



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Dissertação

Exame andrológico em carneiros em condições de campo

Luis Filipe Baleca Lourenço

Orientador(es) | Rita Payan-Carreira

Ricardo Jorge da Costa Trindade Palmeiro Romão

Évora 2021



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Dissertação

Exame andrológico em carneiros em condições de campo

Luis Filipe Baleca Lourenço

Orientador(es) | Rita Payan-Carreira

Ricardo Jorge da Costa Trindade Palmeiro Romão

Évora 2021



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Rui Ferreira (Universidade de Évora)

Vogais | Carlos Manuel Varela Bettencourt (Centro Experimentação do Baixo Alentejo)
(Arguente)
Rita Payan-Carreira (Universidade de Évora) (Orientador)

Agradecimentos

À Escola de Ciência e Tecnologia da Universidade de Évora, pela oportunidade de realizar o curso de Medicina Veterinária, bem como a todos os Professores e a toda a equipa do Hospital Veterinário da Universidade de Évora que fizeram parte da minha formação.

À Professora Rita Payan Carreira, por toda a disponibilidade, ajuda e empenho que foram preciosos na hora de realizar este trabalho.

Ao Professor Ricardo Romão e a toda equipa da VetAl – Complexo Veterinário do Alto Alentejo pela ajuda prestada durante a realização do estágio curricular

À Dra. Teresa Capitão por todos os ensinamentos, disponibilidade e ajuda durante o estágio.

Aos meus pais pela oportunidade de realizar o sonho de ser Médico Veterinário.

Aos meus “sobrinhos” (Miguel Lourenço, Duarte, Raquel, Tita, Joana Barroso, Jéssica Macarrão e Guilherme) pela amizade e companheirismo criado ao longo do curso.

Aos amigos que sempre me apoiaram nesta decisão.

Resumo - Exame andrológico em carneiros em condições de campo

Neste trabalho relata o resultado da avaliação do potencial reprodutivo, através da realização de exames andrológicos em situação de campo de 198 carneiros de várias idades e raças em várias explorações do Alentejo nos anos de 2010 a 2021, alguns deles realizados no estágio curricular (n=30).

Destes, foram aprovados 168 (84,8%) animais. Depois de analisados os resultados do exame físico e espermograma, avaliou-se a influência da estação reprodutiva, raça, idade e condição corporal sobre o perímetro escrotal, motilidade, viabilidade e morfologia espermáticas.

O perímetro escrotal, e a motilidade, viabilidade e morfologia espermáticas foram independentes da estação. A raça afetou o perímetro escrotal ($p= 0.002$) e as anomalias morfológicas ($p= 0,001$). A idade mostrou tendência a afetar o perímetro escrotal ($p= 0,055$) e as anomalias morfológicas ($p= 0,001$). A condição corporal apenas afetou o perímetro escrotal ($p= 0.007$). O exame andrológico é um instrumento importante de apoio à decisão e à eficiência da exploração.

Palavras-chave: Exame Reprodutivo, Avaliação Andrológica, Espermograma, Sêmen, Carneiro

Abstract – Breeding Soudness Evaluation in Rams under field settings

This work reports the results of the evaluation of reproductive potential, through andrological examinations in field situations of 198 rams of various ages and breeds in several farms in Alentejo in the years 2010 to 2021, some of them performed during the training period (n=30).

A total of 168 (84.8%) animals were approved. After analyzing the results of physical examination and spermogram, the influence of reproductive season, breed, age and body condition on scrotal perimeter, motility, sperm viability and morphology were evaluated.

Season did not affect the scrotal perimeter, or the sperm motility, viability, and morphology. The breed affected the scrotal perimeter ($p= 0.002$) and morphological abnormalities ($p= 0.001$). Age tended to affect scrotal circumference ($p= 0.055$) and the morphological abnormalities ($p= 0.001$). Body condition only affected the scrotal circumference ($p= 0.007$). The andrological examination is an important instrument to support decision making and farm efficiency.

Keywords: Reproductive Examination, Andrological Evaluation, Spermogram, Semen, **Ram**

Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo – Exame andrológico em carneiros em condições de campo.....	II
Abstract – Breeding Soundness Evaluation in Rams under field settings	III
Índice	IV
Índice de Figuras	VI
Índice de Tabelas	VIII
Siglas e Abreviaturas	X
Parte I – Revisão Bibliográfica	1
1. Introdução	1
2. Exame andrológico em ovinos	4
2.1. Etapas do exame andrológico.....	4
2.1.1. Identificação e anamnese reprodutiva do carneiro	5
2.1.2. Exame clínico geral	6
2.1.2.1. Exame à distância.....	6
2.1.2.2. Exame clínico individual	6
2.1.2.3. Pontuação da condição corporal em ovinos	8
2.1.2.4. Avaliação de aprumos e úngulas.....	10
2.1.3. Exame das estruturas genitais do carneiro.....	10
2.1.3.1. Exame clínico.....	10
2.1.3.1.1. Prepúcio, pênis e glândula.....	10
2.1.3.1.2. Escroto, testículos e epidídimo	11
2.1.3.2. Determinação do perímetro escrotal (PE)	12
2.1.4. Avaliação da libido	14
2.1.5. Recolha de sêmen em carneiros	15
2.1.6. Análise e avaliação de sêmen	16
2.1.6.1. Cor, cheiro e consistência	17
2.1.6.2. Volume	17
2.1.6.3. Concentração	17

2.1.6.4. Motilidade	19
2.1.6.5. Avaliação da viabilidade e da morfologia	21
2.1.6.5.1. Quantificação e classificação das anomalias espermáticas	22
2.1.7. Outros exames	26
2.1.7.1. Ecografia	27
2.1.7.2. Biópsia testicular	27
2.1.8. Padrões de qualidade reprodutiva	27
Parte II – Parte Prática	29
1. Objetivos.....	29
2. Introdução.....	29
3. Materiais e Métodos	30
3.1. Animais.....	30
3.2. Exame andrológico.....	31
3.2.1. Recolha e avaliação de sémen	31
3.2.2. Avaliação macroscópica.....	32
3.2.3. Avaliação microscópica	32
3.2.3.1. Motilidade massal.....	33
3.2.3.2. Motilidade individual	33
3.2.3.3. Viabilidade e morfologia espermática	33
3.2.4. Critérios de classificação dos carneiros.....	33
3.3. Análise estatística	34
4. Resultados	35
5. Discussão dos resultados	50
6. Conclusão.....	53
7. Bibliografia	55

Índice de Figuras

Figura 1 – Representatividade do efetivo bovino, caprino e ovino em Portugal registado em 2019	1
Figura 2 – Esquema geral das etapas do exame andrológico	5
Figura 3 – Pontuação da CC em ovinos	8
Figura 4 – Determinação do perímetro escrotal em carneiro, com recurso a fita métrica	12
Figura 5 – Eletroejaculador	16
Figura 6 – Classificação das anomalias morfológicas segundo a localização no espermatozoide	23
Figura 7 – Classificação das anomalias morfológicas segundo o local de origem do defeito	23
Figura 8 – Classificação das anomalias morfológicas segundo o seu efeito sobre a fertilidade	24
Figura 9 – Mapa da região do Alentejo.	30
Figura 10 – Distribuição da realização dos exames andrológicos ao longo do ano	31
Figura 11 – Colheita de sémen em carneiro	32
Figura 12 – Exemplo do material utilizado em situação de campo	32
Figura 13 – Realização do esfregaço com coloração de eosina-nigrosina.	33
Figura 14 – Comparação dos dados de MM (n = 180) entre a contra-estação (Fevereiro-Agosto) e a época reprodutiva (Setembro – Janeiro).....	40
Figura 15 – Variação do PE com a raça	41
Figura 16 – Proporção relativa de cada categoria de MM segundo a raça	42
Figura 17 – Variação da MI em função da raça	42
Figura 18 – Variação da VT com a raça	43
Figura 19 – Variação das AM com a raça	43
Figura 20 – Variação do PE com a idade	45
Figura 21 – Regressão Quadrática entre o PE e a idade	45
Figura 22 – Variação da MI com a idade	46
Figura 23 – Variação das VT com a idade	46
Figura 24 – Variação das AM com a idade	47
Figura 25 – Variação do PE com a CC	48

Figura 26 – Variação da MI com a CC	48
Figura 27 – Variação da VT com a CC	49
Figura 28 – Variação das AM com a CC	49

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Distribuição por região do número de explorações, ovinos e média de ovinos por exploração	2
Tabela 2 - Observações mais relevantes no exame à distância	6
Tabela 3 – Observações mais relevantes no exame físico individual	7
Tabela 4 – Pontuação da CC para ovinos	9
Tabela 5 – Limiares estabelecidos para o perímetro escrotal em carneiros em função das categorias do exame andrológico	13
Tabela 6 – Valores de referência para concentração espermática no carneiro	17
Tabela 7 – Procedimento para determinação da concentração espermática com recurso a um hematocítmetro	18
Tabela 8 – Relação entre a aparência do ejaculado e concentração	18
Tabela 9 – Descrição dos escalões da motilidade massal	19
Tabela 10 – Passos da coloração com eosina – nigrosina	22
Tabela 11 – Defeitos maiores e menores dos espermatozoides	24
Tabela 12 – Defeitos compensáveis e não compensáveis da morfologia espermática	26
Tabela 13 – Classificação dos carneiros no exame andrológico	28
Tabela 14 – Distribuição dos animais por raça e idade	35
Tabela 15 – Distribuição dos machos avaliados segundo a raça e a época reprodutiva	35
Tabela 16 – Resultados do exame andrológico (aprovados vs reprovados) e causas de reprovação	36
Tabela 17 – Causas de reprovação no exame físico	36
Tabela 18 – Causas de reprovação no espermograma	36
Tabela 19 – Resultados do exame andrológico na totalidade dos animais testados (n = 198), segundo a época considerada: contra-estação (Fevereiro a Agosto) e estação reprodutiva (Setembro a Janeiro)	37
Tabela 20 – CC (n = 198) e PE (n = 191) dos carneiros submetidos a exame andrológico (Global) e distinguindo as observações realizadas em contra-estação (Fevereiro a Agosto) e em estação reprodutiva (Setembro a Janeiro).....	38
Tabela 21 - Avaliação descritiva da cor (n = 180) e consistência (n = 181) do sémen para a globalidade das observações (Global) e distinguindo as observações em contra-estação (Fevereiro a Agosto) e em estação reprodutiva (Setembro a Janeiro)	38

