

Exame clínico andrológico em búfalos: particularidades e mercado

Clinical andrological examination in buffaloes: particularities and market

Jaci de Almeida^{1*}

¹Pós-doutorando do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Pastagens do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP), Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil

Resumo

A bubalinocultura tem expandido mundialmente com grande importância socioeconômica na produção de leite, carne e na tração animal. No entanto, algumas características como: a sazonalidade, poucos reprodutores com genética superior para ser multiplicada e reduzido número de touros com sucesso de coleta constante de sêmen nas Centrais, dificultam a obtenção de maiores índices reprodutivos a nível de Brasil. Neste contexto, a eficiência reprodutiva do rebanho possui papel de destaque, consequentemente, o touro bubalino e a realização do exame andrológico são essenciais para o desenvolvimento da bubalinocultura. Apesar da realização de pesquisas ao longo dos anos relacionadas à andrologia em búfalos, na prática a campo ainda existe uma lacuna referente aos aspectos reprodutivos nessa espécie, fazendo com que haja uma demanda por conhecimento específico. Diante disso, objetivou-se abordar alguns dos principais aspectos da andrologia na espécie bubalina, para auxiliar o Médico Veterinário no atendimento clínico e andrológico visando alcançar uma boa eficiência reprodutiva.

Palavras-chave: condicionamento, comportamento sexual, manejo reprodutivo.

Abstract

Buffalo farming has expanded worldwide with great socioeconomic importance in the production of milk, meat and animal traction. However, some characteristics such as: seasonality, few sires with superior genetics to be multiplied and reduced number of bulls with constant semen collection success in the Centrals, make it difficult to obtain higher reproductive rates in Brazil. In this context, the reproductive efficiency of the herd plays a prominent role, consequently, the buffalo bull and the performance of the andrological examination are essential for the development of buffalo breeding. Despite conducting research over the years related to andrology in buffaloes, in field practice there is still a gap regarding reproductive aspects in this species, causing a demand for specific knowledge. In view of this, the objective was to address some of the main aspects of andrology in the buffalo species, to assist the veterinarian in clinical and andrological care in order to achieve good reproductive efficiency.

Keywords: conditioning. sexual behavior. reproductive management.

Introdução

O búfalo teve sua origem registrada no Norte da Índia e na região Sul da República da China (Coockrill, 1984). Ainda de acordo com o autor, as civilizações que habitavam as margens dos grandes rios Tigre, Eufrates, Indus e Yangtza domesticaram esta espécie, com a finalidade de produção de alimentos de alto valor biológico e utilização como fonte de força motriz, para desenvolvimento da agricultura.

No Brasil a introdução dos búfalos (*Bubalus bubalis*) ocorreu a partir do final do século XIX, inicialmente em pequenos lotes originários da Ásia, Europa (Itália) e Caribe (Bernardes, 2006). Por ser uma espécie de elevada rusticidade, capacidade de grande adaptabilidade aos mais variados ambientes, elevada fertilidade ($\geq 90\%$) e longevidade produtiva (15 a 20 anos), possibilitaram que o rebanho crescesse rapidamente e, ocupassem regiões com as mais diversas condições edafo-climáticas dentro do território e, que em alguns casos são inadequadas para a criação de bovinos e outros ruminantes (Almeida, 2018).

Existem dificuldades na avaliação da população mundial de bubalinos, pois em alguns países os búfalos são incluídos na pecuária com bovinos, em outros casos, os proprietários informam números inferiores por questões fiscais. No entanto estima-se que no Brasil exista aproximadamente 1.319.478 búfalos, sendo o maior rebanho do Ocidente (FAO, 2016).

*Correspondência: jaciveterinariorj@gmail.com

Recebido: 20 de abril de 2023

Aceito: 13 de maio de 2023

Bernardes (2016) reportou que no Brasil os búfalos são criados em 16.000 criatórios, distribuídos em 16 estados da federação, envolvendo cerca de 80.000 pessoas no campo. São abatidas aproximadamente 117.000 cabeças, movimentando um mercado de 448 milhões na cadeia de carnes nacional. Ainda segundo o criador e estudioso, como espécie de dupla aptidão, das cerca de 437 mil matrizes criadas no país, 17% são utilizadas para produção de leite que, por seu maior teor de sólidos totais e características especiais tem cerca de 85% da produção transformadas em laticínios, num mercado de R\$ 666 milhões anuais.

A importância econômica da exploração dos búfalos vai além das características como precocidade, docilidade, rusticidade e longevidade produtiva, baixas morbidade e mortalidade, maior capacidade na digestão de fibras aliadas à grande capacidade de adaptabilidade, tornando o búfalo um animal de várias aptidões (Oliveira, 2005), sendo uma boa alternativa de produção de carne, leite, tração e produção de esterco. Somado a isto, é um animal resistente às infecções parasitárias e intoxicações por plantas (Barbosa et al., 2003), apresentando baixos percentuais de infecções mamárias, podais e problemas reprodutivos comparado à espécie bovina.

Em relação ao leite, as búfalas possuem maior concentração de sólidos totais (40%) comparado aos bovinos, proporcionando um maior rendimento industrial em derivados lácteos, o que permite a indústria pagar mais pelo preço deste (Teixeira et al., 2005). Nesse sentido, Marques (1998) descreveu que o leite da búfala possui ainda, 33% menos colesterol, 48% mais proteína, 59% mais cálcio e 47% mais fósforo que o seu concorrente bovino. Segundo Valente (2019) o leite de búfala tem características únicas que o diferenciam, como possuir a beta-caseína A2 (que é uma composição que faz com que seja mais digestível, se comparado ao leite convencional de vaca, uma vez que possui tanto a beta-caseína A2 quanto a beta-caseína A1), representando 25 a 30% do total de proteína do leite, por isso é: mais rico em vitaminas e proteínas do que o leite de vaca.

