:10.1016/j.smallrumres.2010.04.005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.04.005>.

Greig A. 2008. Ram infertility. In: Aitken I, editor. *Diseases of Sheep*, 4th ed. Vol. 49. 4th ed. The Canadian Veterinary Journal. la Revue Veterinaire Canadienne. p. 87–93.

Habel R, Budras K. 2003. Male genital organs and scrotum. In: Budras K, editor. *Bovine anatomy An Illustrated Text*. 1st ed. Schlutersche. p. 78–95.

Hérrnandez J, Silva C, González V, Martínez M. 2012. El manejo específico del morueco en los centros de inseminación artificial. In: *Gestión integral del macho en las explotaciones de ovino y caprino*. ICE SALUD & VET. p. 57–66.

Hopper R, King H. 2015. Evaluation of Breeding Soundness: Basic Examination of the Semen. In: Hopper R, editor. *Bovine Reproduction*. 1st ed. John Wiley & Sons, Inc. p. 68–78.

Júnior CAC, Lucci CM, Peripolli V, Tanure CB, Ribeiro LMCS, Barbosa TM, Ramos AF, Louvandini H, McManus C. 2015. Laser and thermographic infrared temperatures associated with heat tolerance in adult rams. *Small Rumin Res.* 132:86–91. doi:10.1016/j.smallrumres.2015.10.011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.10.011>.

Koziol J, Armstrong C. 2018a. Factors Evaluated by Observation of Breeding Behavior. In: *Society for Theriogenology Manual for Breeding Soundness Examination of Bulls*. 2nd ed. Society for Theriogenology. p. 1–4.

Koziol J, Armstrong C. 2018b. Physical Examination. In: *Society for Theriogenology Manual for Breeding Soundness Examination of Bulls*. 2nd ed. Society for Theriogenology. p. 5–17.

Koziol J, Armstrong C. 2018c. Examination of the Scrotum and Its Contents. In: *Society for Theriogenology Manual for Breeding Soundness Examination of Bulls*. Society for Theriogenology. p. 18–32.

Koziol J, Armstrong C. 2018d. Semen Collection. In: *Society for Theriogenology Manual for Breeding Soundness Examination of Bulls*. 2nd ed. Society for Theriogenology. p. 72–83.

Koziol J, Armstrong C. 2018e. Evaluation of Semen Quality. In: *Society for Theriogenology Manual for Breeding Soundness Examination of Bulls*. 2nd ed. Society for Theriogenology. p. 84–122.

Lea RG, England GCW. 2018. Puberty and seasonality. Tenth Edit. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-7233-8.00003-3>.

Lovatt FM. 2010. Clinical examination of sheep. *Small Rumin Res.* 92(1–3):72–77. doi:10.1016/j.smallrumres.2010.04.020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.04.020>.

Lovatt FM, Genever L, Glover MJ, Henry J. 2016. Evaluation of semen collected from commercial rams by electro-ejaculation. *Vet Rec.* 178(14):342. doi:10.1136/vr.103378.

Mansour M, Wilhite R, Rowe J. 2018. *Guide to Ruminant Anatomy: Dissection and Clinical Aspects*. 1st ed. John Wiley & Sons, Inc.

Matos C. 2012. A Raça Campaniça na Atualidade-2012.

Mayayo L, Antón J, Sainz J. 2012. Manejo reproductivo del Morueco. In: Gestión integral del macho en las explotaciones de ovino y caprino. ICE SALUD & VET. p. 42–66.

Mcgowan M. 2019. Evaluation of the Fertility of Breeding Males. In: Noakes D, Parkinson T, Gary E, editors. *Veterinary Reproduction & Obstetrics*. 10th ed. Elsevier, Ltd. p. 619–634.

Van Metre DC, Rao S, Kimberling C V., Morley PS. 2012. Factors associated with failure in breeding soundness examination of Western USA rams. *Prev Vet Med*. 105(1–2):118–126. doi:10.1016/j.prevetmed.2012.02.002. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.02.002>.

Molina F, Mayayo L, Ara L, Silva C, Sainz J, Lozano D, González V, Eguiluz M, Antón J, Rivero M, et al. 2012. Introducción. In: Gestión integral del macho en las explotaciones de ovino y caprino. ICE SALUD & VET. p. 10–11.

Mozo R, Galeote AI, Alabart JL, Fantova E, Folch J. 2015. Evaluating the reproductive ability of breeding rams in North-Eastern Spain using clinical examination of the body and external genitalia. *BMC Vet Res*. 11(1):1–11. doi:10.1186/s12917-015-0600-9. <http://dx.doi.org/10.1186/s12917-015-0600-9>.

Nabors B, Linford R. 2015. Anatomy of the Reproductive System of the Bull. In: Hopper R, editor. *Bovine Reproduction*. 1st ed. John Wiley & Sons, Inc. p. 5–10.

Ntemka A, Kiossis E, Boscós C, Theodoridis A, Kourousekos G, Tsakmakidis I. 2019. Impact of old age and season on Chios ram semen quality. *Small Rumin Res*. 178(January):15–17. doi:10.1016/j.smallrumres.2019.07.004. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.07.004>.