Tabela 22 – MM (n = 180) registada nas amostras de sémen analisadas na sua globalidade (Global), e distinguindo as observações em contra-estação (Fevereiro a Agosto) e em estação reprodutiva (Setembro a Janeiro).....	39
Tabela 23 - Avaliação descritiva dos parâmetros MM (n= 180), MI (n = 179), VT (n = 177) e AM (n= 176) para a totalidade das observações (Global) e distinguindo as observações em contra-estação (Fevereiro a Agosto) e em estação reprodutiva (Setembro a Janeiro)	39
Tabela 24 – Avaliação descritiva dos parâmetros PE, MM, MI, VT, e AM segundo a raça	41
Tabela 25 – Avaliação descritiva dos parâmetros PE, MM, MI, VT, e AM segundo a idade.....	44
Tabela 26 – Avaliação descritiva dos parâmetros PE, MM, MI, VT, e AM segundo a CC	47
Tabela 27 – Valores de PE obtidos em diferentes estudos para diferentes raças	52

Siglas e Abreviaturas

AM	Anomalias Morfológicas
ASMA	Análise Automática da Morfologia
BSE	Breeding Soundness Evaluation
CASA	Sistema Computorizado de Análise Seminal
CASMA	Análise Computorizada Assistida da Morfologia Espermática
CC	Condição Corporal
DGAV	Direção Geral de Alimentação e Veterinária
FSH	Hormona Folículo Estimulante
IFAP	Instituto de Financiamento de Agricultura e Pescas
INE	Instituto Nacional de Estatística
LH	Hormona Luteinizante
LIN	Linearidade
MI	Motilidade Individual
MM	Motilidade Massal
Nº	Número
°C	Graus Celsius
p	valor de p
PE	Perímetro Escrotal
Pr	Prolactina
Q	Quartil
RA	Recenseamento Agrícola
SEM	Erro padrão da Média
STR	Retilidade ou Retilineidade
T	Testosterona
VA	Vagina Artificial
VAP	Velocidade Média da Trajetória
VCL	Velocidade Curvilínea
VSL	Velocidade Linear Progressiva
VT	Vitalidade
n	Número de observações
α	Nível de Significância

I – Revisão Bibliográfica

1. Introdução

Os ovinos são uma espécie que se encontra dispersa por todo o mundo, com mais de 800 raças adaptadas aos mais diversos climas (Cruz, 2002; Londrina, 2015); em Portugal, são explorados tanto para produção de carne como de leite (Rocha e Silva et al., 2018).

A produção de ovinos é uma das principais atividades do sector pecuário do País, supondo uma fonte de lucro para essas mesmas explorações (Barbosa, 2000). Desde 2000 que se tem vindo a observar uma redução do número de explorações de ovinos de leite relativamente às dedicadas aos ovinos de carne. Apesar do setor da carne sofrer algumas alterações no decorrer dos últimos anos, trata-se de um setor com alguma representatividade económica no Alentejo, Centro e Norte rondando os dois por cento do total da atividade do setor agrícola (GPP, 2020).

Segundo o Instituto de Financiamento da Agricultura e Pescas, I.P. – (IFAP), em Portugal estavam registados, no ano de 2020, cerca de 2,2 milhões de ovinos, 1,8 milhões de bovinos e 295 mil caprinos (Figura 1), sendo os primeiros a espécie predominante de ruminante.

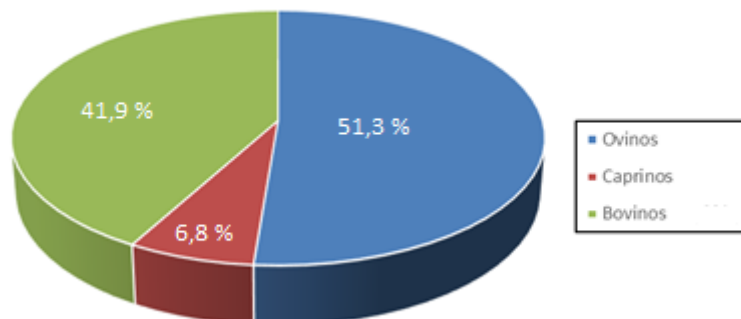


Figura 1 – Representatividade do efetivo bovino, caprino e ovino em Portugal registado em 2019 (Fonte: IFAP, 2020)

Segundo a localização geográfica, existem diferenças quanto ao tipo de exploração. Em Portugal reconhecem-se três tipos: o sistema extensivo, predominante nas explorações situadas no Alentejo, o sistema de pastoreio tradicional predominante no Norte, Centro e Algarve, e as explorações intensivas que se encontram geralmente ligadas à produção de leite (Rocha e Silva et al., 2018).

O número de explorações e número médio de cabeças por exploração do último Recenseamento Agrícola (RA), realizado em 2019, evidencia a existência de uma grande dispersão geográfica dos efetivos ovinos. Estão registadas cerca de 43 mil explorações de ovinos que

incluem mais de 2,2 milhões de cabeças (Tabela 1; INE, 2020). O maior número de explorações registadas encontra-se na região de Entre Douro e Minho (cerca de 21%), da Beira Litoral (quase 21%) e do Alentejo (cerca de 19%). No entanto, quando comparamos as explorações em cada uma destas regiões, verifica-se que é o Alentejo a região que apresenta um maior número de animais (ligeiramente acima dos 50% do efetivo nacional), apresentando um número médio de 142 animais por exploração (Tabela 1; INE, 2020), com o objetivo de produção de carne. A região que apresenta o segundo maior número de ovinos em Portugal é a Beira Interior (quase 16%), que apresenta um número médio de 74 animais por exploração (Tabela 1; INE, 2020). A terceira área de concentração de ovinos localiza-se em Trás-os-Montes (quase 11% dos ovinos nacionais), com uma média de 60 animais por exploração (Tabela 1; INE 2020).

Segundo dados de 2018, a produção de carne de ovino é assegurada pelo Alentejo (68%), pela região Centro (19%) e em menor participação, pela região Norte (9%) (GPP, 2020). Segundo os dados do INE (INE, 2020), o efetivo com aptidão leiteira ronda as 270 mil cabeças, e está concentrado maioritariamente na Beira Interior (55,9%), sendo a sua produção destinada sobretudo ao fabrico de produtos transformados (INE, 2018).

Tabela 1 – Distribuição por região do número de explorações, ovinos e média de ovinos por exploração (Fonte: INE - Instituto Nacional de Estatística, 2020)

Região	Explorações		Ovinos		Média ovinos por Exploração
	N	%	N	%	
Entre Douro e Minho	9096	21,32	90073	4,13	10
Trás os Montes	3918	9,18	236382	10,83	60
Beira Litoral	8927	20,92	118308	5,42	13
Beira Interior	4712	11,04	346343	15,87	74
Ribatejo	5743	13,46	200815	9,20	35
Alentejo	8053	18,87	1139565	52,23	142
Algarve	700	1,64	40267	1,85	58
Madeira	908	2,13	4583	0,21	5
Açores	610	1,43	5680	0,26	9
Total	42667	100	2182016	100	51

Para alcançar viabilidade económica, qualquer empresa necessita de uma correta gestão de gastos e receitas, sempre com a finalidade de que as receitas sejam superiores aos gastos. No caso das explorações de ovinos, as principais fontes de receita resultam da venda de borregos, leite, lã, reprodutores e de animais de refugo. As receitas das explorações estão intimamente dependentes do desempenho reprodutivo de machos e fêmeas, pelo que uma das

suas prioridades é tentar melhorar o desempenho reprodutivo do efetivo com a finalidade de obter melhores resultados económicos (Romão, 2013; Sacoto et al., 2018). Fundamentalmente, a rentabilidade económica vai depender da eficácia reprodutiva do efetivo que por sua vez é afetada pelo indivíduo, genética, condições ambientais, alimentação e pelas relações sociais (Sacoto et al., 2018).

Apesar de haver outros fatores que influenciam o desempenho reprodutivo geral, este trabalho centra-se na componente masculina do efetivo. Ao macho é, muitas vezes, atribuído um papel secundário pelos proprietários. No entanto, analisando isoladamente a importância do macho, podemos afirmar que a sua capacidade reprodutiva assume um papel de extrema importância que pode ser justificado por várias razões:

- Um carneiro de elevada fertilidade pode aumentar tanto o número de fêmeas beneficiadas, como aumentar o número de crias nascidas por ovelha e reduzir o período de reprodução (Ott & Memon, 1980); no entanto, é importante analisar a relação macho:fêmea utilizado nos efetivos, sobretudo nos que utilizam a monta natural como modalidade de beneficiação. Segundo Menzies (2006) em situações de campo com recurso à monta natural podem ser utilizadas relações macho:fêmea de 1:30 ou 1:40. No caso de Portugal não existe muita informação disponível, existindo alguns documentos que relatam esse rácio, como Silva (2019) que refere uma relação macho:fêmea de 1:37 em extensivo em explorações do concelho de Castro Verde.
- Há estudos que indicam que o genótipo do carneiro tem influência na qualidade (melhor qualidade de carcaça, melhor qualidade da lã produzida) e na quantidade (maior número de crias) de produto por ovelha exposta, sendo o carneiro apontado como responsável por 87,5% da genética do rebanho (Kimberling & Parsons, 2006)
- O carneiro é considerado “metade do rebanho” (Tibary et al., 2018), e por isso mesmo responsável por cinquenta por cento do potencial genético e reprodutivo do efetivo, pelo que a capacidade reprodutiva do macho assume um papel crucial no desempenho reprodutivo da exploração, e é o parâmetro com maior peso na hora de avaliar a rentabilidade do efetivo (Pardos et al., 2008);
- A aquisição de reprodutores supõe um custo e um investimento para os proprietários (Griffiths & Ridler, 2015; Mozo et al., 2015). Se o animal adquirido for pouco eficiente a nível reprodutivo, ele representa uma perda económica;
- A maioria das explorações de ovinos utiliza o regime extensivo, recorrendo à monta natural, com uma inovação em termos de tecnologia reprodutiva praticamente residual (Freitas de Salla et al., 2016); desta forma, a eficiência reprodutiva do efetivo depende quase em exclusivo da fertilidade do carneiro e da ovelha (Lupton, 2008). Uma vez que um carneiro beneficia várias fêmeas é de extrema importância para o produtor avaliar o seu potencial reprodutivo.

Uma vez que o macho assume um papel crucial na respetiva descendência, e que o seu desempenho contribui economicamente para a rentabilidade da exploração, é de extrema importância estimar o seu potencial reprodutivo através da realização de um exame andrológico (“Breeding Soundness Evaluation” ou *BSE*). Em Inglaterra, Griffiths & Ridler (2015) estimam que 3,5 a 10% dos carneiros utilizados não sejam reprodutores adequados, recomendando a realização de exame andrológico em ato de compra e antes do início de cada época reprodutiva. Também Mozo et al. (2015) encontraram uma proporção de 16,7% de carneiros de raça Rasa Aragonesa que classificaram como inaptos em 35 rebanhos avaliados no Nordeste Espanhol.

