

Uso da ultrassonografia modo doppler na avaliação da degeneração testicular em ovinos

Luan Sitó-Silva¹, Rogério Araújo de Almeida Filho¹, Beatriz Lippe de Camillo¹, Eunice Oba^{1*}

¹Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ, UNESP, Botucatu, São Paulo

*E-mail: eunice.oba@unesp.br

A degeneração testicular é uma das patologias que mais causa subfertilidade ou até mesmo infertilidade dentro dos rebanhos do Brasil e do mundo, podendo apresentar-se de caráter agudo, ou ainda, se não retirada a causa base podendo ser irreversível. A ultrassonografia é de suma importância para o entendimento da patologia, principalmente o modo doppler, sendo uma técnica que pode ser utilizada na rotina e pode trazer resultados precisos e em tempo real da normalidade ou alteração patológica nos testículos. Apesar da importância clínica, há escassez de estudos que caracterizam a dinâmica vascular testicular durante a degeneração e recuperação em ovinos. O objetivo deste trabalho foi realizar um acompanhamento ultrassonográfico de modo doppler antes, durante e após uma degeneração testicular induzida por insulto térmico até o restabelecimento da espermatogênese. Para tal, foram utilizados 18 machos ovinos, ½ sangue dorper/santa inês, com idade média de 16±2,0 meses. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, grupo controle (CON, n=8) e grupo degenerado (DEG, n=10). A degeneração testicular foi induzida com um insulto térmico durante 48 horas, por meio de duas fraldas descartáveis ajustadas para a total cobertura testicular, com as temperatura interna das fraldas, ou seja, próximo ao testículo, sendo monitoradas por datalogger. Para evitar a remoção da fralda foi utilizado também uma fita adesiva na base testicular para impedir que os animais a removam, além de serem tomados os devidos cuidados para que não haja comprometimento na vascularização dos testículos. As avaliações testiculares doppler foram realizadas com auxílio de ultrassom E1V Expert (SonoScape, Formedical, Brasil) utilizando probe linear com frequência de 8,5 MHz. Para a avaliação, os animais foram contidos em posição quadrupedal e a região dorsocaudal dos testículos, na região do plexo pampiniforme, foram tricotomizadas com auxílio de uma máquina. A artéria do plexo pampiniforme foi escaneada bilateralmente (testículo direito e esquerdo) nos dias D-5 (cinco dias antes do começo do insulto térmico), D0 (imediatamente após a retirada do insulto térmico) e dias D2, D5, D7, D14, D21, D28, D35, D42, D49 e D56. Os dados colhidos da ultrassonografia doppler foram velocidade sistólica máxima (PS), velocidade diastólica final (ED), índice de resistência e pulsatilidade (IR e IP), sendo as avaliações realizadas pelo mesmo técnico, no mesmo horário. Os dados foram testados quanto a normalidade e se apresentarem como não paramétricos, o teste de Wilcoxon foi realizado com nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Nas análises, quando os dados foram agrupados, o grupo DEG apresentou maior valores de IR ($0,6 \pm 0,2$ vs $0,5 \pm 0,2$; $p < 0,0001$), IP ($0,9 \pm 0,5$ vs $0,8 \pm 0,4$; $p < 0,001$) e menor valor de ED ($5,6 \pm 2,7$ vs $6,4 \pm 2,5$; $p = 0,006$) quando comparado ao grupo controle. A variável PS não diferiu entre os grupos ($14,7 \pm 4,2$ vs $15,4 \pm 4,5$; DEG vs CON). Os parâmetros Doppler avaliados ao longo do tempo revelaram diferenças significativas entre os grupos CON e DEG. No dia 0, o grupo DEG apresentou valores superiores de PS ($20,7 \pm 4,63$ vs $16,1 \pm 4,0$ no CON; $p = 0,005$), IR ($0,7 \pm 0,2$ vs $0,4 \pm 0,2$; $p < 0,001$) e PI ($1,4 \pm 0,7$ vs $0,6 \pm 0,4$; $p < 0,001$), enquanto o CON exibiu ED mais elevado ($7,7 \pm 2,5$ vs $5,5 \pm 3,1$; $p = 0,041$). Esse padrão se manteve no dia 5 para IR ($0,7 \pm 0,1$ no DEG vs $0,5 \pm 0,2$ no CON; $p = 0,007$) e IP ($1,1 \pm 0,5$ vs $0,8 \pm 0,5$; $p = 0,011$). Nos dias 21 e 28, o DEG novamente demonstrou IR ($0,7 \pm 0,2$ vs $0,6 \pm 0,2$; $p = 0,017$ e $0,6 \pm 0,2$ vs $0,5 \pm 0,2$; $p = 0,019$) e IP ($1,3 \pm 0,6$ vs $0,8 \pm 0,4$; $p = 0,024$ e $1,0 \pm 0,4$ vs $0,7 \pm 0,3$; $p = 0,024$) significativamente maiores. Já no dia 42, observou-se uma inversão no ED ($6,7 \pm 1,7$ no DEG vs $5,0 \pm 2,4$ no CON; $p = 0,008$) e IR ($0,5 \pm 0,1$ vs $0,7 \pm 0,1$; $p = 0,008$), sugerindo uma dinâmica temporal distinta entre os grupos. O Doppler detectou padrões temporais distintos: IR/IP elevados no DEG refletiu aumento da resistência vascular durante degeneração, enquanto a inversão do ED indicou fase de recuperação. Conclui-se que o Doppler é eficaz para monitorar alterações vasculares durante degeneração e recuperação testicular, com potencial aplicação clínica para diagnóstico precoce.

Palavras-chave: doppler, temperatura testicular, testículo

Agradecimentos: À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processo 2022/08431-0) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processo 302283/2022-6).

Use of doppler ultrasonography to assess testicular degeneration in rams

Luan Sitó-Silva¹, Rogério Araújo de Almeida Filho¹, Beatriz Lippe de Camillo¹, Eunice Oba^{1*}

¹Department of Veterinary Surgery and Animal Reproduction, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University (FMVZ, UNESP), Botucatu, São Paulo, Brazil