Já a carne de búfalo possui características nutricionais ímpares quando comparada à bovina, apresentando em média 40% menos colesterol; 55% menos calorias; 12 vezes menos gordura; 11% mais de proteína e 10% mais de minerais (Jorge, 1999).

Características gerais da espécie

A Associação Brasileira de Criadores de Búfalos (ABCB) reconhece no Brasil a existência de quatro raças, divididas em dois tipos de búfalos, o búfalo doméstico de rio ou indiano (*Bubalus bubalis*, com cariótipo $2n = 50, XX/XY$, representado pelas raças Murrah, Mediterrâneo e Jafarabadi), e o búfalo de pântano (*Bubalus bubalis kerebau*, com cariótipo com $2n = 48, XX/XY$, representado pela raça Carabao presente na Ilha de Marajó/PA).

Os búfalos são animais poliéstricos sazonais de dias curtos (Hafez, 1954; Gill et al., 1973; Vale, 1988; Beg e Totey, 1999; Zicarelli e Vale, 2002; Almeida et al., 2021a).

Em relação a anatomia da espécie, chama a atenção a região de inserção do escroto ao abdome nos reprodutores. Esta não sofre um estreitamento evidente como o encontrado em bovinos, sendo percebida mais retilínea nas bordas laterais, na região da transição escroto-abdome. Adicionalmente, quando o cremaster e a túnica dartos estão em contração, os testículos se alojam com maior facilidade nesta base alargada do escroto, podendo dificultar a palpação e a mensuração dos testículos (Henry et al., 2017).

Importância do exame andrológico

Os profissionais veterinários e criadores devem realizar a avaliação andrológica de seus reprodutores bubalinos, visando minimizar a probabilidade de falha no manejo reprodutivo. Isto porque, uma das principais causas de diminuição na fertilidade, e consequentemente perda econômica dos sistemas produtivos modernos, é a ausência ou a má seleção reprodutiva de touros. O veterinário com confiável qualificação e experiência na área, é o responsável por realizar as avaliações dos reprodutores, permitindo excluir precocemente os animais com problemas ou que teriam baixo rendimento reprodutivo. Desta forma, possibilitando alcançar os melhores resultados de fertilidade no rebanho, tornando a propriedade competitiva e lucrativa. Neste contexto, o exame andrológico completo (com avaliação sanitária, clínica, física, morfológica, comportamento sexual dos touros e avaliações físicas e morfológicas do sêmen) permite detectar alterações do desenvolvimento do sistema genital, alterações regressivas, alterações progressivas e alterações inflamatórias nos diversos órgãos, bem como distúrbios na libido e na habilidade de cópula. Segundo Barbosa et al. (2005) essas alterações levam tanto à incapacidade de fertilização como de monta, em vários graus, caracterizando quadros de sub ou de infertilidade masculina (Barbosa et al., 2005 e Henry et al., 2017).

Há décadas se discute a importância do touro isoladamente, permitindo concluir que a participação do macho é muito maior do que a de qualquer fêmea individualmente, uma vez que o touro pode se acasalar com número muito maior de fêmeas, tanto na monta natural como na inseminação artificial (Barbosa et al., 2005).

Na atualidade, com a utilização da IATF, a importância da fertilidade do touro em fazendas de criação e produção de búfalos se tornou mais evidente, principalmente devido a sazonalidade da espécie e dificuldade na detecção de cio. Somado a um pequeno número de reprodutores com qualidade genética disponíveis, reduzido número de búfalos em coleta para congelamento de sêmen nas Centrais de Coleta e Processamento de Sêmen (CCPS), ocasionando falta de sêmen no mercado nacional. A situação se agrava pela proibição de importar animais de países da Ásia e Itália, que apresentam bubalinocultura mais avançada (Almeida, 2018). No entanto, esse problema tem sido minimizado, com pesquisas realizadas a campo testando o uso de sêmen refrigerado (Almeida, 2018; Almeida et al., 2021a; 2022a) e congelado (Almeida et al., 2021b; Almeida e Resende, 2021; Almeida et al., 2022b) de búfalos para uso na IATF após a realização de exame andrológico e avaliação sanitária dos reprodutores.

Todavia, vale ressaltar que segundo a Instrução Normativa MAPA Nº 36, de 27 de outubro de 2015 (MAPA, 2015), somente poderá ser distribuído no Brasil o sêmen bovino ou bubalino coletado em CCPS, registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Isto significa que o sêmen coletado e processado em fazendas particulares, somente poderá ser utilizado pelo produtor e não é permitida sua comercialização.

Puberdade e maturidade sexual

É sabido que o aparelho reprodutor dos bubalinos (machos e fêmeas), tende a ser menor que o da espécie bovina (Vale et al., 1981). Segundo Pant et al. (2003), em estudo com touros bubalinos da raça Murrah, isto ocorre porque a produção diária de espermatozoides nessa raça, é quase 45% menor em comparação com touros bovinos da raça Holandesa da mesma idade, presumivelmente devido à sua circunferência escrotal quase 40% menor. Mas deve-se lembrar, que a idade da puberdade e a maturidade sexual podem variar com diferentes raças, planos de nutrição e fatores ambientais (Henry et al., 2017).

Segundo Ahmad et al. (1989) os búfalos são capazes de procriar durante todo o ano, mas eles mostram aumento sazonal e queda na reprodução no período de verão. A sazonalidade em búfalos machos é evidente pela redução testicular e das funções epididimais (Malfatti et al., 2006).