2. Exame andrológico em ovinos

O exame andrológico permite prever a capacidade do carneiro em beneficiar um certo número de ovelhas durante o período reprodutivo (Griffiths & Ridler, 2015; Tibary et al., 2018), fornecendo informações úteis que ajudam a maximizar o desempenho reprodutivo do efetivo ovino (Griffiths & Ridler, 2015). É um exame que deve ser realizado por rotina, não só em ato de compra e venda de reprodutores, mas ainda durante a pré-época reprodutiva (Ott & Memon, 1980), e sempre que exista um mau desempenho reprodutivo no grupo ou uma suspeita de infertilidade por parte do macho (Griffiths & Ridler, 2015). Nestas situações, o exame andrológico é útil na identificação dos animais férteis, com infertilidade temporária ou permanente, e estéreis (Freitas de Salla et al., 2016).

Ainda assim, o exame andrológico não é um teste de fertilidade nem mede a libido dos animais. Foi demonstrado que alguns carneiros, apesar de não cumprirem os critérios associados à categorização como apto para reprodução neste exame, podem beneficiar um determinado número de fêmeas mediante condições específicas (Ott & Memon, 1980; Gouletsou & Fthenakis, 2010; Rowe, 2010; Van Metre et al., 2012).

Considerando-se que o processo de espermatogénese no carneiro dura cerca de 50 dias, é aconselhável realizar o exame andrológico pelo menos entre seis a oito semanas antes do início da época reprodutiva, permitindo o tempo necessário para a resolução de eventuais problemas detetados ou, em certos casos, a aquisição de um novo reprodutor por parte do produtor (Ridler et al., 2012).

2.1. Etapas do exame andrológico

O exame andrológico, realizado pelo Médico Veterinário, assenta em três pilares fundamentais: o exame clínico (exame físico geral e exame da genitália), a avaliação da libido e a recolha e avaliação de sémen (LeaMaster et al., 2007). As principais etapas do exame andrológico encontram-se esquematizadas na Figura 2.

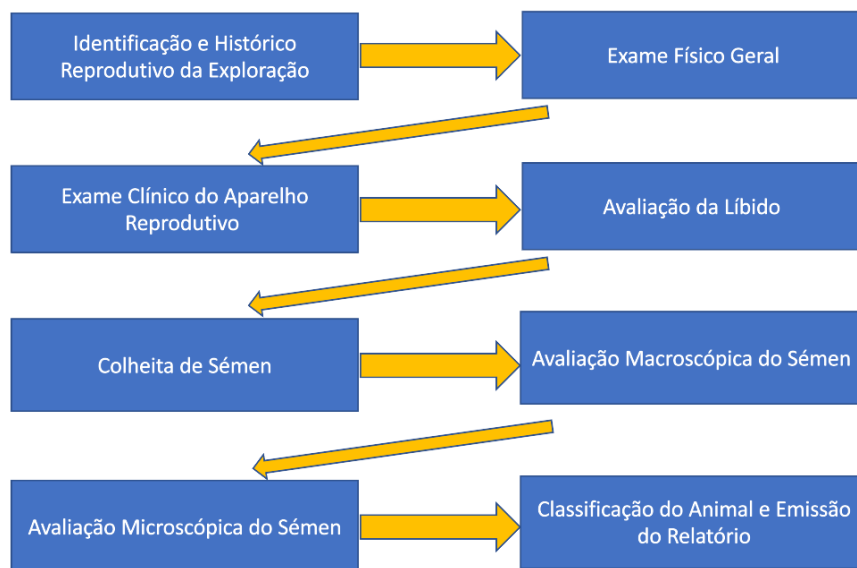


Figura 2 – Esquema geral das etapas do exame andrológico

2.1.1. Identificação e anamnese reprodutiva do carneiro

O primeiro passo na realização do exame andrológico é a identificação do carneiro e a recolha da informação retrospectiva do seu desempenho reprodutivo. Deverão ser considerados os seguintes dados: identificação do animal (marca auricular e identificação eletrónica), raça, manejo alimentar, plano profilático com atenção às doenças de declaração obrigatória (DGAV, 2021), idade e data do exame, sendo estes dois últimos de extrema importância. Também deverá ser anotada informação relativa à marca de exploração (nome e proprietário, local e contacto) (Jaume, 2006; Souza & Ferrugem, 2019).

Apesar de haver muitos dados de registo fiáveis, não há grande uso dos mesmos para efeitos de gestão reprodutiva dos efetivos (Romão, 2013), o que deixa o Médico Veterinário na maioria das vezes sem acesso ao historial reprodutivo individual do animal. Estas informações são de extrema importância, e suportam a interpretação dos resultados obtidos permitindo ao Médico Veterinário a tomada de decisão relativamente a manter ou refugar o macho em questão (Romão & Bettencourt, 2009). Ainda assim, será importante recolher informação sobre a duração da época de cobrição realizada por um macho em particular, quantos machos e de que idades estavam no grupo de fêmeas beneficiadas pelo macho em questão, qual a taxa de gestação ou de fertilidade do grupo, ou a taxa de partos para esse grupo. Quando se trata de machos em testagem, será desejável saber a idade e o peso com que as filhas de determinado carneiro alcançam o primeiro estro (Simplicio et al., 2001). No entanto, na prática de campo, geralmente não é fácil o acesso a essa informação já que a maioria das explorações utilizam vários machos num grupo de fêmeas, não havendo controlo da descendência de cada um dos machos. No caso

dos centros de reprodução é mais fácil o acesso a essa informação uma vez que a reprodução é controlada garantindo o acesso à informação da descendência de determinado macho (muitas vezes por realização de testes de paternidade por análise de ADN), sendo assim mais fácil avaliar o seu potencial reprodutivo.

2.1.2. Exame clínico geral

O exame clínico em ovinos deve ser realizado de forma sistemática anotando-se todas as informações que possam ser relevantes na hora de emitir opinião sobre o estado de saúde do animal. Os ovinos, como animais com comportamento gregário devem observados primeiro à distância e posteriormente de forma individual.

2.1.2.1. Exame à distância

Como referido anteriormente, os ovinos são animais gregários, daí que a sua observação no rebanho possa fornecer, antes da avaliação individual, informação bastante relevante. O stress gerado pela manipulação do animal pode afetar as suas constantes vitais (frequência cardíaca e respiratória) e o facto do animal estar contido poderá mascarar problemas de marcha ou de postura. A observação do carneiro no rebanho pode ainda contribuir para avaliar os índices de bem-estar animal (Lovatt, 2010). As observações mais importantes no exame à distância estão sumariadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Observações mais relevantes no exame à distância (adaptado de Lovatt, 2010)

Comportamento	Atitude (alerta, prostrado); Há diferenças em relação aos outros do grupo?
Postura	Simetria e posição de cabeça, corpo e membros; Posição de decúbito;
Marcha	Posição, ataxia, presença ou ausência de claudicação;
Alimentação	Tipo de alimento; Capacidade de apreensão, mastigação e deglutição;
Defecação	Presença ou ausência; Tipo, volume, consistência das fezes;
Respiração	Tipo e ritmo; Presença de tosse, espirros, corrimento nasal, Posição ortopneica;
Lã / Pele	Existência de perda de lã (generalizada ou localizada);
Cabeça	Olhos e corrimento ocular; Posição da boca; Posição das orelhas;

2.1.2.2. Exame clínico individual

Para realizar o exame clínico individual, a contenção do carneiro facilita a realização do exame. O exame deverá ser realizado de forma sistemática de modo a não deixar “esquecida”

qualquer observação. As observações efetuadas estão sumariadas na Tabela 3. No entanto, há dois parâmetros que serão abordados individualmente pela relevância que representam na capacidade reprodutiva do carneiro, nomeadamente a pontuação da condição corporal (CC) e a avaliação de aprumos e úngulas, sobretudo em animais utilizados em monta natural.

No exame físico do animal, é importante não descuidar a observação da boca e dentes, pois problemas bocais e dentários podem interferir com a capacidade de os animais se alimentarem. Regra geral, animais com afeções graves da cavidade bucal são também animais com condição corporal baixa, o que se reflete negativamente na fertilidade (Mozo et al., 2015). Por isso também é habitual encontrar perímetros escrotais mais baixos nestes animais.

Tabela 3 – Observações mais relevantes no exame físico individual (adaptado de Lovatt, 2010)

Geral	Pontuação da condição corporal; Pulso (forte, medio, fraco); Frequência respiratória; Temperatura retal;
Mucosas	Avaliar mucosa conjuntiva, oral ou vulvar (rosadas, cianóticas, hiperémicas); Avaliar tempo de repleção capilar (ideal < 2 segundos);
Linfonodos	Palpação dos linfonodos submandibulares, parotídeo, retrofaríngeo, pré-escapular, pré-crural (simetria ou aumento);
Lã / pele	Observar a integridade da pele, Procurar zonas de alopecia, Detetar a presença ou ausência de parasitas, feridas, corte, abscessos;
Cabeça	Avaliar simetria, tumefações, edema, presença de lesões, sinais de parasitismo. Nos olhos observar simetria, corrimentos, integridade do globo ocular;
Boca	Observar a integridade da arcada dentária e o grau de oclusão; Detetar o odor e a presença de úlceras, feridas e escoriações; Estimar a idade do animal se não houver dados disponíveis; Avaliar o tónus mandibular;
Pescoço	Inspeção de faringe e laringe por palpação. Detetar a presença de tumefações, ou lesões. Reflexo da deglutição;
Tórax	Auscultação cardíaca entre o 4º e 5º espaço intercostal. Avaliar os sons respiratórios;
Abdómen	Avaliar o tamanho, forma, consistência do abdómen. Auscultação do rúmen sobre a fossa paralombar esquerda (1-2 contração primária e 1 secundária por minuto). Auscultação de abomaso e intestinos para avaliar motilidade.

A avaliação da existência de eventuais lesões oculares não deve ser descuidada, e a existência de lesões envolvendo o globo ocular deve ser devidamente registado, já que pode interferir com a capacidade do macho para detetar fêmeas em cio (Hansen, 2006; Renato et al., 2014). O exame das estruturas oculares é complementado com a observação da marcha e com a avaliação dos reflexos neurológicos.

2.1.2.3. Pontuação da condição corporal em ovinos

Quando se pretende avaliar o potencial reprodutivo do carneiro é importante aferir a sua condição corporal, ou seja, fazer uma estimativa das reservas corporais em músculo e gordura. Apesar do peso corporal ser a medida mais objetiva, este nem sempre é o melhor indicador, uma vez que é influenciado pelo tamanho (Souza & Ferrugem, 2019) e estatura do animal, bem como pela variação do peso dos compartimentos gástricos, que pode oscilar entre 11 e 23% do peso (Caldeira, 1992).