*E-mail: eunice.oba@unesp.br

Testicular degeneration is one of the main pathologies leading to subfertility or even infertility in herds both in Brazil and worldwide. It can present acutely, but if the underlying cause is not removed, it may become irreversible. Ultrasonography, particularly Doppler mode, is essential for understanding this condition, as it is a technique that can be routinely used and provides accurate, real-time assessments of testicular normality or pathological changes. Despite its clinical importance, there is a lack of studies characterizing testicular vascular dynamics during degeneration and recovery in rams. The objective of this study was to perform Doppler ultrasonographic monitoring before, during, and after experimentally induced testicular degeneration by thermal insult until the reestablishment of spermatogenesis. Eighteen crossbred Dorper/Santa Inês rams (½ blood), with an average age of 16.0±2.0 months, were used. Animals were randomly divided into two groups: control (CON, n=8) and degenerated (DEG, n=10). Testicular degeneration was induced through thermal insult for 48 hours using two disposable diapers adjusted to fully cover the testes, with the internal temperature of the diapers, close to the testicular surface, being monitored by a data logger. An adhesive tape was placed at the base of the testicles to prevent diaper removal, ensuring no compromise to testicular blood flow. Doppler ultrasonographic evaluations were conducted using an E1V Expert ultrasound device (SonoScape, Formedical, Brazil) with an 8.5 MHz linear probe. Animals were restrained in a standing position, and the dorsocaudal testicular region, at the pampiniform plexus, was clipped. Bilateral scans (right and left testes) of the pampiniform plexus artery were performed on days D-5 (five days before thermal insult), D0 (immediately after insult removal), and on D2, D5, D7, D14, D21, D28, D35, D42, D49, and D56. Doppler variables recorded included peak systolic velocity (PS), end-diastolic velocity (ED), resistance index (RI), and pulsatility index (PI). All measurements were performed by the same technician at the same time of day. Data were tested for normality, and when non-parametric, the Wilcoxon test was applied with a 5% significance level ($p < 0.05$). When grouped, DEG showed significantly higher RI (0.6 ± 0.2 vs 0.5 ± 0.2 ; $p < 0.0001$), PI (0.9 ± 0.5 vs 0.8 ± 0.4 ; $p < 0.001$), and lower ED (5.6 ± 2.7 vs 6.4 ± 2.5 ; $p = 0.006$) compared to CON. PS did not differ between groups (14.7 ± 4.2 vs 15.4 ± 4.5 ; DEG vs CON). Over time, significant differences were observed between groups. On D0, DEG exhibited higher PS (20.7 ± 4.63 vs 16.1 ± 4.0 ; $p = 0.005$), RI (0.7 ± 0.2 vs 0.4 ± 0.2 ; $p < 0.001$), and PI (1.4 ± 0.7 vs 0.6 ± 0.4 ; $p < 0.001$), while CON had higher ED (7.7 ± 2.5 vs 5.5 ± 3.1 ; $p = 0.041$). On D5, RI (0.7 ± 0.1 vs 0.5 ± 0.2 ; $p = 0.007$) and PI (1.1 ± 0.5 vs 0.8 ± 0.5 ; $p = 0.011$) remained elevated in DEG. On D21 and D28, DEG continued to show higher RI (0.7 ± 0.2 vs 0.6 ± 0.2 ; $p = 0.017$ and 0.6 ± 0.2 vs 0.5 ± 0.2 ; $p = 0.019$) and PI (1.3 ± 0.6 vs 0.8 ± 0.4 ; $p = 0.024$ and 1.0 ± 0.4 vs 0.7 ± 0.3 ; $p = 0.024$). On D42, a reversal was observed in ED (6.7 ± 1.7 in DEG vs 5.0 ± 2.4 in CON; $p = 0.008$) and RI (0.5 ± 0.1 vs 0.7 ± 0.1 ; $p = 0.008$), suggesting distinct temporal vascular dynamics between groups. Doppler assessments revealed distinct temporal patterns: elevated RI and PI in DEG reflected increased vascular resistance during degeneration, while ED reversal suggested a recovery phase. It is concluded that Doppler ultrasonography is effective for monitoring vascular changes during testicular degeneration and recovery, with potential clinical application for early diagnosis.

Keywords: doppler, testicular temperature, testis

Acknowledgements: São Paulo Research Foundation (FAPESP, 2022/08431-0) and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 302283/2022-6).

Efeito da adição de nicotinamida associada ou não ao colesterol sobre a motilidade e integridade acrossomal de espermatozoides de ovinos após a criopreservação

Beatriz Cavalcanti de Freitas¹, Elenice Andrade de Moraes¹, Mabel Freitas Cordeiro^{1*}, Davi Felipe Soares Coelho¹, Jairo José da Silva Santos¹, Brenna Maria Silva de Souza¹, Neilton de Lima Oliveira Júnior¹, Brenna Ferreira de Menezes¹, Desirrê Cândida de Souza¹, Victória Passos Fernandes Castro¹, Rafael Soares dos Anjos¹, Luana Kealy Pimentel de Oliveira¹, Guilherme Rocha Moreira², Pedro Humberto Félix de Sousa³, Edilson Soares Lopes Júnior¹

¹Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Petrolina, Pernambuco, Brasil; ²Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, Pernambuco, Brasil; ³Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Juazeiro, Bahia, Brasil

*E-mail: mabel.cordeiro@univasf.edu.br

O estresse oxidativo gerado durante a criopreservação pode comprometer a integridade das células espermáticas, especialmente em ovinos. A nicotinamida tem ação antioxidante e o colesterol melhora a fluidez e estabilidade da membrana espermática. Objetivou-se avaliar o efeito da adição de nicotinamida e colesterol ao meio diluidor sobre a motilidade progressiva e a integridade acrossomal de espermatozoides de ovinos após descongelação. Ejaculados de seis carneiros foram coletados e diluídos em meio Tris-gema, com ou sem a adição de nicotinamida e colesterol em diferentes concentrações: T1 (controle, tris-gema sem adição de nicotinamida ou colesterol), T2 (tris-gema com adição de 2 mg de colesterol), T3 (tris-gema com adição de 30 µM de nicotinamida), T4 (tris-gema com adição de 60 µM de nicotinamida), T5 (tris-gema com adição de 30 µM de nicotinamida + 2 mg de colesterol) e T6 (tris-gema com adição de 60 µM de nicotinamida + 2 mg de colesterol). Após 15 min para incorporação do colesterol, o sêmen foi envasado em palhetas de 0,25 mL, resfriado 4°C/24 h e depois colocadas sobre vapor de nitrogênio líquido antes de serem submersas e armazenadas em botijão criogênico. As amostras foram descongeladas à 37°C/30s e avaliadas quanto à motilidade progressiva através do sistema de análise computadorizada (CASA). A integridade acrossomal foi determinada, utilizando 10 µL das amostras, os quais foram adicionados em microtubos (1 mL), juntamente com 25 µg/mL de FITC-PNA e 500 µg/mL de iodeto de propídio (IP). As amostras foram incubadas em banho-maria, a 37 °C, por 20 minutos. Após a incubação, 10 µL de cada amostra foram retirados e acondicionados entre lâmina e lamínula previamente aquecidas a 37 °C, sendo, posteriormente, avaliados em microscópio de fluorescência com aumento de 400x, utilizando filtro de fluoresceína com excitação a 365 nm e emissão a 420 nm. Para cada amostra analisada, foram contadas 200 células em campos aleatórios. Os espermatozoides foram classificados em quatro categorias: mortos com acrossomo intacto (corados de vermelho pelo IP), mortos com acrossomo reagido ou danificado (corados de vermelho pelo IP, com a região acrossomal corada de verde pelo FITC-PNA), vivos com acrossomo intacto (não observados em fluorescência, apenas em campo claro) e vivos com acrossomo reagido ou danificado (corados de verde pelo FITC-PNA). O delineamento experimental adotado foi o quadrado latino 6×6, e os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Friedman ($P < 0,05$). A motilidade progressiva espermática do sêmen fresco foi de 72,02%. Após a descongelação, os valores de motilidade progressiva não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,05$), sendo de 22,51% (T1), 13,92% (T2), 22,59% (T3), 11,96% (T4), 13,06% (T5) e 7,75% (T6). Após a descongelação, a integridade acrossomal resultou nos seguintes valores: 0,53 espermatozoides vivos com acrossomo danificado; 121,8 espermatozoides mortos com acrossomo danificado; 68,15 espermatozoides mortos com acrossomo intacto; e 9,53 espermatozoides vivos com acrossomo intacto, sem diferença significativa entre os tratamentos ($P > 0,05$). A adição de nicotinamida nas concentrações de 30 µM e 60 µM, associadas ou não ao colesterol, não melhora a motilidade progressiva e a reação acrossômica de espermatozoides de ovinos após a criopreservação.

Palavras-chave: Antioxidante, carneiro, CASA, reação acrossômica, vitamina B3.

Agradecimentos: À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e suporte financeiro (PROAP). Ao Laboratório de Fisiologia e Biotecnologia da Reprodução Animal (LAFIBRA) e ao Centro de Pesquisa em Suínos, Espécies Nativas e Silvestres (CPSENS) da UNIVASF, pelo suporte técnico e infraestrutura. Ao Setor de Ovinocultura da UNIVASF, pelo fornecimento dos animais e apoio na condução da pesquisa.