Em valores numéricos, a puberdade é definida como o momento em que há pelo menos 50×10^6 milhões de espermatozoides totais e a motilidade espermática $\geq 10\%$ no ejaculado de bovinos (Wolf et al., 1965) e búfalos (Ahmad et al., 1989). Todavia, observando os primeiros instintos reprodutivos de machos (monta em machos e em fêmeas, interesse sexual, disputas por dominância e início da caracterização fenotípica masculina), Ohashi (1988) considerou os animais púberes com idade média aos 8 a 9 meses, muito antes de apresentarem o início da produção espermática. Posteriormente, este autor ao avaliar a contagem total de células espermáticas em determinado segmento do túbulo seminífero (cortes histológicos) reportou que a evolução da produção espermática ocorre de forma gradual e lenta até os 12-14 meses de idade (Ohashi, 1993).

Segundo Oba (1993), a puberdade e a maturidade sexual em búfalos são tardias quando comparada à espécie bovina, por estar diretamente influenciada pela época de nascimento, estação do ano, disponibilidade de alimentos, raças, cruzamentos, manejo e diferenças individuais. Posteriormente, Vale et al. (2002), sugeriram que os búfalos entram na puberdade aos 12 meses, com peso corporal médio de 300 - 350 kg e com um perímetro escrotal de 22 - 25 cm.

Henry et al. (2017) encontraram divergência na literatura sobre o momento em que ocorre a maturidade sexual, isto devido principalmente ao tipo de criação (extensiva, semi-confinada, confinada), a raça (Murrah, Jafarabadi, Mediterrâneo e Carabao), o tipo de manejo, região onde está situada a criação dos animais, nutrição e seleção genética.

Pesquisas de Henry et al. (2017) indicam que a maturidade sexual ocorre quando o reprodutor apresenta um quadro espermático estável, o crescimento testicular cessa, as características sexuais secundárias estão plenamente expressas e o máximo potencial de libido/cobrição é atingido. Ainda de acordo com os autores, cada uma dessas características pode ser atingida em idades diferentes, a maturidade sexual é quando todas foram expressas.

Para miores informações, consulte tabelas de referência disponíveis para determinadas faixas etárias (Ohashi, 1993; CBRA, 2013; Henry et al., 2017). Regra geral, deseja-se que touros de um ano possuam de 20 a 23 cm de perímetro escrotal, enquanto animais acima de três anos, considerados sexualmente maduros, apresentem perímetro acima de 30 cm.

Condicionamento e comportamento sexual de touros para a coleta de sêmen

Pesquisas realizadas com búfalos em diversas fazendas e no Centro de Biotecnologia em Bupalinos (Pedro Leopoldo, MG), permitem afirmar que o búfalo é um animal que se condiciona fácil a coleta de sêmen. Em média com 15 a 20 dias de treinamento do reprodutor sexualmente maduro e que nunca foi coletado por vagina artificial (levado a fêmeas em cio natural ou induzido, duas vezes/dia), já permite sucesso na coleta de ejaculados de boa qualidade (Almeida e Resende, 2019; 2021).

Quando possível o treinamento de condicionamento dos touros, deve ser iniciado a partir dos 14-15 meses de idade, pois nesse período os machos, sobretudo quando são criados juntos, apresentam intensa atividade de monta uns nos outros “homossexualismo” (Henry et al., 2017) e em fêmeas em cio (Vale et al., 2008).

Há relatos na literatura de que os touros bubalinos se apresentam letárgicos e com libido menor quando comparado aos bovinos (Yassen et al., 1985; Vale, 1994). Todavia, as observações de campo, têm demonstrado, que quando condicionados adequadamente, em tempo hábil e condições adequadas, pelo menos para a coleta de sêmen com vagina artificial com fêmea em cio, esta situação tende a desaparecer.

Na espécie bubalina o tempo decorrido entre a detecção do primeiro estímulo apropriado, com uma fêmea exibindo estro, até a monta completa é chamado de tempo de reação (Chenoweth, 1997). Esse tempo de reação pode variar de 1 a 15 minutos (Quezada-Casasola et al., 2016). No entanto, em estudo realizado por Henry et al. (2017) com touros já condicionados por um período de um ano, esse tempo foi em média de $1,9 \pm 1,2$ minutos, dados que se repetiram por mais de 3 anos de observação. Porém, se vários touros forem coletados em um mesmo local no mesmo dia, a frequência de urina dos mesmos neste local, pode fazer com que os touros que venham a ser coletados posteriormente, percam um maior tempo tentando identificar os odores presentes neste ambiente de coleta, o que pode contribuir para um maior tempo para realizar o salto e a ejaculação final.

Diversos trabalhos relataram os hábitos dos touros diante de uma fêmea em cio, entre eles: cheirar a vulva, reflexo de Flehmen, acasalamento incompleto (animal expõe o pênis, mas não ejacula), lambe a vulva, montar sem exposição do pênis, exposição intermitente do pênis antes da monta, apoiar o queixo na garupa e bater a cabeça em partes do corpo feminino para coleta de sêmen com vagina artificial convencional (Anzar et al., 1993; Samo et al., 2005; Almeida, 2018; Almeida e Resende, 2019; 2021) e vagina artificial interna (Neves, 2015).