Para minimizar as oscilações causadas pela medição do peso vivo, foi criado um método de avaliação da condição corporal que tem sofrido algumas alterações. Atualmente a escala mais utilizada é a descrita por Thompson & Meyer (1994) constituída por cinco pontos (1 a 5) resultantes da palpação das apófises espinhosas e transversas da zona lombar, bem como a cobertura por tecido muscular e adiposo dessas estruturas (Figura 3). Esta escala muitas vezes é decomposta em frações de 0,5 ou de 0,25. A descrição de cada nível de pontuação encontra-se na Tabela 4.



Figura 3 – Pontuação da CC em ovinos (Fotografia do Autor)

A utilização em reprodução de animais gordos ou excessivamente magros deve ser evitada (Ott & Memon, 1980), uma vez que machos com estas condições extremas apresentam sêmen de qualidade inferior (Kenyon et al., 2014). Segundo o Kimberling & Pearson (2006) a condição corporal em machos reprodutores deve estar entre 2,5 e 3,5. Segundo Jefferies (1961), os carneiros devem apresentar condição corporal 4,0 no início da época reprodutiva e condição corporal 3,0 fora do período reprodutivo.

Tabela 4 – Pontuação da CC para ovinos (adaptado de Thompson & Meyer, 1994)

Pontuação	Representação esquemática	Descrição
CC 1 Emaciado	<p>Apófises espinhosas proeminentes e afiladas Sem cobertura adiposa Apófises transversas afiladas Dedos passam ventralmente com facilidade</p>	Apófises espinhosas afiladas e proeminentes; músculos superficiais da zona lombar sem cobertura adiposa; apófises transversas afiladas, conseguindo-se sentir o seu limite e passar os dedos ventralmente.
CC 2 Magro	<p>Apófises espinhosas proeminentes mas macias Pequena camada de gordura Músculo pouco desenvolvido Apófises transversas arredondadas Dedos passam ventralmente exercendo pouca pressão</p>	Apófises espinhosas afiladas e proeminentes. Músculos superficiais da zona lombar com uma pequena cobertura de gordura, mas o músculo está cheio; Apófises transversas suaves e ligeiramente arredondadas. É possível passar os dedos sob as extremidades das apófises espinhosas com um pouco de pressão.
CC 3 Médio	<p>Apófises espinhosas suaves e arredondadas Moderada cobertura adiposa Músculos desenvolvidos Processos transversos suaves e arredondados Dedos passam ventralmente exercendo pressão</p>	Apófises espinhosas são suaves e arredondadas e apenas com pressão se podem sentir os processos individuais; as apófises transversas lisas e bem cobertas, sendo necessária pressão para sentir onde terminam; os músculos lombares estão cheios e com alguma cobertura de gordura.
CC 4 Gordo	<p>Apófises espinhosas palpáveis como uma linha Camada de adiposa espessa Músculo desenvolvido Apófises transversas não são palpáveis</p>	Apófises espinhosas podem ser detetadas por pressão; as apófises transversas não podem ser palpadas; os músculos lombares estão cheios e cobertos por uma grossa camada de gordura.
CC 5 Obeso	<p>Apófises espinhosas não detetáveis; cobertas de gordura Camada de gordura muito espessa Músculo muito desenvolvido Apófises transversas não são palpáveis</p>	As apófises espinhosas não podem ser detetadas; há uma depressão entre a gordura e o local onde a coluna vertebral seria normalmente sentida; as apófises transversas não podem ser detetadas; os músculos lombares estão cheios e com uma cobertura de gordura muito grossa;

2.1.2.4. Avaliação de aprumos e úngulas

A observação da conformação dos membros, a integridade das articulações e estado das úngulas são de extrema importância no macho reprodutor, em particular em machos utilizados em monta natural e em sistemas de exploração em extensivo (Souza & Ferrugem, 2019).

A conformação do membro pélvico tem bastante relevância, pois é este que suporta a maior parte do peso corporal quando da monta natural. Devem ser observadas possíveis lesões, a existência de atrofia muscular ou paralisia, avaliar o tônus muscular e propriocepção. Uma incorreta conformação do membro poderá estar associada ao desenvolvimento de artrites e outras doenças articulares (Sargison, 2008, citado por Griffiths & Ridler, 2015) que comprometem o desempenho do macho enquanto reprodutor.

As úngulas devem ser observadas para detecção de eventual crescimento excessivo (sugestivo de desigual distribuição do peso), ou para detecção de manifestações de doenças infecciosas como sejam a dermatite interdigital, a peeira e a pododermatite contagiosa, que são as principais causas de claudicação em pequenos ruminantes (Mendon et al., 2012). Para além de contribuírem para uma diminuição da condição corporal, pois o animal apresenta dificuldade de locomoção e busca de alimento, a monta das fêmeas também fica comprometida (Oliveira, 1999). Por isso, é importante detetar estes problemas atempadamente, para poder efetuar um tratamento e emitir um prognóstico para a próxima época reprodutiva (Griffiths & Ridler, 2015).

2.1.3. Exame das estruturas genitais do carneiro

2.1.3.1. Exame clínico

O exame clínico do aparelho reprodutor é realizado de forma sistemática, completa e detalhada de forma a identificar situações que possam comprometer a fertilidade do carneiro.

2.1.3.1.1. Prepúcio, pénis e glande

A avaliação do prepúcio inclui a observação da pele exterior, bem como da mucosa interna. A existência de aderências, abscessos, dermatites, corrimento purulento ou sanguinolento, míases ou úlceras (postite ulcerativa) são condições que podem originar baixo desempenho reprodutivo (Kimberling & Parsons, 2006; Renato et al., 2014; Mozo et al., 2015;). É comum em carneiros a presença de traumatismos associados à tosquia (Souza & Ferrugem, 2019).

O pénis deve ser exteriorizado para ser examinado. Uma vez que a exteriorização é geralmente obtida quando da colheita de sêmen com recurso a eletroejaculação, pode ser observado nessa altura. Caso se utilize outro método, o pénis deverá ser exteriorizado manualmente (Ott & Memon, 1980).

Ao exteriorizar o pénis devem ser observados a glande e o processo uretral. Durante a exteriorização deve ser dada atenção à passagem da glande pelo orifício prepucial, pois em situações de fimose haverá dificuldade na exteriorização. Na glande e no processo uretral devem

ser descartadas alterações como dermatites, inflamação (balanite ou decorrente de obstrução uretral por cálculos), úlceras ou necrose (Kimberling & Parsons, 2006; Mozo et al., 2015).

2.1.3.1.2. Escroto, testículos e epidídimo

O escroto, testículos, funículo espermático e epidídimos são avaliados por inspeção visual e por palpação, com o carneiro em estação e com boa contenção. A epiderme escrotal pode ter um aspeto mais ou menos enrugado e, dependendo da raça, pode estar coberto de uma densidade variável de pelos ou lã (Edmondson et al., 2012). No escroto deve ser avaliada a presença de dermatites, edema, lacerações, míases, traumatismos e úlceras.

Os testículos do carneiro são órgãos grandes - podem alcançar até 550 gramas de peso em animais adultos (Senger, 2005), de forma elipsoide e consistência firme; encontram-se alojados nas bolsas escrotais, e devem estar móveis e simétricos à palpação, (Dyce, 2004; Campos & Bezerra, 2006; Griffiths & Ridler, 2015). Os testículos devem ser avaliados no que respeita à simetria, forma, tamanho, localização e consistência. A presença de atrofia testicular (uni ou bilateral), edema, hipoplasia, temperatura elevada, ou uma consistência flácida são motivos de fraco desempenho reprodutivo (Kimberling & Parsons, 2006; Renato et al., 2014; Mozo et al., 2015).

O monorquidismo (desenvolvimento de apenas um testículo no animal) ou criptorquidismo (retenção de um ou ambos os testículos em posição não escrotal) não são raras em carneiros. No caso do criptorquidismo, apesar da existência de um testículo intra-abdominal, o animal poderá ser fértil; no entanto o seu uso como reprodutor não está aconselhado (Ott & Memon, 1980).

No carneiro, a cabeça e cauda do epidídimo são estruturas facilmente palpáveis, mas o corpo do epidídimo, pela sua posição medial, é de difícil palpação. Fisiologicamente o epidídimo deve ser firme, macio e elástico à palpação (Griffiths & Ridler, 2015). A presença de tumefações, nódulos e textura esponjosa são sinónimo de lesão, sendo as causas mais comuns para estas alterações a inflamação (epididimite) e a fibrose (Kimberling & Parsons, 2006). O agente mais comum de epididimite em reprodutores adultos é a *Brucella ovis*, deixando os animais permanentemente incapacitados para a reprodução (Ridler et al., 2012). No caso de animais jovens e reprodutivamente inativos, os agentes mais comuns de epididimite são o *Histophilus* spp e *Actinobacillus* spp (Kimberling & Parsons, 2006). A existência de uma alteração inflamatória nos testículos deverá ser comparada com os dados da profilaxia sanitária implementada na exploração e com o registo de eventuais falhas reprodutivas nas fêmeas do grupo em que o macho esteve por último.

Ao nível do funículo espermático deve ser investigado um eventual aumento dos linfonodos inguinais, a existência de hérnia inguinal ou de varicocele, a existência de inflamação, ou a presença de tumefação ou abscessos. As alterações referidas podem ser motivo de insucesso reprodutivo (Mozo et al., 2015; Renato et al., 2014; Souza & Ferrugem, 2019).

2.1.3.2. Determinação do perímetro escrotal (PE)

Depois de palpado o escroto e seu conteúdo, deve-se fazer a medição das dimensões testiculares. Existem várias maneiras de determinar o tamanho testicular, nomeadamente a estimativa do diâmetro testicular a partir da largura e comprimento individual de cada testículo, ou pela medição do perímetro ou circunferência escrotal, sendo esta a forma utilizada com maior frequência (Jaume, 2006). Esta é uma medição simples, realizada na zona de maior diâmetro do escroto (Moraes & Souza, 2016). Para isso, tracionam-se ventralmente os testículos no escroto, medindo-se o perímetro na zona de maior dimensão, com auxílio de uma fita métrica (Edmondson et al., 2012), como exemplificado na Figura 4.



Figura 4 – Determinação do perímetro escrotal em carneiro, com recurso a fita métrica (Fotografia do autor)

O valor do perímetro escrotal apresenta uma correlação alta ($r > 0,90$) com o peso testicular e, por conseguinte, com a produção de sémen (Foster et al., 1989; Jaume, 2006). O mesmo valor apresenta alta repetibilidade e uma heritabilidade na ordem de 35%, além de que apresenta correlação positiva com a idade à qual a descendência feminina atinge a puberdade (e por isso permite uma estimativa da precocidade sexual), a taxa de ovulação, e consequentemente com o número de crias nascidas (Kimberling & Parsons, 2006). Deste modo, filhas de machos que apresentem um perímetro testicular maior tendem a ser mais precoces a atingir a puberdade, a ovular mais oócitos durante o estro e a favorecer a incidência de partos múltiplos (Söderquist & Hultén, 2006).