Effect of nicotinamide addition, with or without cholesterol, on motility and acrosomal integrity of ram spermatozoa after cryopreservation

Beatriz Cavalcanti de Freitas¹, Elenice Andrade de Moraes¹, Mabel Freitas Cordeiro^{1*}, Davi Felipe Soares Coelho¹, Jairo José da Silva Santos¹, Brenna Maria Silva de Souza¹, Neilton de Lima Oliveira Júnior¹, Brenna Ferreira de Menezes¹, Desirrê Cândida de Souza¹, Victória Passos Fernandes Castro¹, Rafael Soares dos Anjos¹, Luana Kealy Pimentel de Oliveira¹, Guilherme Rocha Moreira², Pedro Humberto Félix de Sousa³, Edilson Soares Lopes Júnior¹

¹Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Petrolina, Pernambuco, Brasil; ²Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, Pernambuco, Brasil; ³Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Juazeiro, Bahia, Brasil

*E-mail: mabel.cordeiro@univasf.edu.br

Oxidative stress generated during cryopreservation can compromise the integrity of sperm cells, especially in sheep. Nicotinamide has antioxidant properties, and cholesterol improves sperm membrane fluidity and stability. This study aimed to evaluate the effect of adding nicotinamide and cholesterol to the extender medium on progressive motility and acrosomal integrity of ovine spermatozoa after thawing. Ejaculates from six rams were collected and diluted in a Tris-egg yolk extender, with or without the addition of nicotinamide and cholesterol at different concentrations: T1 (control, Tris-egg yolk without nicotinamide or cholesterol), T2 (Tris-egg yolk with 2 mg of cholesterol), T3 (Tris-egg yolk with 30 μ M nicotinamide), T4 (Tris-egg yolk with 60 μ M nicotinamide), T5 (Tris-egg yolk with 30 μ M nicotinamide + 2 mg cholesterol), and T6 (Tris-egg yolk with 60 μ M nicotinamide + 2 mg cholesterol). After 15 minutes for cholesterol incorporation, the semen was packaged in 0.25 mL straws, cooled at 4°C for 24 hours, and then placed over liquid nitrogen vapor before being submerged and stored in a cryogenic container. Samples were thawed at 37°C for 30 seconds and evaluated for progressive motility using a computer-assisted sperm analysis system (CASA). Acrosomal integrity was determined using 10 μ L of each sample, which were placed in microtubes (1 mL) with 25 μ g/mL of FITC-PNA and 500 μ g/mL of propidium iodide (PI). The samples were incubated in a water bath at 37°C for 20 minutes. After incubation, 10 μ L of each sample were placed between pre-warmed slides and coverslips at 37°C, and subsequently evaluated under a fluorescence microscope at 400x magnification using a fluorescein filter (excitation at 365 nm and emission at 420 nm). For each analyzed sample, 200 cells were counted in random fields. Spermatozoa were classified into four categories: dead with intact acrosome (stained red by PI), dead with reacted or damaged acrosome (stained red by PI with green-stained acrosomal region by FITC-PNA), live with intact acrosome (not observed under fluorescence, only under brightfield), and live with reacted or damaged acrosome (stained green by FITC-PNA). The experimental design adopted was a 6 \times 6 Latin square, and the data were subjected to analysis of variance (ANOVA), followed by the Friedman test ($P < 0.05$). The progressive motility of fresh semen was 72.02%. After thawing, progressive motility values did not differ among treatments ($P > 0.05$), being 22.51% (T1), 13.92% (T2), 22.59% (T3), 11.96% (T4), 13.06% (T5), and 7.75% (T6). Post-thaw acrosomal integrity yielded the following values: 0.53 live sperm with damaged acrosome; 121.8 dead sperm with damaged acrosome; 68.15 dead sperm with intact acrosome; and 9.53 live sperm with intact acrosome, with no significant difference among treatments ($P > 0.05$). The addition of nicotinamide at concentrations of 30 μ M and 60 μ M, whether combined with cholesterol or not, did not improve the progressive motility or acrosomal reaction of ovine spermatozoa after cryopreservation.

Keywords: Antioxidant, acrosome reaction, CASA, ovine, vitamin B3.

Acknowledgments: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for granting the scholarship and financial support (PROAP). Gratitude is also extended to the Laboratório de Fisiologia e Biotecnologia da Reprodução Animal (LAFIBRA) and the Centro de Pesquisa em Suínos, Espécies Nativas e Silvestres (CPSENS) at UNIVASF for technical support and infrastructure. Special thanks to the Sheep Farming Sector at UNIVASF for providing the animals and supporting the research development.

Influência da suplementação de composto homeopático sobre os parâmetros espermáticos de carneiros da raça White Dorper

Kemilly Dayene Bergamo¹, Maria Paula Pelinzel Baptista¹, Linda Áurea De Souza Ratier Dias¹, André Luiz Paulin¹, Matheus Dini Nascimento¹, Myrian Megumy Tsunokawa Hidalgo¹, Ana Beatriz Marques de Almeida², Luiz Guilherme Corsi Trautwein², Maria Isabel Mello Martins², Wanessa Blaschi¹, Thales Ricardo Rigo Barreiros^{1*}

¹Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal – Universidade Estadual do Norte do Paraná, Paraná - Brasil

²Laboratório de Andrologia e Reprodução Animal Assistida- Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil

*E-mail: thalesrigo@uenp.edu.br

A ovinocultura tem se destacado entre pequenos, médios e grandes produtores como uma alternativa promissora para a produção animal e geração de renda. Entre as raças mais relevantes no cenário nacional, a White Dorper se sobressai por sua notável versatilidade e elevada capacidade de adaptação, especialmente em ambientes de altas temperaturas e baixa umidade, devido à sua eficiente termorregulação. Diante da crescente demanda por melhorias na fertilidade de reprodutores, novas abordagens vêm sendo estudadas, com destaque para o uso de tratamentos homeopáticos. Por se tratar de uma alternativa natural, essa terapia apresenta diversos benefícios, incluindo a ausência de resíduos e a segurança do produto para o consumo humano. Este estudo objetivou avaliar a eficácia da utilização da homeopatia com composição de cobalto, zinco, iodo, selênio (Vigotonus®) na qualidade espermática de reprodutores ovinos da raça White Dorper em amostras frescas e após refrigeração. Foram utilizados seis carneiros (n = 6), com idade entre seis e oito meses, avaliados em duas etapas: Na primeira etapa (Grupo Controle), os animais foram submetidos ao exame clínico- andrológico, colheita e análise, refrigeração e análise do sêmen após 4 horas de transporte. Na segunda etapa (tratamento): após a primeira sessão de colheita, análise e refrigeração do sêmen, iniciou-se a suplementação diária com 25 g de composto homeopático (Vigotonus®, RealH, Brasil) por via oral por 90 dias subsequentes. Para avaliar a influência da suplementação alimentar na qualidade espermática, foi realizada 2 sessões de colheita, análise e refrigeração do sêmen; a primeira após 30 dias de suplementação e a segunda após 60 dias de suplementação. Em ambas as etapas, após colheita, o sêmen foi avaliado quanto ao turbilhamento (escala de 1 a 5), motilidade, vigor (escala de 1 a 5) e concentração espermática em câmara de Neubauer (Precision, Brasil) sob microscopia óptica (Olympus®, CX31, Japão). O ejaculado foi diluído em meio comercial de refrigeração (Botubov, Botupharma, Brasil) na proporção de 1:1, acondicionado em bisnagas de 100 mL (Botu-IA, Botupharma, Brasil) e refrigerado a 15°C em caixa de transporte (BotuFLEX®, Botupharma, Brasil) por quatro horas. Posteriormente, o material refrigerado foi transportado para o Laboratório de Andrologia e Reprodução Animal Assistida (LARAA- UEL), onde foram realizadas as análises da cinética espermática pelo Sistema CASA, bem como avaliações de morfologia espermática e integridade de membrana plasmática por microscópio óptico (Olympus®, CX31, Japão). Todas as avaliações foram realizadas pelo mesmo profissional. Os dados com distribuição normal foram analisados pelo teste de T pareado enquanto os não paramétricos foram analisados pelo teste de Wilcoxon, considerando nível de significância de 5%. Nas amostras frescas, os parâmetros espermáticos apresentaram melhor qualidade no grupo suplementado, com diferenças significativas para concentração (Controle: 1.0 ± 0.54 vs. Tratamento: 2.0 ± 0.55; P= 0.011), volume (Controle: 0.8 mL vs. Primavera: 1.6 mL; P= 0.04), motilidade (Controle: 80.0 % (70- 85) vs. Tratamento: 90% (80- 90); P= 0.015) e turbilhão (Controle: 4,0 (3.0- 4.0) vs. Tratamento: 5.0 (4.0 – 5.0); P= 0.026). Em relação à morfologia espermática, a análise do ejaculado fresco revelou uma redução significativa na porcentagem de defeitos menores após a suplementação (Controle: 2.8 ± 2.4 vs. Tratamento: 0.5 ± 0.3; P = 0,04). Já na avaliação do ejaculado após quatro horas de refrigeração, observou-se uma tendência de redução nos defeitos maiores (Controle: 20.5 ± 1.7 vs. Tratamento: 6.3 ± 3.8; P = 0,06) e um aumento significativo de células normais (Controle: 76.6 ± 16.2 vs. Tratamento: 92.1 ± 4.7; P = 0,04) em decorrência da suplementação. Os parâmetros cinéticos avaliados pelo sistema CASA indicaram uma melhora significativa após a suplementação com composto homeopático. Observou-se um aumento na motilidade total (Controle: 76.0 ± 5.6 vs. Tratamento: 88.8 ± 5.1; P = 0.003), na motilidade progressiva (Controle: 48.3 ± 4.6 vs. Tratamento: 59.6 ± 6.6; P = 0.007) e na velocidade progressiva (VSL) (Controle: 86.9 ± 12.1 vs. Controle: 103.5 ± 12.8; P = 0.045). Além disso, houve maior proporção de espermatozoides com velocidade rápida (Controle: 57.0 ± 8.7 vs. Tratamento: 81.5 ± 7.6; P = 0.001) e velocidade média (Controle: 18.6 ± 5.0 vs. Tratamento: 7.5 ± 5.2; P = 0.004), acompanhada de uma redução significativa no número de células com velocidade lenta (Controle: 16.6 ± 5.4 vs. Tratamento: 6.8 ± 3.3; P = 0.24). A suplementação homeopática promoveu impacto significativo nos parâmetros espermáticos do ejaculado, indicando seu potencial para melhorar o desempenho reprodutivo em rebanhos ovinos.