Métodos de coleta de sêmen

O ejaculado pode ser coletado por meio de diferentes métodos, porém na espécie bubalina alguns destacam-se na rotina clínica, dentre os quais a vagina artificial convencional (Almeida e Resende, 2021a; 2022a), métodos alternativos como a eletro-ejaculação (recomendado para uso em touros mais jovens), massagem das glândulas acessórias (ampolas e vesículas seminais) e a vagina artificial interna (Neves, 2015). No entanto, Ohashi et al. (2011) reportaram que a amostra seminal obtida por massagem das glândulas anexas, geralmente é de qualidade inferior à obtida com a vagina artificial. Adicionalmente, apesar de fácil execução, não apresenta resultados de sucesso em todas as tentativas de coletas, principalmente se o touro estiver sendo manipulado pela primeira vez.

Recomendações para o sucesso no condicionamento e coleta de sêmen com vagina artificial

Seguindo-se algumas recomendações para o treinamento e condicionamento de touros bubalinos, levando-se em consideração principalmente o comportamento e manejo realizado nas fazendas, é possível obter bons resultados com a coleta e qualidade seminal. Dentre eles, citam-se:

- 1) Colocar argola e cabresto no reprodutor, para que ele se acostume a ser conduzido para a coleta. No entanto, tem-se obtido sucesso apenas com a colocação de cabresto;
- 2) Construir um tronco para a contenção da fêmea em cio, e treinamento do touro para realizar o salto (preferencialmente local com sombra, terra ou grama - evita acidentes como escorregões, e o animal sente-se mais seguro para realizar o salto sobre a fêmea);
- 3) O funcionário que está treinando o touro, deverá ser o mesmo que o alimenta, para que o touro se acostume rapidamente com a pessoa e adquira confiança, perdendo o medo à aproximação humana para a coleta com vagina artificial;
- 4) O reprodutor deverá ser alimentado somente após o fim dos trabalhos de tentativas de coleta de sêmen, para que ele entenda isto como uma recompensa pelo trabalho realizado (manhã e tarde);
- 5) Evitar barulho de picadeira, trator e ordenhadeira entre outros durante os momentos da coleta, pois distrai

- o touro;
- 6) Evitar realização de vacinações, vermifugações, banhos carrapaticidas, etc... (2 meses antes das coletas - ciclo espermatogênico), pois além do estresse pode interferir na qualidade seminal;
 - 7) Quando o touro a ser coletado estiver junto com as fêmeas (nos lotes), este deve ser separado 3 a 4 dias pré-coletas (pois do contrário não haverá interesse do mesmo em saltar sobre as fêmeas, mesmo estando em cio). Caso contrário, esteja separado das fêmeas (jejum sexual, fora da estação), deverá ser colocado para cobrir (3-4 dias pré-coletas), desta forma, eliminam-se os espermatozoides mortos e velhos, melhorando a motilidade e vigor espermático;
 - 8) Realizar as tentativas de coletas de sêmen nos horários mais frescos da manhã e tarde;
 - 9) Se não houver fêmeas em cio natural, deve-se induzir 2 ou 3 fêmeas para as tentativas de coleta de sêmen, pois não havendo interesse do macho em saltar em uma fêmea, esta será substituída por outra, e geralmente o touro se sente estimulado a saltar na outra;
 - 10) Deixar o touro cobrir a fêmea contida no tronco nos primeiros dias de condicionamento;
 - 11) Manter a vagina artificial com temperatura entre 42 e 45 °C. Assim, como a pressão colocada para aumentar o atrito da mucosa vaginal com o pênis do touro, estimulando-o a ejacular;
 - 12) Evitar a presença de pessoas estranhas e que não estejam envolvidas no processo de coleta de sêmen, pois além de distrair o animal, pode dificultar o salto do mesmo sobre a fêmea;
 - 13) O animal deve ser levado à fêmea somente durante as tentativas de coleta de sêmen. Depois, deve ser mantido separado da mesma e em jejum sexual (preservar a libido);
 - 14) Em dias muito quentes, ou se o animal estiver sujo de lama, deve-se dar um banho antes de levá-lo a fêmea. Objetivando reduzir contaminação da região peri-vulvar e estresse;
 - 15) Quando o reprodutor fica masturbando e não ejacula, geralmente a temperatura da vagina está abaixo de 42 °C, e/ou há pouca pressão (reduzindo o atrito entre o pênis e a mucosa interna da vagina artificial). Corrigindo esses problemas, geralmente se obtém sucesso na coleta;
 - 16) Com estes cuidados, geralmente com 15 a 20 dias (levando o touro à fêmea duas vezes/dia), já é possível obter ejaculados através da vagina artificial com boa qualidade;
 - 17) A partir do momento que o touro começa a ejacular com certa frequência, o sêmen deverá ser avaliado. Atingindo os parâmetros físicos mínimos recomendado pelo CBRA (2013), será testado para o congelamento, para verificar se resiste ao mesmo.

Características físicas e morfológicas do sêmen coletados por vagina artificial

Em pesquisa realizada por Henry et al. (2017), avaliando 13 reprodutores condicionados em regime de coletas semanais por quatro anos, foi possível verificar mudanças significativas em vários parâmetros seminais de uma coleta para outra. Ainda de acordo com os autores, essas flutuações são facilmente perceptíveis e foram mais evidentes em alguns parâmetros do que em outros. No referido trabalho, o volume seminal foi uma característica altamente variável entre búfalos e ejaculados de um determinado doador. Esse parâmetro oscilou entre 0,2 e 11 mL.

Posteriormente, pesquisas com coletas de sêmen a campo com touros de diferentes idades, raças, propriedades, estações do ano, e apenas com pré-condicionamento médio de 15 a 20 dias (Almeida, 2018; Almeida e Resende, 2019; 2021; Almeida et al., 2021a,b; Almeida et al., 2022a,b), obtiveram resultados também bastante variáveis.