Os carneiros atingem a puberdade por volta dos 7 meses de idade, se bem que esse intervalo possa variar entre os 6 e os 8 meses, podendo, no entanto, a idade à puberdade ser modulada pela estação do nascimento (Senger, 2005). Existem alguns estudos que relatam a seleção de futuros carneiros com base no PE aos 170 dias, altura em que se consegue prever o valor da PE e produção de espermatozoides após a puberdade (Ruttle & Southward, 1988; Yarney & Sanford, 1993; Zamiri et al., 2010; Edmondson et al., 2012).

A atribuição de limiares às medidas do PE em carneiros não está ainda tão bem definida como no touro, havendo vários valores aceites na hora de classificar o potencial reprodutivo do carneiro. Na Tabela 5 apresentam-se os valores recomendados pela “*The Western Regional Coordination Committee on Ram Epididymitis and Fertility*” (a aplicar de forma transversal a todas as raças) e por Yarney & Sanford (1993) resultantes de um estudo realizado em carneiros Suffolk. Ambas classificações relacionam um intervalo de idades com o valor de PE, classificando os animais em questionáveis, satisfatórios e excelentes.

Tabela 5 – Limiares estabelecidos para o perímetro escrotal em carneiros em função das categorias do exame andrológico

Classificação	Idade	Questionável	Satisfatório	Excelente
“ <i>The Western Regional Coordination Committee on Ram Epididymitis and Fertility</i> ” (Kimberling & Parsons, 2006)	6 a 12 meses	< 30 cm	30 - 33 cm	> 33cm
	12 a 18 meses	< 33 cm	33 - 35 cm	> 35 cm
Yarney & Sanford (1993) *	8 e 14 meses	< 28 cm	28 - 36 cm	> 36 cm
	mais de 14 meses	< 32 cm	32 - 40 cm	> 40 cm

* os valores obtidos são a média de três medidas e podem ser 2-3 cm menores em contra-estação

O valor do PE é função da raça, idade, época do ano e da condição corporal, pelo que se deve atender a estes fatores aquando da realização do exame andrológico.

Alguns estudos relacionaram o valor do PE com a raça. Mert et al. (2009), num estudo envolvendo as raças Norduz, Karakas, e Île-de-France×Akkaraman, observou diferenças no PE das diferentes raças, com o Île-de-France×Akkaramano a apresentar o PE de maior valor (35,6 cm) e a Norduz o menor valor (33,08 cm). Outro estudo similar foi realizado em Merino Australiano, Corriedale, Poll Dorset, Suffolk e Texel, confirmando a existência de diferenças no PE em função da raça; neste estudo, a raça Poll Dorset apresentou o valor maior (36,62 cm) e o Merino Australiano o valor menor (31,33 cm), tendo os autores justificado esta diferença de valores com fatores de ordem genética (Renato et al, 2014). O PE reportado para as raças nacionais Bordaleira de Entre o Douro e Minho e Churra do Minho, sendo raças de pequeno porte, encontra-se abaixo do recomendado internacionalmente para animais com mais de 12 meses (Tabela 5), sendo de 28,5 cm no caso dos machos de raça Bordaleira de Entre o Douro e Minho e de 24,7 cm para os carneiros Churra do Minho (Bettencout et al., 2018a, Bettencourt et al. 2018b). Torna-se portanto essencial conhecer o intervalo de valores de referência de PE em cada raça para ser possível a comparação.

O PE pode também ser afetado pela estação do ano, refletindo a sazonalidade reprodutiva do carneiro. A sazonalidade é mediada pela ação da melatonina secretada pela epífise em resposta à diminuição do número de horas de luz diárias (Edmondson et al., 2012; Pool et al., 2020). Por norma, o valor de PE é maior de agosto a novembro (Burfening & Rossi, 1992; Mert et al., 2009; Zamiri et al., 2010). Assim, são esperadas diminuições entre 0,5 e 1,5 cm no valor do PE quando os reprodutores são testados fora época reprodutiva normal (por exemplo, entre os meses de fevereiro a abril), ou quando os animais estão sujeitos a atividade sexual muito intensa (Edmondson et al., 2012).

A condição corporal pode afetar o PE. Diversos estudos, realizados nas raças Naemi, Awassi e Santa Inês, mostram existir uma correlação positiva entre estes dois parâmetros (Alkawmani, 2019; Salhab et al., 2001; Tamires et al., 2017).

Pelos motivos identificados acima, a classificação de animais baseada apenas no PE, sem atender a possíveis fatores de variação, é controversa, pelo que esta informação deverá ser cruzada com a obtida no espermograma para classificar o animal segundo a sua aptidão reprodutiva (Jaume, 2006). Em alternativa, deveria recorrer-se sempre que possível, a tabelas com valores apropriados para cada raça. Contudo, ainda não existem dados universais de PE disponíveis.

2.1.4. Avaliação da libido

Nos sistemas de produção que recorrem à monta natural, a interação entre macho e fêmea que conduz à cópula está dependente da capacidade do carneiro em detetar a presença de uma fêmea em cio e de exibir os comportamentos de corte e monta típicos da espécie (Pacheco, 2010).

A avaliação da libido é um componente importante do exame andrológico, mas nem sempre é possível realizá-lo e por isso é frequentemente “posto de parte” pois requer algum tempo e o recurso a fêmeas em cio ou contidas, e por isso é frequentemente negligenciado. Carneiros com comportamento sexual inadequado deverão ser retirados do rebanho, uma vez que constituem uma despesa sem retorno para o proprietário (Kimberling & Parsons, 2006).

A seleção de machos com um comportamento sexual adequado, para além das outras características (qualidade de sêmen, avaliação clínica e das estruturas reprodutivas), é um instrumento importante que provavelmente se traduzirá num maior número de ovelhas beneficiadas num espaço de tempo curto (Pacheco, 2010).

A avaliação do comportamento sexual é realizada através dos testes de libido e de capacidade de serviço, que avaliam a apetência dos carneiros para a monta. Segundo Chenoweth (1981), podemos definir libido como o desejo sexual, com realização da cópula, uma característica que só é manifestada por animais pós-púberes. A capacidade de serviço contabiliza o número de serviços, ou cópulas, realizadas por um reprodutor num determinado período de tempo (Blockey y Wilkins, 1984).

Existem vários métodos para determinar a capacidade de serviço em carneiros (Ibarra et al., 1999), e podem ser avaliados de forma individual ou coletiva. Perkins et al. (1992) propôs um teste de avaliação da capacidade de serviço individual para carneiros, onde junta um carneiro com três ovelhas em estro num espaço livre realizando três testes de 30 minutos. Se o carneiro conseguir mais de seis ejaculações é considerado com desempenho sexual elevado; se o número de ejaculações for inferior a três é considerado um desempenho sexual baixo. Stellflug & Berardinelli (2002) propuseram para carneiros um conjunto de seis testes com duração de 30 minutos. É contabilizado o número de ejaculações nestes seis testes, sendo depois calculada a média para cada carneiro. Uma pontuação de pelo menos três ejaculações coloca os carneiros na posição de bom desempenho sexual, ao passo que uma pontuação inferior a dois classifica os carneiros em baixo desempenho sexual. Blockey e Wilkins (1984) propõem a avaliação do comportamento sexual de quatro carneiros com quatro ovelhas em anestro durante um período de 40 minutos, medindo o número de serviços e os efeitos sociais entre machos. O facto de as fêmeas estarem contidas, mesmo não estando em cio, é estímulo suficiente para desencadear a monta, em particular em machos experientes. Já Stellflug et al (2008) propõem um teste com duração de 30 minutos, com três carneiros e nove ovelhas, para manter a proporção carneiro:ovelha de um:três; nesta prova, carneiros com a pontuação zero são eliminados.

Nos casos em que a colheita de sémen é realizada com vagina artificial em presença de fêmea em cio, a avaliação da libido pode ser medida no momento da recolha (Pacheco, 2010). Os machos são classificados numa escala de 1 a 5, onde 1 representa a situação em que a monta ocorre em quatro a cinco minutos, e 5 indica que esta ocorre antes de passado um minuto (Souza et al., 2007).

Cerca de 10% dos carneiros submetidos a exame andrológico não demonstra libido, devendo por isso ser afastados da reprodução (Kimberling & Parsons, 2006). No entanto, a análise das respostas nestes testes deve ser feita com ponderação pois não só a forma como decorrem estes testes traz stresse para o macho, mas também porque o comportamento reprodutivo pode ser modulado por vários fatores endógenos (como a idade ou a raça) e exógenos (estação do ano e sazonalidade, efeitos sociais) (Pacheco, 2010).

2.1.5. Recolha de sémen em carneiros

Para realizar a recolha de sémen em carneiros, estão descritos três métodos: pela colheita intravaginal, através de vagina artificial (VA), ou por eletroejaculação. Qualquer que seja o método utilizado na recolha de sémen, este não deve permitir perdas nem danificar os espermatozoides, devendo evitar a contaminação do sémen (Marian et al., 2012) e deve ser realizado por alguém com treino na técnica (Mot et al., 2014).

A colheita intravaginal consiste na recolha de uma pequena quantidade de sémen da vagina cranial, após ter ocorrido a monta natural (Barth, 2006). Este método é limitado e

basicamente é utilizado para concluir se os espermatozoides estão vivos ou mortos, não tendo capacidade para avaliar outros critérios (Mot et al., 2014).

O recurso a VA é considerado o método de eleição; no entanto requer uma ovelha em estro e o treino do carneiro para realização deste tipo de colheita. A utilização deste método é quase restringida a centros de reprodução onde se realize inseminação artificial (IA) não sendo utilizada em situações de recolha de sémen isolada (Barth, 2006; Noakes et al., 2009).

A eletroejaculação é o método usado quando as recolhas se efetuam a campo (Noakes et al., 2009; Mot et al., 2014; Tibary et al., 2018), ou se o macho apresenta um problema que impossibilite o uso de VA. O eletroejaculador (Figura 5) possui uma sonda que é colocada no reto do animal; os impulsos elétricos estimulam as glândulas acessórias para que o carneiro ejacule (Kimberling & Parsons, 2006). É um método rápido que permite a recolha em vários animais num tempo relativamente curto (Renato et al., 2014).