Palavras-chave: ovinocultura; homeopatia; qualidade seminal.

Influence of homeopathic compound supplementation on sperm parameters of White Dorper rams

Kemilly Dayene Bergamo¹, Maria Paula Pelinzel Baptista¹, Linda Áurea De Souza Ratier Dias¹, André Luiz Paulin¹, Matheus Dini Nascimento¹, Myrian Megumy Tsunokawa Hidalgo¹, Ana Beatriz Marques de Almeida², Luiz Guilherme Corsi Trautwein², Maria Isabel Mello Martins², Wanessa Blaschi¹, Thales Ricardo Rigo Barreiros^{1*}

¹Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal – Universidade Estadual do Norte do Paraná, Paraná - Brazil

²Laboratório de Andrologia e Reprodução Animal Assistida- Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brazil

*E-mail: thalesrigo@uenp.edu.br

Sheep farming has stood out among small, medium and large producers as a promising alternative for animal production and income generation. Among the most important breeds in the country, the White Dorper stands out for its versatility and high adaptability, especially in environments with high temperatures and low humidity, due to its efficient thermoregulation. Given the growing demand for improvements in the fertility of breeding animals, new approaches have been studied, with emphasis on the use of homeopathic treatments. As it is a natural alternative, this therapy has several benefits, including the absence of residues and the safety of the product for human consumption. This study aimed to evaluate the effectiveness of the use of homeopathy with a composition of cobalt, zinc, iodine, selenium (Vigotonus®) on the sperm quality of White Dorper breeding sheep in fresh samples and after refrigeration. Six rams (n = 6), aged between six and eight months, were evaluated in two stages: In the first stage (Control Group), the animals underwent clinical-andrological examination, collection and analysis, refrigeration and analysis of semen after 4 hours of transport. In the second stage (treatment): after the first session of collection, analysis and refrigeration of semen, daily supplementation with 25 g of homeopathic compound (Vigotonus®, RealH, Brazil) was started orally for the subsequent 90 days. To evaluate the influence of dietary supplementation on sperm quality, 2 semen collection steps, analysis and refrigeration of semen were performed; the first after 30 days of supplementation and the second after 60 days of supplementation. In both stages, after collection, the semen was evaluated for mass movement (scale of 1 to 5), motility, vigor (scale of 1 to 5) and sperm concentration in a Neubauer chamber (Precision, Brazil) under optical microscopy (Olympus®, CX31, Japan). The ejaculate was diluted in commercial refrigeration extender (Botubov, Botupharma, Brazil) in a ratio of 1:1, packaged in 100 mL tubes (Botu-IA, Botupharma, Brazil) and refrigerated at 15°C in a transport box (BotuFLEX®, Botupharma, Brazil) for four hours. Subsequently, the refrigerated material was transported to the Laboratory of Andrology and Assisted Animal Reproduction (LARAA-UEL), where sperm kinetics analyses were performed using the CASA System, as well as sperm morphology and plasma membrane integrity assessments using an optical microscope (Olympus®, CX31, Japan). All assessments were performed by the same professional. Data with normal distribution were analyzed using the paired t-test, while nonparametric data were analyzed using the Wilcoxon test, considering a significance level of 5%. In fresh samples, sperm parameters showed better quality in the supplemented group, with significant differences for concentration (Control: 1.0 ± 0.54 vs. Treatment: 2.0 ± 0.55 ; $P= 0.011$), volume (Control: 0.8 mL vs. Spring: 1.6 mL; $P= 0.04$), motility (Control: 80.0 % (70- 85) vs. Treatment: 90% (80- 90); $P= 0.015$) and vortex (Control: 4.0 (3.0- 4.0) vs. Treatment: 5.0 (4.0 – 5.0); $P= 0.026$). Regarding sperm morphology, analysis of fresh ejaculate revealed a significant reduction in the percentage of minor defects after supplementation (Control: 2.8 ± 2.4 vs. Treatment: 0.5 ± 0.3 ; $P= 0.04$). In the evaluation of the ejaculate after four hours of refrigeration, a tendency towards a reduction in major defects was observed (Control: 20.5 ± 1.7 vs. Treatment: 6.3 ± 3.8 ; $P= 0.06$) and a significant increase in normal cells (Control: 76.6 ± 16.2 vs. Treatment: 92.1 ± 4.7 ; $P= 0.04$) as a result of supplementation. The kinetic parameters evaluated by the CASA system indicated a significant improvement after supplementation with homeopathic compound. An increase in total motility (Control: 76.0 ± 5.6 vs. Treatment: 88.8 ± 5.1 ; $P= 0.003$), progressive motility (Control: 48.3 ± 4.6 vs. Treatment: 59.6 ± 6.6 ; $P= 0.007$) and progressive velocity (VSL) (Control: 86.9 ± 12.1 vs. Control: 103.5 ± 12.8 ; $P= 0.045$) was observed. Furthermore, there was a higher proportion of sperm with fast speed (Control: 57.0 ± 8.7 vs. Treatment: 81.5 ± 7.6 ; $P= 0.001$) and medium speed (Control: 18.6 ± 5.0 vs. Treatment: 7.5 ± 5.2 ; $P= 0.004$), accompanied by a significant reduction in the number of cells with slow speed (Control: 16.6 ± 5.4 vs. Treatment: 6.8 ± 3.3 ; $P= 0.24$). Homeopathic supplementation promoted a significant impact on sperm parameters in the ejaculate, indicating its potential to improve reproductive performance in sheep farming.