Segundo Andrabi et al. (2008), existem fatores bioquímicos específicos que afetam a capacidade dos espermatozoides em evitar os danos provocados pelos procedimentos criogênicos. Uma dessas possíveis causas de menor congelabilidade do sêmen de búfalos em comparação com o bovino, pode ser devido às diferenças na quantidade e tipos de lipídeos nos espermatozoides (Tatham, 2000).

Almeida (2018) apresentou uma tabela adaptada de várias fontes, com as características físicas e bioquímicas do sêmen de várias espécies de animais domésticos (Tabela 1).

Segundo o autor, esta tabela somada às características da espécie bubalina já mencionadas anteriormente, talvez ajudem a explicar o pequeno número de reprodutores com qualidade genética disponíveis; reduzido número de búfalos em coleta para congelamento de sêmen nas Centrais Comerciais, ocasionando falta de sêmen no mercado nacional, situação que se agrava pela proibição de importar animais de países da Ásia e Itália, que apresentam bubalinocultura mais avançada.

Há mais de um século, Williams (1920) já relatava que a morfologia dos gametas masculinos é um fator determinante na capacidade de fertilização do espermatozoide, uma vez que existe uma correlação entre os defeitos do espermatozoide e a infertilidade. A classificação da morfologia espermática segundo Bloom (1972), é dividida em dois grupos: defeitos maiores e defeitos menores. No primeiro grupo se encaixam defeitos com patologias de cabeça, acrossomo e peça intermediária, como cabeça isolada

anormal, cabeça piriforme, gota citoplasmática proximal, cauda fortemente dobrada, entre outros. Já no segundo grupo de defeitos menores, se encaixam: cabeça isolada normal, defeitos de implantação, cauda dobrada, gota citoplasmática distal, entre outros (CBRA, 2013). Diante do exposto, fica claro a importância da avaliação da morfologia espermática, com intuito de retirar da reprodução animais com características genéticas indesejáveis e/ou com sub ou infertilidade. Mas isso, só é possível, se o exame andrológico, for realizado por profissionais experientes e comprometidos com a seleção dos melhores reprodutores. Porque realizar somente a mensuração do perímetro escrotal e coletar sêmen, como é relatado por alguns proprietários, não caracteriza realização de exame andrológico, e pior não retira animais com sub ou infertilidade dos rebanhos.

Tabela 1. Características físicas e bioquímicas do sêmen de animais domésticos.

Componente	Bovino	Ovino	Suíno	Equino	Bubalino
Volume do ejaculado (mL)	5-8	0,8-1,2	150-200	60-100	2-8****
Concentração espermática (milhões/mL)	800-2000	2000-3000	200-300	150-300	300-1200***
SPTZ/ejaculado bilhões	5-15	1,6-3,6	30-60	5-15	3****
SPTZ móveis (%)	40-75	60-80	50-80	40-75	> 70**
SPTZ normais (%)	65-95	80-95	70-90	60-90	≥ 70****
Proteínas (g/100 mL)	6,8	5,0	3,7	1,0	3,10±0,10*
pH	6,4-7,8	5,9-7,3	7,3-7,8	7,2-7,8	6,7-7,5**
Osmolaridade	-	-	-	290-233	293,33±3,39
Frutose	460-600	250	9	2	623**
Sorbitol	10-140	26-170	6-18	20-60	-***
Ácido cítrico	620-806	110-260	173	8-53	441**
Inositol	25-46	7-14	380-630	20-47	-***
Glicerilfosforilcolina (GPC)	100-150	1100-2100	110-240	40-100	-***
Ergotioneína	0	0	17	40-110	-***
Sódio	225±13	178±11	587	257	260,63±8,81
Potássio	155±6	89±4	197	103	153,50±2,68
Cálcio	40±2	6±2	6	26	44,4**
Magnésio	8±0,3	6±0,8	5-14	9	4,3**
Cloreto	174-320	86	260-430	448	196,57±2,45

Fonte: * Ibrahim *et al.* (1985); ** Vale (1997); ***Hafez e Hafez (2004) e ****CBRA (2013).

Avaliação andrológica na atualidade

A avaliação andrológica de touros a campo é uma prática que assume papel importante, uma vez que contribui para a seleção de animais com padrões reprodutivos morfofuncionais normais, visando a melhoria da fertilidade dos plantéis. Nas últimas décadas, novos equipamentos e técnicas têm sido empregadas para a realização do exame andrológico e para a análise física e morfológica dos espermatozoides. Dentre elas, citam-se para a avaliação dos órgãos genitais: a ultrassonografia (Pastore *et al.*, 2015; Momont, 2022 - bovinos; Vikram *et al.*, 2021 - búfalos) e a termografia (Chacur, 2017). No tocante, a avaliação seminal, também foram desenvolvidos equipamentos para a análise computadorizada “CASA” (Arruda, 2000) e citometria de fluxo (Freitas-Dell’Aqua *et al.*, 2009), entre outros.

Foram também desenvolvidas e padronizadas diversas técnicas com o uso de sondas para avaliação da integridade das membranas espermáticas, como o iodeto de propídeo (PI), SYBR-14, diacetato de carboxifluoresceína (CFDA), Hoeschst 33258 (H258) e 33342 (H342), e a concanavalina A (Conc A) associada ao isotiocionato de fluoresceína (Celeghini *et al.*, 2007).