Figura 5 – Eletroejaculador (Fotografia do autor)

2.1.6. Análise e avaliação de sémen

A avaliação do sémen, também designada de contrastação seminal ou espermograma, inclui a avaliação das características macroscópicas da amostra do ejaculado (ex., a cor, odor, consistência e volume) e das características microscópicas (concentração, motilidade e morfologia dos espermatozoides) do sémen.

Em situações excepcionais, pode incluir ainda outro tipo de testes, como os testes funcionais do espermatozoide (integridade da membrana, do acrossoma, e/ou das mitocôndrias; testes bioquímicos para averiguar a integridade das vias excretoras extra-testiculares; ou exames microbiológicos).

2.1.6.1. Cor, cheiro e consistência

O sémen de carneiro apresenta uma cor cremosa clara (Hafez & Hafez, 2000). No entanto, há situações em que se observam alterações como a presença de sangue (coloração avermelhada), pus, material estranho ou urina (coloração amarelada) (Hafez & Hafez, 2000, Noakes et al., 2009).

As alterações de cor alertam para a existência de afeções que podem comprometer a utilização do macho como reprodutor, podendo levar ao refugo do animal. A urina pode estar presente no ejaculado quando se utiliza a eletroejaculação como método de recolha de sémen (Hafez & Hafez, 2000).

2.1.6.2. Volume

O volume de ejaculado é medido diretamente no tubo de recolha (Jha et al., 2018). O volume de ejaculado é influenciado por vários fatores, tais como idade, condição corporal, treino do técnico e pela técnica e frequência da recolha. Em carneiros, o volume de ejaculado varia entre 0,5 e 2 ml (Evans & Maxwell, 1987; Hafez & Hafez, 2000; Paulenz et al., 2002) em animais adultos, ou 0,5 a 0,7 ml em animais jovens (Hafez & Hafez, 2000).

2.1.6.3. Concentração

A determinação da concentração da amostra de sémen, ou seja, o número de espermatozoides presentes num determinado volume, é uma importante característica física do sémen, indicando a eficiência dos tubos seminíferos na produção de espermatozoides (Souza & Ferrugem, 2019). O número total de espermatozoides na amostra, bem como a sua concentração, estão correlacionados com a taxa de gestação (Senger, 2005; Noakes et al., 2009). A sua quantificação pode ser realizada através de um hematocítmetro, de um colorímetro ou de um espectrofotómetro.

Na Tabela 6 seguinte apresentam-se alguns dos valores de referência para a concentração espermática no carneiro.

Tabela 6 – Valores de referência para concentração espermática no carneiro

Concentração ($\times 10^9$) spz / mL	Referência
1 - 10	Baril et al., 1993
3,5 - 6	Hafez & Hafez, 2000
2	Noakes et al., 2009

O hematocítmetro consiste numa câmara de microscópio aferida a um volume, que permite contar manualmente o número de espermatozoides. É um método manual que requer bastante tempo, no entanto apresenta uma precisão bastante elevada (Baril et al., 1993). Na Tabela 7 resumem-se os procedimentos para a determinação da concentração espermática com recurso a um hematocítmetro (WHO, 2021).

Tabela 7 – Procedimentos para determinação da concentração espermática com recurso a um hematocitómetro (adaptado de WHO, 2021)

1.	Preparar a diluição adequada ao sêmen a analisar [Pode usar-se uma pipeta de diluição para glóbulos brancos] [pode-se recorrer a um corante diluído em água destilada para melhorar a visualização dos espermatozoides, ou a formalina para os manter imóveis]
2.	Preparar o hematocitómetro* (ou câmara de contagem), colocando a lamela espessa
3.	Carregar as duas câmaras de contagem do hematocitómetro, lentamente (facilitando o enchimento por capilaridade e evitar a formação de bolhas) e deixar repousar na horizontal por 10 minutos, numa câmara húmida
4.	Contar os espermatozoides usando a grelha central das duas câmaras, numa ampliação de x200 ou x400 [Comparar as contagens para descartar discrepâncias]
5.	Calcular a concentração na área de contagem, e transpondo-a depois para a concentração da amostra, considerando o volume da câmara e o fator de diluição usado. Com base na concentração obtida, estimar o número total de espermatozoides no ejaculado

* Existem vários tipos de hematocítoímetros, sendo o mais conhecido o de Neubauer

Atualmente, o espectrofotómetro é método de eleição para determinar a concentração de espermatozoides. O princípio do seu funcionamento assenta no facto de a densidade ótica medida, utilizando um comprimento de onda de 550 nanómetros (Baril et al., 1993), corresponde a uma determinada densidade (ou concentração) celular. É um método rápido, no entanto menos preciso no caso de amostras contaminadas ou com outras células que não espermatozoides (Hafez & Hafez, 2000).

A concentração espermática pode ainda ser estimada pela análise macroscópica da aparência do ejaculado (Hafez & Hafez, 2000; Souza & Ferrugem, 2019; Tibary et al., 2018), apesar deste não ser um método rigoroso devido à subjetividade associada à avaliação (Chemineau et al., 1991). Esta classificação é similar à ilustrada na Tabela 8.

Tabela 8 – Relação entre aparência do ejaculado e concentração (adaptado de Hafez, 2000)

Escala	Aparência do ejaculado	Concentração ($\times 10^9$) spz / ml
0	Transparente (aquoso)	Insignificante
1	Turvo	0.3 – 1.0
2	Leitoso	1.0 – 2.5
3	Líquido cremoso	2.5 – 3.5
4	Cremoso	3.5 – 4.5
5	Cremoso espesso	4.5 – 6.0

É de salientar que nos exames andrológicos realizados em situação de campo, ou em situações em que a recolha de sémen se realiza por electroejaculação, não é usual determinar-se o valor da concentração espermática (Tibary et al., 2018).

2.1.6.4. Motilidade

A motilidade é outra das características avaliadas no sémen, e permite estimar a viabilidade e a qualidade do movimento exibido pelos espermatozoides (Hafez & Hafez, 2000; Pezzanite et al., 2010).

Para avaliar a motilidade do sémen pode recorrer-se a duas metodologias distintas. Uma metodologia clássica, que supõe uma avaliação subjetiva, utilizada frequentemente em condições de campo e outra, menos subjetiva, que utiliza dispositivos informáticos, denominados de “Computer-Assisted Sperm Analysis” (ou CASA), ou dispositivos similares, cuja automatização e elevado número de células avaliadas, permite uma análise mais objetiva (Bergstein et al., 2015; Tsakmakidis, 2010).

A avaliação mais tradicional da motilidade é realizada em duas etapas. Primeiro avalia-se a motilidade massal (MM) e depois a motilidade individual (MI). A MM é determinada ao microscópio, colocando uma gota de sémen fresco numa lâmina aquecida à temperatura de 37°C e utilizando uma baixa ampliação (x100) (Barbas et al., 2001; Barth, 2006; Noakes et al., 2009). Nesta avaliação é observado o movimento em massa dos espermatozoides na forma de onda (Noakes et al., 2009). Para quantificar a MM utiliza-se uma escala, subjetiva de 0 a 5 (Tabela 9) (Barbas et al., 2001; Tibary et al., 2018).

Tabela 9 – Descrição dos escalões da motilidade massal (adaptado de Tibary et al, 2018)

Escala	Descrição do movimento dos espermatozoides	Classificação da motilidade
0	Todos os espermatozoides estão imóveis	Morto
1	Observa-se pouco movimento dos espermatozoides, estando ativos cerca de 10 % Muito poucos espermatozoides mostram vitalidade.	Muito pobre
2	Não se observam ondas, mas observa-se espermatozoides individuais. Entre 20-40% dos espermatozoides são ativos	Pobre
3	Ondas com movimentos pequenos e lentos Espermatozoides individuais podem ser observados. Entre 45-65% dos espermatozoides são ativos	Normal
4	Ondas com movimento vigorosas, mas não tão rápidas como na pontuação 5. 70-80% ou mais são ativos	Bom
5	Denso; ondas movem rapidamente; Espermatozoides individuais não podem ser observados; Mais de 90% dos espermatozoides são ativos	Muito bom

A determinação da motilidade massal pode ser afetada pela concentração do sémen, uma vez que este é utilizado puro e sem diluir, não sendo possível identificar individualmente os espermatozoides (Hafez & Hafez, 2000). Para solucionar esta limitação utilizam-se técnicas que permitem observar individualmente os espermatozoides e avaliar a sua motilidade individual (Pezzanite et al., 2010).

Para avaliar a MI coloca-se uma pequena gota de sémen na extremidade de uma lâmina, com uma pipeta de Pasteur, e na outra extremidade coloca-se uma gota de diluidor (citrato de sódio a 2%, lactato de Ringer ou soro fisiológico) a 37°C (Kimberling & Parsons, 2006; Noakes et al., 2009; Pezzanite et al., 2010). Com o canto de outra lâmina mistura-se um pouco de sémen com um pouco de diluidor, obtendo-se desta forma uma diluição de 1:1 (Chagas e Silva, 1992). Em alternativa pode juntar-se, num tubo eppendorf, 100 a 200µL de sémen com igual quantidade de diluidor, usando esta mistura para colocar uma gota na lâmina a observar. A mistura é coberta com uma lamela e observada ao microscópio, em vários campos, permitindo assim a avaliação da motilidade individual. A ampliação a utilizar varia entre x200 (Baril et al., 1993), 200 a 500x (Barth, 2006) e 200 a 400x (Kimberling & Parsons, 2006). Nesta observação estima-se a proporção de espermatozoides com movimentos progressivos, bem como a contagem dos que tem movimentos circulares ou de rotação (Pezzanite et al., 2010). Considera-se aceitável uma amostra que possua uma motilidade individual superior a 30% (Pezzanite et al., 2010; Tibary et al., 2018).

No entanto, a avaliação da motilidade por esta metodologia não é suficientemente precisa para determinar se um ejaculado deve ou não ser descartado, sendo necessário realizar outros testes tais como a determinação da vitalidade, pela coloração de eosina-nigrosina, por exemplo, que dá uma contagem do número de espermatozoides vivos e apresenta uma correlação alta (superior a 0,90) com a motilidade individual (Baril et al., 1993).

Para reduzir a subjetividade na avaliação da motilidade e morfologia do sémen, têm sido desenvolvidos nos últimos anos sistemas computadorizados de análise seminal (CASA) (Matos et al., 2009), que permitem a avaliação dessas características com alto nível de precisão e confiabilidade (Verstegen et al., 2002; Tsakmakidis, 2010).

O sistema CASA é um sistema computadorizado e automático de captura e análise de imagens, que são unidas formando um vídeo que mostra o trajeto do espermatozoide, dando uma informação precisa e exata do seu movimento (Amann & Katz, 2004). Para além de estimar a trajetória, são calculados uma série de parâmetros: percentagem de espermatozoides móveis, velocidade curvilínea (VCL), velocidade média da trajetória (VAP), velocidade linear progressiva (VSL), retilinidade (STR) e linearidade (LIN), que permitem classificar os espermatozoides de acordo com o seu padrão de movimento em imóvel, móvel não progressivo, linear lento e linear rápido (Mortimer, 2000).