Keywords: sheep farming; homeopathy; seminal quality.

Influência da sazonalidade sobre os parâmetros espermáticos de carneiros da raça White Dorper

Maria Fernanda de Oliveira Souza¹, Dyana Muniz Carvalho¹, Karen Monise França da Luz¹, Matheus Dini Nascimento¹, André Luiz Paulin¹, Myrian Megumy Tsunokawa Hidalgo¹, Ana Beatriz Marques de Almeida², Luiz Guilherme Corsi Trautwein², Maria Isabel Mello Martins², Wanessa Blaschi¹, Thales Ricardo Rigo Barreiros^{1*}

¹Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal – Universidade Estadual do Norte do Paraná, Paraná, Brasil

²Laboratório de Andrologia e Reprodução Animal Assistida- Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil

*E-mail: thalesrigo@uenp.edu.br

A ovinocultura tem ganhado destaque entre pequenos, médios e grandes produtores como uma alternativa promissora de produção e geração de renda. Dentre as raças mais relevantes no Brasil, a White Dorper se sobressai por sua notável versatilidade e adaptabilidade, especialmente em regiões com altas temperaturas e baixa umidade, devido à sua eficiente capacidade homeotérmica. A qualidade espermática está diretamente relacionada à eficiência reprodutiva e à aplicação de biotecnologias da reprodução. Nesse contexto, o conhecimento sobre a influência da sazonalidade pode auxiliar na definição do período mais apropriado para a manipulação do sêmen. Este estudo objetivou avaliar os parâmetros espermáticos de carneiros da raça White Dorper criados em clima subtropical de baixa latitude (23°S). Foram utilizados seis carneiros (n = 6), com idade entre seis e oito meses, avaliados em dois períodos sazonais: agosto (inverno) e novembro (primavera). As colheitas de sêmen foram realizadas pela técnica de eletroejaculação e foram conduzidas 60 dias após os respectivos solstícios e equinócios. Após colheita, o sêmen foi avaliado quanto ao turbilhonamento (escala de 1 a 5), motilidade, vigor (escala de 1 a 5) e concentração espermática em câmara de Neubauer (Precision®, Brasil) sob microscopia óptica (Olympus®, CX31, Japão). O ejaculado foi diluído em meio comercial de refrigeração (Botubov, Botupharma, Brasil) na proporção de 1:1, acondicionado em bisnagas de 100 mL (Botu-IA, Botupharma, Brasil) e refrigerado a 15°C em caixa de transporte (BotuFLEX®, Botupharma, Brasil). Posteriormente, o material refrigerado, foi transportado por um período de quatro horas até o Laboratório de Andrologia e Reprodução Animal Assistida (LARAA- UEL), onde foram realizadas as análises da cinética espermática pelo Sistema CASA, bem como avaliações de morfologia espermática e integridade de membrana plasmática por microscópio óptico (Olympus®, CX31, Japão). Todas as avaliações foram realizadas pelo mesmo profissional. Os dados com distribuição normal foram analisados pelo teste de T pareado enquanto os não paramétricos foram analisados pelo teste de Wilcoxon, considerando nível de significância de 5%. Nas amostras frescas, os parâmetros espermáticos apresentaram melhor qualidade no mês de novembro (primavera), com diferenças para concentração (Inverno: 1,0 ± 0,54 vs. Primavera: 2,0 ± 0,55; P= 0,011), volume (Inverno: 0,76 mL vs. Primavera: 1,45 mL; P= 0,026), motilidade (Inverno: 80,0 % (70- 85) vs. Primavera: 90% (80- 90); P= 0,015) e turbilhão (Inverno: 4,0 (3,0- 4,0) vs. Primavera: 5,0 (4,0 – 5,0); P= 0,026). Tanto nas amostras frescas quanto as refrigeradas, não foram observadas diferenças nos parâmetros de morfologia espermática e integridade da membrana plasmática entre os períodos avaliados. Nas amostras refrigeradas, os parâmetros cinéticos, avaliados pelo sistema CASA indicaram melhora na Primavera, com aumento na motilidade total-MT (Inverno: 75,0 ± 8,2 vs. Primavera: 88,8 ± 5,1; P=0,006), motilidade progressiva-MP (Inverno: 42,1 ± 8,2 vs. Primavera: 59,6 ± 6,6; P=0,002), velocidade progressiva-VSL (Inverno: 86,6 ± 5,8 vs. Primavera: 103,5 ± 12,8; P=0,015), além de maior proporção de células com velocidade rápida- RAPID (Inverno: 55,5 ± 12,71 vs. Primavera: 81,5 ± 7,6; P= 0,002) e média- MEDIUM (Inverno: 17,8 ± 7,0 vs. Primavera: 7,5 ± 5,2; P=0,016), e redução de células com velocidade lenta-SLOW (Inverno: 16,5 ± 9,5 vs. Primavera: 6,8 ± 2,2; P= 0,037). Os resultados indicaram que carneiros da raça White Dorper criados em regiões subtropical de baixa latitude sofrem influência sazonal com melhora da qualidade espermática na Primavera. Esse achado é relevante, visto que parâmetros como motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP) e velocidade progressiva (VSL) possuem correlação positiva com taxas de fertilização, reforçando a importância da escolha do período reprodutivo para otimização da eficiência reprodutiva.

Palavras-chave: ovinocultura; fotoperíodo; qualidade seminal; reprodução.

Influence of seasonality on sperm parameters of White Dorper rams

Maria Fernanda de Oliveira Souza¹, Dyana Muniz Carvalho¹, Karen Monise França da Luz¹, Matheus Dini Nascimento¹, André Luiz Paulin¹, Myrian Megumy Tsunokawa Hidalgo¹, Ana Beatriz Marques de Almeida², Luiz Guilherme Corsi Trautwein², Maria Isabel Mello Martins², Wanessa Blaschi¹, Thales Ricardo Rigo Barreiros^{1*}

¹Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal – Universidade Estadual do Norte do Paraná, Paraná - Brazil

²Laboratório de Andrologia e Reprodução Animal Assistida- Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brazil