Posteriormente, surgiram as técnicas de espectrometria de massa, utilizadas no campo da bioquímica analítica, as chamadas “ômicas”, onde estudam-se os genes (genômica), transcrições (transcriptômica), proteínas (proteômica) e seus metabólitos (metabolômica). Desta forma, atualmente é possível analisar os estoques de lipídios, proteínas, metabólitos e de espécies de RNA em populações de células purificadas e ainda, determinar a relação destes componentes com a função celular (Aitken e Henkel, 2011). No entanto, apesar destes equipamentos e técnicas propiciarem uma avaliação objetiva, com maior repetibilidade e número de análises tanto para avaliar a morfologia quanto a função espermática (comparado aos métodos tradicionais), ainda apresentam alguns gargalos. Primeiramente, cita-se o elevado valor da maioria dos equipamentos, o que inviabiliza sua utilização pela maioria dos técnicos, universidades e centros de pesquisa da área. Adicionalmente, a dificuldade de padronização entre os diferentes

equipamentos e técnicas, por técnicos qualificados, nos diferentes centros de pesquisa (educacional e comercial), o que gera bastante confusão entre os profissionais afins.

Por fim, espera-se que num futuro não muito distante, estes percalços, possam ser ultrapassados e todos possam trabalhar em condições similares, para obter resultados cada vez mais fidedignos em prol da fertilidade. Mas enquanto isso não ocorre, para aqueles que não tem acesso aos métodos mais eficientes e sofisticados de avaliação seminal, podem continuar utilizando os microscópios de campo claro, contraste de fase, as câmaras de Neubauer, etc. Assim como técnicas para morfologia espermática, como a gota úmida (avaliação por microscopia de contraste de fase, em aumento de 1000X), a coloração de espermatozoides em esfregaço seco (é uma alternativa quando não for possível avaliar uma preparação úmida) e para integridade de membrana plasmática (hiposmótico e uso de corantes como eosina-nigrosina), conforme CBRA (2013), quando bem-preparados e avaliados por profissionais comprometidos, apresentam ótima eficiência para auxílio na seleção dos melhores reprodutores.

É importante salientar que o profissional qualificado e experiente, tem que ter o conhecimento suficiente para analisar, interpretar e tomar decisões embasadas em conhecimentos de anatomia, fisiologia, patologia, comportamento, etc. Somando-se a isso, um comprometimento com o trabalho bem-feito, desta forma, certamente os resultados serão os melhores possíveis. Parafraseando o saudoso Dr. Osvaldo Almeida Resende (que por quase seis décadas realizou milhares de avaliações seminais em diversas espécies de animais e treinou dezenas de profissionais na área da andrologia): “Para encontrar os melhores reprodutores, é preciso os mais sofisticados e eficientes métodos de avaliação andrológica, mas para eliminar os piores, métodos mais práticos e acessíveis a maioria dos técnicos são suficientes”.

Considerações finais

A avaliação andrológica de touros bubalinos é de extrema necessidade em sistemas de produção contemporâneos. Todavia, são poucas as propriedades que realizam o exame clínico e andrológico completo (incluindo teste de libido) de seus reprodutores antes do início do período reprodutivo. Outro aspecto é a dificuldade de manter búfalos adultos em regime de coleta pela vagina artificial por períodos prolongados, e mantendo a qualidade seminal. Somado a isto, têm-se a negligência em relação às características comportamentais dos reprodutores da espécie, que certamente influenciam os bons resultados na eficiência da coleta, como na qualidade do material para uso a posteriori, seja na forma refrigerada ou criopreservada.

Pode-se observar que os desafios a serem vencidos na espécie bubalina na área da andrologia são ainda existentes. Nesse sentido, a elaboração e a participação em programas de seleção genética, associados ao controle das características reprodutivas deve ser uma meta a ser cumprida por todos os técnicos que assessoram sistemas produtivos de bubalinos.

Referências

- Ahmad N, Shahab M, Khurshid S, Arslan M.** Pubertal development in the male buffalo: longitudinal analysis of body growth, testicular size and serum profiles of testosterone and oestradiol. *Anim Reprod Sci*, v.16, p.161170, 1989.
- Aitken RJ, Henkel RR.** Sperm cell biology: current perspectives and future prospects. *Asian J Androl*, v.13, p.3-5, 2011.
- Almeida J, Brito MF, Neves BP, Becerra VAB, Auler PA, Hadad JP, Baruselli PS, Henry M.** Use of cooled buffalo semen as a strategy to increase conception rates in fixed-time artificial insemination programs during unfavorable reproductive periods. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.73, n.3, p.560-570, 2021a.
- Almeida J, Domingos LV, Viana MG, Souza MAM, Sousa AAA, Resende OA.** Criopreservação do sêmen de búfalos à campo um desafio constante. *Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA-2021) e VIII International Symposium on Animal Biology of Reproduction – Joint Meeting*, Belo Horizonte, MG, *Rev Bras Reprod Anim*, v.45, n.4, p.722, out./dez. 2021b.
- Almeida J, Henry M, Resende AO.** Evaluation in the CASA system of cryopreserved buffalo semen in farm for FTAI. Abstracts - 35th Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE). *Anim Reprod*, v.19(2):22164, 2022b.
- Almeida J, Henry M, Resende AO.** Viabilidade dos espermatozoides refrigerados a 5°C por 120 horas: eficiência de diferentes por 120 horas: eficiência de diferentes diluidores na manutenção do sêmen bubalino para utilização na IATF. *Anais da VI Reunião Anual da ABRAA*, Campinas, SP, *Rev Bras Reprod Anim*, abr./jun., 46(2)220-221, 2022a.