A motilidade espermática é influenciada por vários fatores, e em particular pelo choque térmico que pode gerar-se entre o momento da colheita e da avaliação (Pezzanite et al., 2010). Para minimizar este efeito todo o equipamento deve ser mantido numa temperatura próxima de 30 a 37°C (Noakes et al., 2009).

2.1.6.5. Avaliação da viabilidade e da morfologia espermática

A viabilidade espermática indica a proporção de espermatozoides vivos no sémen e, em conjunto com a avaliação morfológica, permitem prever a qualidade do sémen e do macho (Czubaszek et al., 2019). A viabilidade espermática pode ser determinada de forma indireta através da avaliação da integridade estrutural da membrana plasmática do espermatozoide (Blanch et al., 1988).

A integridade da membrana pode ser avaliada com recurso a colorações, ou por testes funcionais (como o teste hipo-osmótico ou HOST) (Partyka et al., 2012).

Os espermatozoides, tal como outras células do organismo, não são facilmente visíveis ao microscópio a não ser que sejam corados ou observados num fundo escuro (Barth, 2006). Para observação dos espermatozoides podem usar-se colorações vitais (como a eosina, o azul de bromofenol ou de tripan, ou o rosa de bengala) que permitem distinguir espermatozoides vivos dos mortos (Ramalho-Santos et al., 2007), e as chamadas colorações totais (como o azul de toluidina, o azul de metileno, o Giemsa ou o Diff-Quick), que marcam indiscriminadamente todos os espermatozoides bem como outras células existentes no ejaculado, como neutrófilos ou linfócitos (Tibary et al., 2018). Existem ainda as chamadas colorações de contraste (como a tinta da china ou a nigrosina), que coram o fundo da lâmina permitindo a observação do espermatozoide por contraste (Ramalho-Santos et al., 2007). Mais recentemente apareceram no mercado várias sondas ou corantes fluorescentes, que são usados em particular na avaliação de sémen em laboratório (Payan-Carreira et al., 2013). No entanto, a sua utilização na rotina da avaliação andrológica em Medicina Veterinária é ainda limitada.

Os corantes mais utilizados são a eosina-nigrosina (Hackett & Macpherson, 1965; Martins et al., 2003; Souza & Ferrugem, 2019) que, combinando as características de corante vital da eosina (que penetra através das membranas celulares danificadas dos espermatozoides) com o contraste do fundo que é fornecido pela nigrosina (Barth, 2006; Cheboweth et al, 2010), permite não só avaliar a percentagem de espermatozoides mortos mas também analisar a morfologia espermática (Swanson & Bearden 1951). A Tabela 10 sumaria os passos da técnica de coloração com eosina-nigrosina, com base nas recomendações da WHO para o sémen humano (WHO, 2021).

São contados pelo menos 100 espermatozoides corados (mortos) ou não corados (vivos). O número ideal de espermatozoides a contar seria 200, para minimizar o erro na amostragem (WHO, 2021). O resultado é dado em percentagem de células vivas, em número inteiro.

Tabela 10 – Passos da coloração com eosina-nigrosina (adaptado de WHO, 2021)

1.	Colocar 100 µL de corante (eosina-nigrosina) num “ <i>eppendorf</i> ” ou num recipiente de vidro [confirmar existência de depósito ou precipitado que indique a necessidade de filtrar o corante]
2.	Agitar suavemente a amostra de sémen
3.	Retirar igual quantidade de sémen e misturar com o corante
4.	Esperar 30 segundos
5.	Realizar um esfregaço e deixar secar ao ar
6.	Observar ao microscópio (antes ou depois de montar a lâmina com uma resina) a uma ampliação de x1000 (sob imersão de óleo).

2.1.6.5.1. Quantificação e classificação das anomalias espermáticas

A coloração de eosina-nigrosina permite também avaliar o tipo de anomalias espermáticas presentes e quantificar a morfologia espermática (Edmondson et al., 2012; Kimberling & Parsons, 2006). A WHO recomenda, para a avaliação de sémen humano, a utilização das colorações de Papanicolaou, Diff-Quik and Shorr por serem as que menos afetam a morfologia espermática associado a alterações de osmolaridade das soluções (WHO, 2021).

No entanto, estas colorações apenas permitem quantificar as anomalias morfológicas das células, não permitindo extrapolar ou obter informação sobre a função dos espermatozoides. Para obter dados sobre a qualidade funcional do espermatozoide é necessário recorrer a outras técnicas que exigem trabalhar em laboratório e com equipamento mais sofisticado (Payan-Carreira et al., 2013).

Ainda assim, a avaliação da morfologia espermática é um parâmetro muito útil e importante na avaliação de sémen (Noakes et al., 2009). Esta avaliação reflete alterações que ocorrem sobretudo ao nível da espermatogénese, sugerindo a existência de disfunções ao nível dos túbulos seminíferos. Sempre que existam alterações testiculares estas acompanham-se de um acréscimo do número de espermatozoides com anomalias (Souza & Ferrugem, 2019). Uma alteração na morfologia do espermatozoide pode comprometer o seu potencial fecundante (De Vos et al., 2003), e por isso mesmo é um parâmetro importante a avaliar no espermograma.

Para quantificar as anomalias espermáticas existentes numa amostra devem contar-se 200 espermatozoides, mas se o número de anomalias for elevado é aconselhado contar 300 ou mais espermatozoides de modo a fornecer uma informação mais precisa (Barth, 2006).

As anomalias espermáticas podem ser avaliadas segundo três critérios: a morfologia celular, ou seja de acordo com a localização da anomalia no espermatozoide (classificadas como anomalias da cabeça, peça intermédia e cauda - Figura 6) (Senger, 2005; Noakes et al., 2009; Páez-Barón & Corredor-Camargo, 2014); de acordo com o local de origem do defeito (classificadas como primárias, se se originam durante a espermatogénese; secundárias se têm origem na passagem e armazenamento nas vias excretora extra-testiculares; e terciárias as que ocorrem depois da ejaculação, e que podem estar associadas à manipulação da amostra - Figura 7) (Hafez & Hafez, 2000, Barth, 2006; Noakes et al., 2009; Edmondson et al., 2012); ou segundo os

seus efeitos sobre a fertilidade (anomalias maiores e menores; Figura 8 e Tabela 11) (Blom, 1983; Noakes et al., 2009).

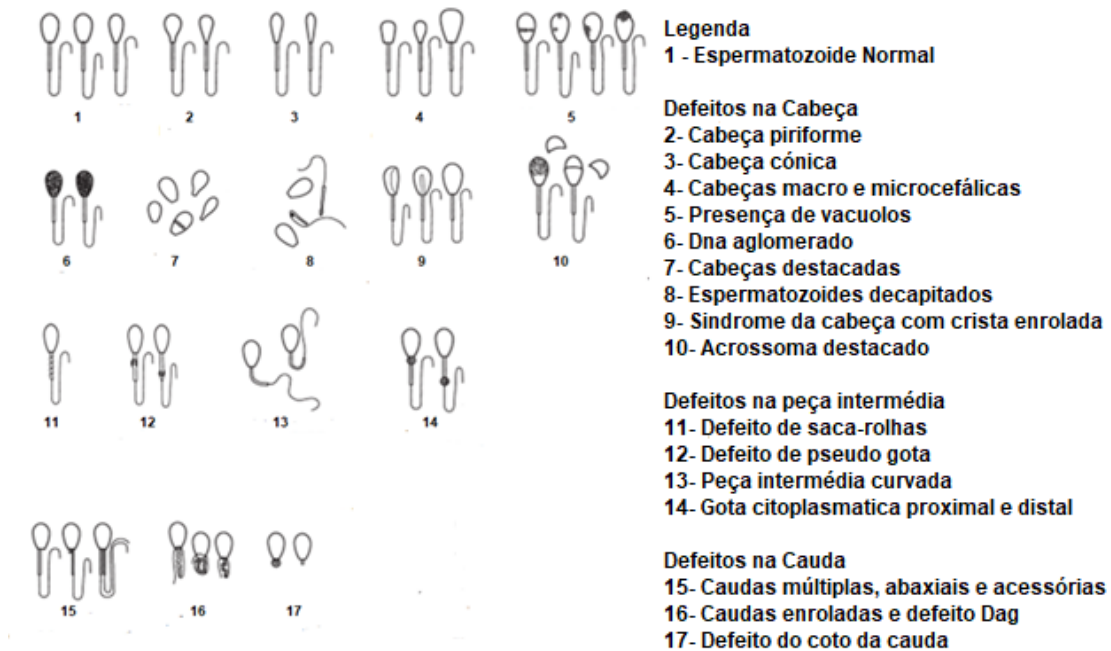


Figura 6 – Classificação das anomalias morfológicas segundo a localização no espermatozoide (adaptado de Barth, 2006)

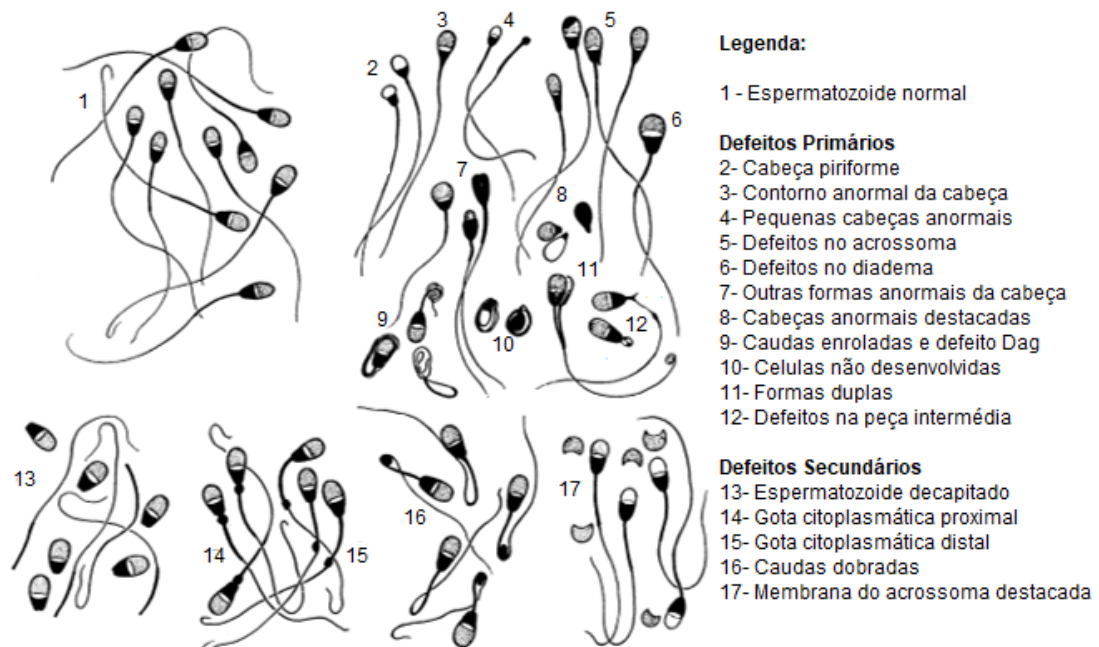


Figura 7 – Classificação das anomalias morfológicas segundo o local de origem do defeito (adaptado de Blom, 1950)