*E-mail: thalesrigo@uenp.edu.br

Sheep farming has achieved a prominent position among small, medium and large producers as a promising alternative for production and income. Among the most relevant breeds in Brazil, the White Dorper stands out for its remarkable versatility and adaptability, especially in regions with high temperatures and low humidity, due to its efficient homeothermic capacity. Sperm quality is directly related to reproductive efficiency and the application of reproductive biotechnologies. In this context, knowledge about the influence of seasonality can help define the most appropriate period for semen manipulation. This study aimed to evaluate the sperm parameters of White Dorper rams raised in a low-latitude subtropical climate (23°S). Six rams (n = 6) aged between six and eight months were evaluated in two seasonal periods: August (winter) and November (spring). Semen collections were performed using the electroejaculation technique and were conducted 60 days after the respective solstices and equinoxes. After collection, semen was evaluated for mass movement (scale of 1 to 5), motility, vigor (scale of 1 to 5) and sperm concentration in a Neubauer chamber (Precision, Brazil) under optical microscopy (Olympus®, CX31, Japan). The ejaculate was diluted in commercial refrigeration extender (Botubov, Botupharma, Brazil) in a ratio of 1:1, packaged in 100 mL tubes (Botu-IA, Botupharma, Brazil) and refrigerated at 15°C in a transport box (BotuFLEX®, Botupharma, Brazil) for four hours. Subsequently, the refrigerated material was transported to the Laboratory of Andrology and Assisted Animal Reproduction (LARAA-UEL), where sperm kinetics analyses were performed using the CASA System, as well as sperm morphology and plasma membrane integrity assessments using an optical microscope (Olympus®, CX31, Japan). All assessments were performed by the same professional. Data with normal distribution were analyzed using the paired t-test, while nonparametric data were analyzed using the Wilcoxon test, considering a significance level of 5%. In fresh samples, sperm parameters showed better quality in November (spring), with differences for concentration (Winter: 1.0 ± 0.54 vs. Spring: 2.0 ± 0.55 ; $P = 0.011$), volume (Winter: 0.76 mL vs. Spring: 1.45 mL; $P = 0.026$), motility (Winter: 80.0 % (70- 85) vs. Spring: 90% (80- 90); $P = 0.015$) and sperm swirling (Winter: 4.0 (3.0- 4.0) vs. Spring: 5.0 (4.0 – 5.0); $P = 0.026$). In both fresh and refrigerated samples, no differences were observed in sperm morphology and plasma membrane integrity parameters between the evaluated periods. In the refrigerated samples, the kinetic parameters, evaluated by the CASA system, indicated a improvement in Spring, with an increase in total motility-TM (Winter: 75.0 ± 8.2 vs. Spring: 88.8 ± 5.1 ; $P=0.006$), progressive motility-PM (Winter: 42.1 ± 8.2 vs. Spring: 59.6 ± 6.6 ; $P=0.002$), straight line velocity-VSL (Winter: 86.6 ± 5.8 vs. Spring: 103.5 ± 12.8 ; $P=0.015$), in addition to a greater proportion of cells with fast velocity-RAPID (Winter: 55.5 ± 12.71 vs. Spring: 81.5 ± 7.6 ; $P=0.002$) and sperm with medium velocity -MEDIUM (Winter: 17.8 ± 7.0 vs. Spring: 7.5 ± 5.2 ; $P=0.016$), and reduction of cells with slow velocity-SLOW (Winter: 16.5 ± 9.5 vs. Spring: 6.8 ± 2.2 ; $P= 0.037$). The results indicated that White Dorper rams raised in low-latitude subtropical regions undergo seasonal influence, with improved sperm quality in Spring. This finding is relevant, since parameters such as total motility (TM), progressive motility (PM) and progressive speed (VSL) have a positive correlation with fertilization rates, reinforcing the importance of choosing the reproductive period to optimize reproductive efficiency.

Keywords: sheep farming; sazonality; seminal quality.

Correlação Entre a Temperatura da Superfície Escrotal e Parâmetros de Motilidade Total e Progressiva de Sêmen Ovino

Eduardo de Oliveira Costa^{1*}, Isabella de Matos Brandão Carneiro¹, Miguel Ferreira Bomfim Baptista¹,
Esther Kayla dos Santos Matos¹, Sidney Gonçalves Gonzalez Alves², Rodrigo Freitas Bittencourt³

¹Pós-Graduando do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Trópicos da EMEVZ-UFBA, Salvador, BA, Brasil;

²Médico Veterinário da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFBA - EMEVZ-UFBA, Salvador, BA, Brasil;

³Professor do curso de Medicina Veterinária da EMEVZ-UFBA, Salvador, BA, Brasil

*E-mail: m.v.eduardo@outlook.com

A presença do saco escrotal nos mamíferos desempenha um importante papel na capacidade reprodutiva desses animais. No entanto, devido a sua anatomia, o saco escrotal e os testículos ficam mais expostos às variações de temperatura do ambiente, que muda de acordo com o horário do dia ou noite, região ou topografia e estação do ano. Para contornar essas variações térmicas do ambiente, o saco escrotal dispõe de um importante mecanismo de termorregulação, o que permite um melhor equilíbrio térmico e condições adequadas para a espermatogênese. Durante o exame andrológico, o uso da termografia infravermelha permite avaliar a capacidade termorregulatória do tecido escrotal, além de fornecer informações que possam indicar o desenvolvimento de processo inflamatórios e/ou patológicos que possam afetar a qualidade seminal de um reprodutor. Sendo assim, este estudo teve como objetivo avaliar a correlação entre a média da temperatura da superfície escrotal avaliada antes da coleta e os parâmetros de motilidade total e progressiva do sêmen. Para a avaliação da temperatura foi utilizada uma câmera termográfica modelo FLIR ONE posicionada a aproximadamente 60 cm de distância da face caudal do escroto do animal. As imagens foram capturadas em até 10 minutos antes da monta, sendo posteriormente analisadas com o uso do software FLIR Tools (FLIR Systems, Inc.). As temperaturas foram avaliadas no programa por meio da ferramenta de medição em elipse que abrangeu a maior área possível da superfície caudal do escroto, demonstrando o ponto de maior e de menor temperatura e a sua média. Foram utilizados um total de 5 ovinos mestiços Dorper/Santa Inês com aproximadamente 1 ano de idade, confinados em baias individuais e recebendo a mesma alimentação balanceada. As coletas de sêmen foram realizadas por meio do uso de vagina artificial nos turnos da manhã e da tarde durante 3 dias consecutivos. Logo após a coleta o material foi avaliado por meio de microscópio óptico para os parâmetros de turbilhonamento, motilidade total, progressiva, vigor, teste supravital, teste hiposmótico e concentração. Os dados obtidos foram submetidos a teste estatísticos de normalidade pelo método de Shapiro-Wilk, sendo os dados não paramétricos correlacionados pelo teste de Spearman. Na avaliação dos resultados, foi observada uma temperatura média de superfície escrotal de 33,69° C, média de motilidade total de 75,86% e média de motilidade progressiva de 64,82%. Não foram observadas correlações significativas entre a média da temperatura e os parâmetros estudados ($p > 0,05$). Tal fato pode ser explicado pela boa condição de saúde reprodutiva dos animais e o eficaz controle térmico promovido pelo escroto, que garante uma temperatura tecidual adequada para o processo da espermatogênese. Pode-se concluir desta forma que, nas condições de realização deste estudo, não há correlação significativa entre a média de temperatura da superfície escrotal com os parâmetros de motilidade total e motilidade progressiva dos espermatozoides. Demais pesquisas com diferentes condições atividade sexual e higidez reprodutivas podem colaborar com mais informações para a confirmação desses achados. Além disso, esses dados contribuem com a ampliação de literaturas que validam o uso da termografia no estudo da andrologia.

Palavras-chaves: Ovinocultura, termorregulação, andrologia, termografia, infravermelho.

Correlation Between Scrotal Surface Temperature and Total and Progressive Motility Parameters in Ram Semen

Eduardo de Oliveira Costa^{1*}, Isabella de Matos Brandão Carneiro¹, Miguel Ferreira Bomfim Baptista¹, Esther Kayla dos Santos Matos¹, Sidney Gonçalves Gonzalez Alves², Rodrigo Freitas Bittencourt³.