- Almeida J, Resende AO.** Condicionamento de reprodutores bubalinos para coleta e congelamento de sêmen na propriedade. Anais da V Reunião Anual da ABRAA, p.136-140, Campo Grande, MS, 2021.
- Almeida J, Resende AO.** Congelamento do sêmen de reprodutores bubalinos em período reprodutivo desfavorável para uso em IATF. Anais da IV Reunião Anual da ABRAA, p.153-156, Goiânia, GO, 2019.
- Almeida J.** Sêmen refrigerado e seu potencial de uso na inseminação artificial de búfalos (*Bubalus bubalis*). 2018. 195p. Cap.1. Particularidades do condicionamento de touros Bubalinos em coleta de sêmen com vagina artificial convencional para uso em estações reprodutivas favorável e desfavorável. p.84-97. Tese (Doutorado) - UFMG, Belo Horizonte, MG, 2018.
- Andrabi SMH, Ansari MS, Ullah N, Anwar M, Mehmood A, Akhter S.** Duck egg yolk in extender improves the freezability of buffalo bull spermatozoa. Anim Reprod Sci, v.104, p.427-433, 2008.
- Anzar M, Ahmad M, Nazir M, Ahmad N, Shah IH.** Selection of buffalo bulls: sexual behavior and its relationship to semen production and fertility. Theriogenology, v.40, p.1187-1198, 1993.
- Arruda RP.** Avaliação dos efeitos de diluidores e crioprotetores para o espermatozoide equino pelo uso de microscopia de epifluorescência, citometria de fluxo, análises computadorizadas da motilidade (CASA) e da morfometria (ASMA). 2000. 121f. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2000.
- Barbosa JD, Oliveira CMC, Tokarnia CH, Riet-Correa F.** Comparação da sensibilidade de bovinos e búfalos à intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae). Pesq Vet Bras, v.23, p.167-172, 2003.
- Barbosa RT, Machado R, Bergamaschi MACM.** A importância do exame andrológico em bovinos. EMBRAPA, Circular Técnica, v.41, p.1-13, 2005.
- Beg MA, Totey SM.** The oestrus cycle, behaviour and endocrinology of the estrous cycle in the buffalo (*Bubalus bubalis*). Anim Breed, Abstract, v.67, p.239-337, 1999.
- Bernardes O.** Estimativa das características do rebanho bubalino brasileiro em 2016. 5p. Disponível em: file:///C:/Users/Usuario/AppData/Local/Temp/Estimativas_2016.pdf
- Blom E.** The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. In: *Symposium Internationale de Zootechnie*, Milan. Proceedings...,1972.
- CBRA - Colégio Brasileiro de Reprodução Animal.** Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. 3 ed, Belo Horizonte, 104p., 2013.
- Celeghini ECC, Arruda RP, Andrade AFC, Nascimento J, Raphael CF.** Practical techniques for bovine sperm simultaneous fluorimetric assessment of plasma, acrosomal and mitochondrial membranes. Reprod Domest Anim, v.42, p.479-488, 2007.
- Chacur MGM.** Termografia por infravermelho na reprodução de bubalinos. Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.180-187, jan./mar. 2017.
- Chenoweth PJ.** Bull libido/serving capacity. Vet Clin N Am -Food A, v.13, n.2, p.331-342, 1997.
- Cockrill WR.** Water buffalo. In: IL Mason (Editor) Evolution of Domesticated Animals. New York: Longman Inc., p.52-63, 1984.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations,** 2016.
- Freitas-Dell'Aqua CP, Crespihlo AM, Papa FO, Dell'Aqua Junior JA.** Metodologia de avaliação laboratorial do sêmen congelado bovino. Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, v.33, n.4, p.213-222, Oct./Dez. 2009.
- Gill RC, Gangwar PC, Kooner DS.** Studies on the oestrus behaviour in buffaloes. Indian J Anim Sci, v.43, p.472-475, 1973.
- Hafez ESE, Hafez B.** Ciclos Reprodutivos: Bovinos e bubalinos. 7ª ed., São Paulo, Manole, p.158-171, 2004.
- Hafez ESE.** Oestrus and some related phenomena in the buffalo. J Agric Sci, v.44, p.165-172, 1954.
- Henry H, Brito MF, Neves BP, Auler PA, Almeida J, Andrade GO, Becerra VAB, Bergmann L.** Peculiarities of the buffalo species for andrological evaluation – results of four years of study and weekly semen collection schedule. Anim Reprod, v.14, (Suppl.1), p.1225-1233, 2017.
http://www.lex.com.br/legis_27037049_Instrucao_Normativa_N_36_de_27_de_outubro_2015.aspx
- Ibrahim RA.** Seasonal changes in sperm production of buffalo bulls. M.V.Sc Thesis, Cairo University, 1985.
- Jorge AM.** Desempenho em confinamento e características de carcaça em bubalinos. In: Simpósio Paulista de Bubalinocultura, 1, 1999, Jaboticabal, SP. Anais ... Jaboticabal: UNESP/FCAV, p.51-67, 1999.
- Malfatti A, Barbato O, Todini L, Tarzano GM, Debenedetti A, Borghese A.** Blood testosterone levels in Italian Mediterranean buffalo bulls managed in two different breeding conditions. Theriogenology, v.65, p.1137-1144, 2006.
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Instrução Normativa MAPA Nº 36, de 27 de outubro de 2015.