Oliveira Menegassi SR, Jardim Barcellos JO, Koetz Júnior C, Peripolli V, Andrighetto Canozzi ME, McManus C, Guiselli Lopes F. 2014. Annual breeding soundness evaluation of rams ♂. *Rev Colomb Ciencias Pecu*. 27(2):133–137.

Parkinson T. 2019. Reproductive Physiology of Male Animals. In: Noakes D, Parkinson T, England G, editors. *Veterinary Reproduction & Obstetrics*. 10th ed. Elsevier, Ltd. p. 35–53.

Pezzanite L, Bridges DA, Neary DM, Hutchens T. 2010. Breeding Soundness Examination of Rams and Bucks. *Purdue Ext*. 2:1–4. <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/as/as-599-w.pdf>.

Piagentini M, Silva DC, Dell’Aqua CPF, Moya-Araujo CF, Codognoto VM, Ramos AA, Oba E. 2017. Effect of selenium supplementation on semen characteristics of Brazil’s ram. *Reprod Domest Anim*. 52(3):355–358. doi:10.1111/rda.12903.

Practice F. 1984. Farm Practice Body condition scoring of sheep by Angus Russel. *Adv Vet Sci*.(May):91–94.

Rivero M, Eguiluz M, Mayayo L. 2012. Importancia Económica. In: Gestión integral del macho en las explotaciones de ovino y caprino. ICE SALUD & VET. p. 14–16.

Rocha EF, Dias RFF, Souza JG de, Santos JRS dos, Silva G de A, Roberto JVB, Bakke OA, Souza Araújo NL de, Souza BB de, Menezes DJA de. 2018. Scrotum bipartite in sheep as a parameter indicative of adaptation to semi-arid climates: A thermographic and reproductive study. *Theriogenology*. 121:91–96. doi:10.1016/j.theriogenology.2018.07.029.

Ryan P. 2015. Endocrine and Exocrine Function of the Bovine Testes. In: Hopper R, editor. *Bovine Reproduction*. 1st ed. John Wiley & Sons, Inc. p. 11–25.

Santos BLDL, Cámara LPU, Muñoz FB, Freije BA, Carmona BP, Revaliente DD, Molina FAA. 2016. Detección de machos ovinos improproductivos en explotaciones ganaderas, mediante técnicas de control morfológico y electroeyaculación. In: Aldea MJA, Pérez VP, Rodríguez RB, Fernández JJM, Rodríguez MS, editors. XLI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). p. 509–513.

Satta V, Manca ME, Torres-Rovira L, Succu S, Mereu P, Nehme M, Epifani G, Gallus M, Berlinguer F, Naitana S, et al. 2018. Effects of melatonin administration on seminal plasma metabolites and sperm fertilization competence during the non-reproductive season in ram. *Theriogenology*. 115:16–22. doi:10.1016/j.theriogenology.2018.04.018. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.04.018>.

Scott P. 2015. Reproductive System. In: *Sheep Medicine*. 2nd ed. CRC Press. p. 21–61.

Silva FS, Carolino N, Matos C, Oliveira C. 2020. Relatório de Caracterização Genética. :1–16.

Sisson S. 1986. Aparelho Urogenital. In: Getty R, editor. *Sisson/Grosman Anatomia dos Animais Domésticos*. 5th ed. Guanabara Koogan S.A. p. 879–895.

Tibary A, Boukhliq R, Allali K El. 2018. Ram and Buck Breeding Soundness Examination. *Rev Mar Sci Agron Vét*. 6(2):241–255.

## 10. Anexos

**Anexo 1** – Folha de registos do exame andrológico (baseada na folha de registos do serviço de reprodução da FMV)

<b>EXAME DE REPRODUTOR MASCULINO</b>	
Nº	
Data:	
Espécie _____	Nome _____
Raça _____	Idade _____
Proprietário _____	
Telemóvel _____	Email _____
Morada _____	
<b>HISTÓRIA PREGRESSA</b> (condições ambientais, mudanças de alojamento, transportes, alimentação, doenças, fêmeas beneficiadas nos últimos 12 meses, fertilidade, etc.)	
Data do último salto ____/____/____	Utilização anterior _____
<b>EXAME CLÍNICO</b>	
Estado geral de saúde	ICC _____
<b>Anomalias nos membros com importância para cobertura</b>	
<b>Trato genital</b>	Circunferência Escrotal: _____ cm
Orifício prepucial: _____	
Porção livre do pênis: _____	
Cordões espermáticos: _____	
Bolsa testicular: _____	
Testículos: _____	
Epidídimos: _____	

COLHEITA E EXAME DE SÉMEN			
	1º Ejaculado ____: ____ H	2º Ejaculado ____: ____ H	
Nº de estímulos			
Comportamento			
Volume			
Cor			
Fluidez			
Mobilidade Massal			
Mobilidade Individual			
Concentração			
Morfologia		Observações	
N de Espermatozoides Observados			
Normal			
Acrossoma			
Cabeça Normal Isolada			
Macrocabeça			
Microcabeça			
Cabeça Piriforme			
Teratóide			
Espermatozoide Decapitado			
Peça Intermédia anómala			
DAG			
Reflexão distal da peça intermédia			
Cauda Enrolada			
Dupla Cauda			
Pseudogota Citoplasmática			
Gota Citoplasmática Próxima			
	Total:		
			%
10º Coloração Vital			%
11º Elementos Estranhos			

**Classificação**