¹Pós-Graduando do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Trópicos da EMEVZ-UFBA, Salvador, BA, Brasil;

²Médico Veterinário da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFBA - EMEVZ-UFBA, Salvador, BA, Brasil;

³Professor do curso de Medicina Veterinária da EMEVZ-UFBA, Salvador, BA, Brasil

*E-mail: m.v.eduardo@outlook.com

The scrotal sac in mammals plays a crucial role in reproductive capacity. However, due to its anatomical position, the scrotal sac and tests are more exposed to environmental temperature variations that fluctuate according to time of day, geographic region, topography, and season. To counteract these thermal variations, the scrotal sac possesses an important thermoregulatory mechanism that maintains optimal thermal balance and adequate conditions for spermatogenesis. During andrological examinations, infrared thermography allows evaluation of scrotal tissue thermoregulatory capacity while providing information about potential inflammatory or pathological processes that may affect seminal quality in breeding males. This study aimed to evaluate the correlation between mean scrotal surface temperature measured prior to semen collection and parameters of total and progressive sperm motility. For temperature assessment, a FLIR ONE thermographic camera was positioned approximately 60 cm from the caudal aspect of the scrotum. Images were captured within 10 minutes before mounting and analyzed using FLIR Tools software (FLIR Systems, Inc.). Temperature measurements were obtained using the elliptical measurement tool, covering the maximum possible area of the caudal scrotal surface, identifying points of maximum, minimum, and mean temperature. The study utilized five 1-year-old Dorper/Santa Inês crossbred rams, housed in individual pens and fed the same balanced diet. Semen was collected using an artificial vagina during morning and afternoon sessions over three consecutive days. Immediately after collection, samples were evaluated by optical microscopy for swirling patterns, total motility, progressive motility, vigor, supravital test, hypoosmotic test, and concentration. Data was analyzed for normality using the Shapiro-Wilk test, with non-parametric data correlated using Spearman's test. Results showed a mean scrotal surface temperature of 33.69°C, mean total motility of 75.86%, and mean progressive motility of 64.82%. No significant correlations were observed between mean temperature and the parameters studied ($p > 0.05$). This finding may be explained by the animals' good reproductive health status and effective scrotal thermoregulation, which maintains adequate tissue temperature for spermatogenesis. We conclude that under the conditions of this study, there is no significant correlation between mean scrotal surface temperature and parameters of total and progressive sperm motility. Further research under different sexual activity and reproductive health conditions could provide additional information to confirm these findings. Moreover, these data contribute to the growing body of literature validating the use of thermography in andrological studies.

Keywords: Sheep husbandry, Thermoregulation, Andrology, Thermography, Infrared.

Variação de Temperatura Média de Superfície Escrotal Antes e Após Coleta de Sêmen por Monta em Ovinos

Eduardo de Oliveira Costa^{2*}, Isabella de Matos Brandão Carneiro², Miguel Ferreira Bomfim Baptista², Esther Kayla dos Santos Matos², Rafaella Sanches de Jesus¹, Rodrigo Freitas Bittencourt³.

¹Graduando do curso de Medicina Veterinária da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFBA-EMEVZ-UFBA, Salvador, BA, Brasil; ²Pós-Graduando do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Trópicos da EMEVZ-UFBA, Salvador, BA, Brasil; ³Professor do curso de Medicina Veterinária da EMEVZ-UFBA, Salvador, BA, Brasil
*E-mail: m.v.eduardo@outlook.com

Entre as diversas técnicas utilizadas durante o exame andrológico para avaliação a saúde reprodutiva de um reprodutor, a termografia se destaca como uma metodologia não invasiva e eficaz para a detecção de processos inflamatórios e/ou patológicos que podem estar se desenvolvendo no tecido escrotal ou testicular. Trata-se de uma técnica baseada na captura de imagens térmicas que revelam a distribuição de temperatura na região escrotal, fornecendo assim informações que poderiam passar despercebidas em exames convencionais. Durante a atividade sexual, o aumento de atividade do indivíduo como um todo e principalmente o aumento do fluxo sanguíneo nos órgãos genitais podem gerar variações de temperatura do tecido testicular que devem ser prontamente estabilizadas pelo sistema de regulação térmica do escroto. Assim, objetivo deste estudo foi comparar a variação da temperatura média da superfície escrotal de ovinos antes e após uma monta para coleta de sêmen, testando a hipótese da temperatura pós coleta ser superior a temperatura pré coleta. Para a execução foi utilizada uma câmera termográfica modelo FLIR ONE posicionada a aproximadamente 60 cm de distância da face caudal do escroto do animal. As imagens foram capturadas em até 10 minutos antes e até 10 minutos após a monta, sendo posteriormente analisadas com o uso do software FLIR Tools (FLIR Systems, Inc.). As temperaturas foram avaliadas no programa por meio da ferramenta de medição em elipse, abrangendo a maior área possível da face escrotal, com pontos de temperatura máxima e mínima e a média (alvo deste estudo). Foram utilizados um total de 5 ovinos mestiços Dorper/Santa Inês com aproximadamente 1 ano de idade, peso variando entre 39 e 43 quilogramas, média de escore corporal 3, confinados em baias individuais e recebendo a mesma alimentação balanceada. O escroto de todos os animais era coberto por pelagem sem presença de lã. As coletas de sêmen foram realizadas por meio do uso de vagina artificial nos turnos da manhã e da tarde durante 3 dias consecutivos. Logo após a coleta o material foi avaliado por meio de microscópio óptico para os parâmetros de turbilhonamento, motilidade total, progressiva, vigor, teste supravital, teste hiposmótico e concentração. Os dados de temperatura obtidos foram submetidos ao teste estatístico de normalidade pelo método de Shapiro-Wilk e por não atenderem ao pressuposto de normalidade ($p < 0,05$) foram então comparados pelo teste não paramétrico de Wilcoxon. Antes da atividade de monta, foram observados valores de mediana para a média de temperatura de 34,85°C e de 35,10°C na avaliação pós monta. No teste da hipótese alternativa da temperatura pós monta ser superior a temperatura pré-monta foi observado diferença estatística significativa ($p = 0,013$), rejeitando-se assim a hipótese nula. Levando em consideração que os ovinos utilizados no experimento eram animais sexualmente saudáveis, o mecanismo de regulação da temperatura do escroto e testículos garante a manutenção da estabilidade térmica. No entanto, dentro da janela de tempo estudada, esse mecanismo parece não ter tempo hábil suficiente para evitar as variações de temperatura, o que, em situações intensas de atividade sexual, pode promover algum tipo de impacto na espermatogênese. Além disso, esses resultados demonstram a sensibilidade do exame de termografia em identificar sutis variações térmicas que podem impactar na fertilidade de reprodutores com possíveis déficit de termorregulação escrotal. Assim, fica sugerido a realização de pesquisas com maior grau de atividade sexual e com outros intervalos entre a aferição térmica, a fim de aprimorar a identificação de reprodutores com déficit termorregulatório.

Palavras-chaves: Ovinocultura, termografia, exame andrológico, infravermelho.

Mean Scrotal Surface Temperature Variation Before and After Semen Collection via Mounting in Rams

Eduardo de Oliveira Costa^{2*}, Isabella de Matos Brandão Carneiro², Miguel Ferreira Bomfim Baptista², Esther Kayla dos Santos Matos², Rafaella Sanches de Jesus¹, Rodrigo Freitas Bittencourt³

¹Graduando do curso de Medicina Veterinária da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFBA-EMEVZ-UFBA, Salvador, BA, Brasil; ²Pós-Graduando do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Trópicos da EMEVZ-UFBA, Salvador, BA, Brasil; ³Professor do curso de Medicina Veterinária da EMEVZ-UFBA, Salvador, BA, Brasil