- Marques JRF.** Criação de búfalos. *EMPRAPA* - Brasília: Serviço de Produção de Informação, 140p., 1998.
- Momont, H.** Ultrasonography of the bull genital system. *Clinical Theriogenology*, v.14, p.1-5, 2022.
- Neves BP.** O uso da vagina artificial interna para a coleta de sêmen de touros bubalinos (*Bubalus bubalis*) com diferentes experiências sexuais. 52f. Dissertação (Mestrado, Área de Concentração: Reprodução Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.
- Oba E.** Tópicos atualizados ligados à reprodução na espécie bubalina. In: Sanidade e Produtividade em Búfalos. Ed. Por Juan Molero Filho e col. Jaboticabal, *FUNEP*, 202p. 1993.
- Ohashi OM, Santos SSD, Miranda MS, Cordeiro MS, Costa NN, Silva TVG.** Morfologia do sistema genital, distúrbio reprodutivo e manejo do macho bubalino (*Bubalus bubalis*). *Rev Bras Reprod Anim*, v.35, n.2, p.88-94, 2011.
- Ohashi OM.** Aspecto reprodutivo do macho bubalino. In: Bupalinos: fisiologia e patologia da reprodução. *Fundação Cargill*, Campinas, p.69-86, 1988.
- Ohashi OM.** Estudo morfofisiológico do testículo de búfalos mestiços (*B. bubalis*) em diferentes idades [dissertation]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 1993.
- Oliveira AL.** Búfalos: produção, qualidade de carcaça e de carne. Alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético. *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, v.29, n.2, p.122-134, 2005.
- Pant HC, Sharma RK, Patel SH, Shukla HR, Mittal AK, Kasiraj R, Misra AK, Prabhakar JH.** Testicular development and its relationship to semen production in Murrah buffalo bulls. *Theriogenology*, v.60, p.27-34, 2003.
- Pastore AP, Toniollo GH, Cardilli DJ, Canola JC, Mercadante MEZ.** Contribuição da ultrassonografia na avaliação andrológica de bovinos. *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, v.39, n.1, p.32-40, jan./mar. 2015.
- Quezada-Casasola A, Martínez-Armendáriz KE, Carrera-Chávez JM, Pérez-Eguía E, Rodríguez-Alarcón CA, Avendaño-Reyes L.** Effect of season on scrotal circumference, semen characteristics and testosterone serum concentration in Mexican Corriente and other beef breed bulls. *Anim Reprod*, v.13, n.4, p.787-794, 2016.
- Samo MU, Brohi NA, Kaka I, Qureshi TA, Memon MM.** Study on sexual behaviour and seminal quality characteristics of Kundhi buffalo bulls. *Pakistan J Bio Sci*, v.8, n.11, p.1128-1129, 2005.
- Tatham B.** Increasing Buffalo Production; Using Reproduction Technology. Report Rur. Indust. Res. Corp. Dev., Kingston ACT, Australia. Jain YC, Anand SR, 1976: The lipids of buffalo spermatozoa and seminal plasma. *J Reprod Fertil*, v.47, 255-60, 2000.
- Teixeira LV, Bastianetto E, Oliveira DAA.** Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. *Rev Bras Reprod Anim*, v.29, p.96-100, 2005.
- Vale WG, Ribeiro HFL, Sousa JS, Silva AOA, Barbosa EM, STR Filho.** Seleção e avaliação andrológica do reprodutor bubalino. *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, v.32, n.2, p.141-155, abr./jun. 2008.
- Vale WG, Silva AOA, Sousa JS, Pereira WLA, Magalhães AN, Oliveira CM, Ribeiro HFL.** Arrested development of the mesonephric ducts in a Murrah buffalo bull. In: Buffalo Symposium of Americas, 1, 2002, Belém, PA, 2002. *Proceedings...* Belém: BSA, 2002.
- Vale WG, Sousa JS, Ohashi OM, Ribeiro HFL.** Biometria do sistema genital de búfalos. *Rev Bras Reprod Anim*, v.4, p.66-74, 1981.
- Vale WG.** Bupalinos: fisiologia e patologia da reprodução. Campinas: *Fundação Cargil*, 86p., 1988.
- Vale WG.** Collection, processing and deep-freezing of buffalo semen. *Buffalo J*, v.2, p.65-72, 1994.
- Vale WG.** Sperm cryopreservation. In: Course on biotechnology of reproduction in buffaloes, 3, 1997. Caserta. Anais...Caserta: *Bubalus bubalis* - J. Buffalo Sci. *Technol.*, suppl. 4, p.129-140, 1997.
- Valente L.** Qualidade do leite de búfala e benefícios à saúde. *USP/ESALQ - Divisão de comunicação*, 4p., 2019.
- Vikram R, Dewry RK, Mohanty TK, Yadav HY, Nath S, Bhakat M, Devi I, Raval K, Yousuf S.** Digital analysis of testicular ultrasound image can classify buffalo bulls with high sperm production capacity. *Buffalo Bulletin (January-March)*, v.40, n.1, 2021.
- Williams WW.** Technique of collecting semen for laboratory examination with review of several diseased bulls. *Cornell Vet*, v.10, p.87-94, 1920.
- Wolf FR, Almquist JO, Hale EB.** Prepubertal behavior and puberal characteristics of beef bulls on high nutrient allowance. *J Anim Sci*, v.24, p.761, 1965.
- Yassen AM, Fath El-Bab MA, Ibrahim MA.** Freezing of buffalo sperm in Tris UHT milk and lactose yolk extender: A comparative study. In: Proceedings of the I World Buff Congress Cairo, p.1132, 1985.
- Zicarelli L, Vale WG.** Patrones reprodutivos estacionales y no estacionales en el búfalo doméstico. In:

Berdugo JÁ, Vale WG. (Ed.). Memórias del Curso Internacional de Reproducción Bufalina, 2002, Medellín, Colombia. Medellín: *CATI*, p.33-58, 2002.