*E-mail: m.v.eduardo@outlook.com

Among the various techniques employed in andrological examinations to assess the reproductive health of breeding males, thermography stands out as a non-invasive and effective methodology for detecting inflammatory and/or pathological processes that may develop in scrotal or testicular tissue. This technique is based on capturing thermal images that reveal temperature distribution in the scrotal region, thereby providing information that might go unnoticed in conventional examinations. During sexual activity, increased overall physical activity and particularly enhanced genital blood flow can generate testicular tissue temperature variations that must be promptly stabilized by the scrotum's thermoregulatory system. The objective of this study was to compare variations in mean scrotal surface temperature in rams before and after mounting for semen collection, testing the hypothesis that post-collection temperatures would be higher than pre-collection temperatures. A FLIR ONE thermographic camera was positioned approximately 60 cm from the caudal aspect of the scrotum. Images were captured within 10 minutes before and after mounting and subsequently analyzed using FLIR Tools software (FLIR Systems, Inc.). Temperature measurements were obtained using an elliptical measurement tool encompassing the maximum possible area of the scrotal surface, recording maximum, minimum, and mean temperature points (the focus of this study). The study utilized five 1-year-old Dorper/Santa Inês crossbred rams weighing between 39 and 43 kg, with an average body condition score of 3, housed in individual pens and receiving the same balanced diet. All animals had scrotums covered with hair but no wool. Semen collections were performed using an artificial vagina during morning and afternoon sessions over three consecutive days. Immediately after collection, samples were evaluated by optical microscopy for swirling patterns, total motility, progressive motility, vigor, supravital test, hypoosmotic test, and concentration. Temperature data were analyzed for normality using the Shapiro-Wilk test and, as they did not meet normality assumptions ($p < 0.05$), were compared using the non-parametric Wilcoxon test. Median values for mean temperature were 34.85°C before mounting and 35.10°C after mounting. Testing the alternative hypothesis (post-mounting temperature $>$ pre-mounting temperature) revealed a statistically significant difference ($p = 0.013$), leading to rejection of the null hypothesis. Considering that the rams used in the experiment were sexually healthy animals, the scrotal and testicular thermoregulatory mechanism ensures maintenance of thermal stability. However, within the studied timeframe, this mechanism appears insufficient to completely prevent temperature variations, which during periods of intense sexual activity could potentially impact spermatogenesis. Furthermore, these results demonstrate thermography's sensitivity in identifying subtle thermal variations that may affect fertility in males with potential scrotal thermoregulatory deficiencies. We therefore suggest further research with higher levels of sexual activity and different thermal assessment intervals to improve identification of breeding males with thermoregulatory deficits.

Keywords: Sheep husbandry, Thermography, Andrological examination, Infrared.

Efeito da administração oral de L-Carnitina na qualidade de sêmen em Reprodutores Ovinos

Eveline de Fátima Lima Catão¹; Gilvannya Gonçalves de Sobral¹; Victor Netto Maia²; Oswaldo Christiano Gomes Neto³; Maria Madalena Pessoa Guerra¹; Gustavo Ferrer Carneiro^{1*}

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife, PE – Brasil, ²Universidade Federal do Agreste de Pernambuco - UFAPE, Garanhuns, PE – Brasil, ³Haras Monte Verde, Sairé, PE - Brasil

*E-mail: gustavo.ferrer@ufrpe.br

A L-Carnitina é uma amina quaternária biologicamente ativa, responsável pelo transporte de ácidos graxos de cadeia longa para o interior das mitocôndrias, onde são oxidados para geração de ATP. Nesse contexto, é considerada um cofator essencial na bioenergética espermática. Além de sua função metabólica, a L-Carnitina possui reconhecida atividade antioxidante, atuando na neutralização de espécies reativas de oxigênio (ROS), frequentemente associadas aos danos celulares durante a criopreservação seminal. Diversos estudos em diferentes espécies indicam uma correlação positiva entre os níveis de L-Carnitina no plasma seminal e parâmetros como concentração espermática, integridade das membranas plasmática e acrossomal. Outros trabalhos demonstram efeitos benéficos da adição de L-Carnitina aos diluentes sobre a qualidade seminal. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação oral de L-Carnitina sobre a qualidade do sêmen congelado/descongelado de carneiros da raça Santa Inês. Foram utilizados três carneiros, pesando em média 130 kg e submetidos a delineamento experimental cross-over ao longo de 10 meses. Inicialmente, os animais receberam dieta comercial isenta de suplementação. Após quatro meses, iniciou-se a suplementação com 5 g de L-Carnitina/dia, sendo as coletas para congelamento iniciadas após 60 dias de suplementação contínua. Os critérios mínimos para aprovação seminal incluíram motilidade $\geq 50\%$, patologia espermática $\leq 20\%$ (com até 10% de defeitos maiores) e vigor ≥ 3 . As amostras foram congeladas em palhetas de 0,25 mL contendo 240×10^6 espermatozoides/mL. Durante o período experimental, foram realizados 63 congelamentos aprovados com o primeiro carneiro, 36 com o segundo e 32 com o terceiro. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos parâmetros de concentração espermática, motilidade ou vigor entre os grupos controle e tratado. No entanto, observou-se aumento na taxa de palhetas aprovadas pós-descongelamento nos grupos tratados: 69,1% (1590/2300) versus 62,3% (1548/2483) no primeiro carneiro; 70,9% (653/1836) versus 57,8% (530/916) no segundo; e 52,2% (450/880) versus 50,6% (380/750) no terceiro. No total, os grupos suplementados apresentaram uma média numérica de 64,0% de palhetas aprovadas, enquanto os controles obtiveram média de 56,9%, representando um incremento global de 7,1%. Os dados obtidos sugerem que a suplementação oral com L-Carnitina possui potencial como aditivo bioativo em protocolos de criopreservação seminal, atuando como agente protetor frente ao estresse oxidativo induzido pelos processos de congelamento e descongelamento. O aumento na proporção de palhetas aprovadas pode refletir em maior eficiência produtiva e econômica dos sistemas de reprodução animal.

Palavras-chave: metabolismo mitocondrial; criopreservação seminal; integridade espermática; antioxidantes naturais; biotecnologia da reprodução.

Effect of Dietary L-Carnitine on Semen Quality in Ram Breeders

Eveline de Fátima Lima Catão¹; Gilvannya Gonçalves de Sobral¹; Victor Netto Maia²; Oswaldo Christiano Gomes Neto³; Maria Madalena Pessoa Guerra¹; Gustavo Ferrer Carneiro^{1*}

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife, PE – Brasil, ²Universidade Federal do Agreste de Pernambuco - UFAPE, Garanhuns, PE – Brasil, ³Haras Monte Verde, Sairé, PE - Brasil

*E-mail: gustavo.ferrer@ufrpe.br

L-Carnitine is a biologically active quaternary amine responsible for transporting long-chain fatty acids into the mitochondria, where they are oxidized to generate ATP. In this context, it is considered an essential cofactor in sperm bioenergetics. In addition to its metabolic function, L-Carnitine has recognized antioxidant activity, acting in the neutralization of reactive oxygen species (ROS), which are often associated with cellular damage during semen cryopreservation. Several studies in different species indicate a positive correlation between L-Carnitine levels in seminal plasma and parameters such as sperm concentration, plasma and acrosomal membrane integrity. Other studies have demonstrated beneficial effects of adding L-Carnitine to extenders on semen quality. The present study aimed to evaluate the effect of oral L-Carnitine supplementation on the quality of frozen/thawed semen from Santa Inês rams. Three rams, each weighing approximately 130 kg, were used and subjected to a cross-over experimental design over a period of 10 months. Initially, the animals received a commercial diet with no supplementation. After four months, supplementation with 5 g of L-Carnitine per day was initiated, and semen collection for freezing began after 60 days of continuous supplementation. The minimum criteria for semen approval included motility $\geq 50\%$, sperm pathology $\leq 20\%$ (with up to 10% major defects), and vigor ≥ 3 . Samples were frozen in 0.25 mL straws containing 240×10^6 spermatozoa/mL. During the experimental period, 63 approved freezing sessions were conducted with the first ram, 36 with the second, and 32 with the third. No statistically significant differences were observed in sperm concentration, motility, or vigor between control and treated groups. However, an increase was observed in the rate of approved straws after thawing in the treated groups: 69.1% (1590/2300) versus 62.3% (1548/2483) in the first ram; 70.9% (653/1836) versus 57.8% (530/916) in the second; and 52.2% (450/880) versus 50.6% (380/750) in the third. Overall, the supplemented groups showed an average of 64.0% approved straws, while the controls had an average of 56.9%, representing a global increase of 7.1%. These findings suggest that oral L-Carnitine supplementation has potential as a bioactive additive in semen cryopreservation protocols, acting as a protective agent against oxidative stress induced by freezing and thawing processes. The increase in the proportion of approved straws may reflect greater productive and economic efficiency in animal reproduction systems.

Keywords: mitochondrial metabolism; semen cryopreservation; sperm integrity; natural antioxidants; reproductive biotechnology.