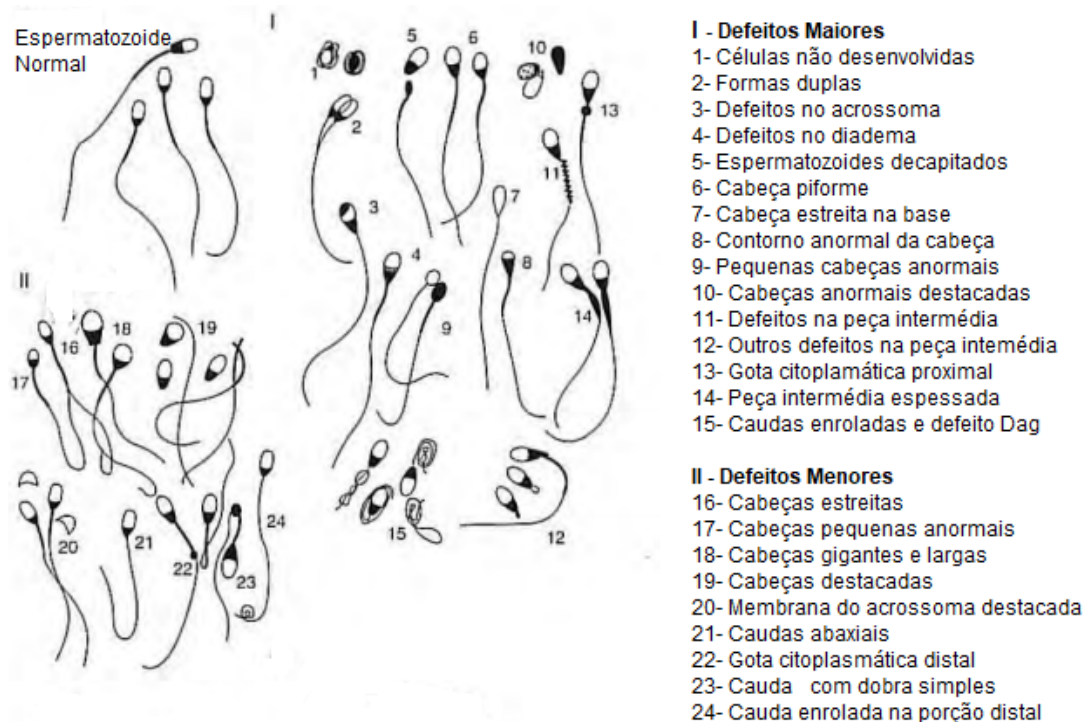


Figura 8 – Classificação das anomalias morfológicas segundo o seu efeito sobre a fertilidade (Blom, 1983, adaptado de Noakes et al., 2009)

Tabela 11 – Classificação das anomalias morfológicas dos espermatozoides em defeitos maiores e menores (Blom, 1983, adaptado de Noakes et al., 2009)

Defeitos Maiores		Defeitos Menores	
- Células não desenvolvidas	- Pequenas cabeças anormais	- Cabeças estreitas	- Cauda enrolada na porção distal
- Formas duplas	- Cabeças anormais destacadas	- Cabeças pequenas anormais	
- Defeitos no acrossoma	- Defeitos na peça intermédia	- Cabeças gigantes e largas	
- Defeito em diadema	- Outros defeitos na peça intermédia	- Cabeças destacadas	
- Espermatozoides decapitados	- Gotas citoplasmáticas proximais	- Membrana do acrossoma destacada	
- Cabeça piriforme	- Peça intermédia espessada	- Caudas Abaxiais	
- Cabeça estreita na base	- Caudas enroladas e defeito Dag	- Gotas citoplasmáticas distais	
- Contorno anormal da cabeça		- Caudas com dobra simples	

As anomalias da cabeça (cabeças piriformes, macro e microcefálicas) e as anomalias do acrossoma têm sido associadas a degenerescência testicular (Kimberling & Parsons, 2006; Edmondson et al., 2012; Diskin, 2018). No caso dos defeitos do acrossoma, há indícios de influência hereditária (Wenkoff, MS, 1988; Diskin, 2018). Por seu lado, as cabeças destacadas podem estar associadas a uma situação temporária como stresse térmico ou frio excessivo (Kimberling & Parsons, 2006; Diskin, 2018), ou ser uma condição permanente como é o caso da infeção por *Brucella ovis* (Kimberling & Parsons, 2006).

A presença de gotas citoplasmáticas proximais na peça intermediária é um dos defeitos morfológicos observados com maior frequência (Kimberling & Parsons, 2006). A maioria dos espermatozoides tem uma gotícula citoplasmática presente quando atinge o epidídimo, e que vai sendo eliminada durante o transporte epididimário (Diskin, 2018). Normalmente a sua presença está associada a imaturidade, períodos de baixa atividade hormonal (amostras retiradas em carneiros fora da estação reprodutiva), a um uso excessivo do reprodutor ou a degenerescência testicular (Kimberling & Parsons, 2006; Edmondson et al., 2012). As gotas citoplasmáticas distais, quando presentes em grande número, podem indiciar anomalia do fluido seminais ou algum problema na ejaculação. Os espermatozoides com gotas citoplasmáticas poderão ser incluídos no grupo dos espermatozoides normais, não havendo prova de que estejam associados a uma redução da fertilidade (Diskin, 2018).

A presença de caudas enroladas é uma anomalia frequente e que se encontra associada à degenerescência testicular (Kimberling & Parsons, 2006).

Considerando o seu potencial efeito sobre a fertilidade, os defeitos na morfologia espermática podem ainda ser classificados como defeitos compensáveis e defeitos não compensáveis (Aalseth & Saacke, 1985), e a sua classificação tem como base a realização de testes funcionais com oócitos ou a sua zona pelúcida. Os defeitos compensáveis seriam aqueles em que os espermatozoides não são capazes por si só de penetrar a zona pelúcida, mas cujo efeito se pode compensar aumentando a concentração de espermatozoides; por outro lado, no caso de defeitos não compensáveis os espermatozoides penetram a zona pelúcida, no entanto não se observa a reação de zona subsequente (Barth, 2006; Noakes et al., 2009), o que favorece a polispermia. Os defeitos pertencentes a cada grupo estão indicados na Tabela 12.

Os limites para os valores de formas anormais categorizados como satisfatórios em carneiros varia entre inferior a 30 % (Kimberling & Parsons, 2006; Edmondson et al., 2012; Tibary et al., 2018) e inferior a 20 % (Hafez & Hafez, 2000; Souza & Ferrugem, 2019).

À semelhança do Sistema CASA para avaliação da motilidade, foram também desenvolvidos sistemas computadorizados para avaliar a morfologia do espermatozoide, nomeadamente os sistemas ASMA (Análise Automática de Morfologia Espermática) e CASMA (Análise Computorizada Assistida da Morfologia Espermática) (Bergstein et al., 2015).

Tabela 12 – Defeitos compensáveis e não compensáveis da morfologia espermática (Adaptado de Noakes et al., 2009)

Defeitos Compensáveis	Defeitos não compensáveis
<ul style="list-style-type: none"> - Flexão distal da peça intermédia - Defeito Dag - Defeito da bainha mitocondrial - Defeito no coto da cauda/axonema - Defeitos na cauda - Acrossoma protuberante - Acrossoma tumefacto - Cabeças Soltas ou destacadas 	<ul style="list-style-type: none"> - Gota citoplasmática proximal - Cabeça piriforme - Defeitos na cromatina - Vacúolos na cabeça do espermatozóide - Macro e microcefalia - Crista nuclear

O sistema ASMA foi desenvolvido com o objetivo de analisar as dimensões da cabeça dos espermatozoides (Gravance et al., 1998; Arruda et al., 2011). Este sistema está programado para distinguir espermatozoides de detritos ou sobreposição de células, e obter informação sobre as medidas de diâmetro máximo e mínimo, área da cabeça, percentagem de acrossoma e o fator de elipse. Estas medidas são utilizadas para classificar os espermatozoides segundo a forma da cabeça em: normal, afilada, redonda, macro, micro e amorfa (Arruda et al., 2011). Nesta avaliação devem ser contempladas algumas variáveis, nomeadamente os componentes do sistema, a preparação e coloração do sémen e a ampliação utilizada (Gravance et al., 1998). O uso de hematoxilina ou a combinação de hematoxilina com rosa de bengala permite uma aceitável coloração para a preparação a analisar no ASMA (Talbot et al., 1981). A nível de ampliação, Arruda (2011) recomenda uma ampliação de 1000 vezes.

O sistema CASMA permite a avaliação morfométrica tanto da cabeça do espermatozoide como das partes que constituem o espermatozóide, como o núcleo, acrossoma, peça intermediária e cauda. As medidas obtidas apresentam correlação com a fertilidade da espécie (Yániz et al., 2015).

2.1.7 Outros exames

Os procedimentos acima descritos, com exceção da avaliação do sémen com recurso a equipamentos computadorizados, são os mais comuns aquando da realização do exame andrológico em ovinos na situação de campo. No entanto há outro tipo de avaliações mais específicas que podem ser realizadas para completar a avaliação, geralmente funcional. Realizados quase sempre em contexto laboratorial, são sobretudo utilizados nos centros de reprodução.

2.2.7.1. Ecografia

A ecografia é uma técnica não invasiva bastante útil na identificação, investigação e monitorização de alterações testiculares e das estruturas relacionadas (Ahmad & Noakes, 1995; Griffiths & Ridler, 2015; Vencato et al., 2014). Permite, para além de uma previsão de fertilidade, avaliar o perímetro escrotal e o volume testicular (Boukhliq et al., 2018).

Na ausência de lesão, o escroto e a túnica albugínea apresentam-se hiperecogénicas, enquanto que a túnica vaginal apresenta uma ligeira diminuição da ecogenicidade em relação aos anteriores. O parênquima testicular apresenta uma consistência homogénea, de padrão granular, ligeiramente hipocogénica ou ecogénica (Boukhliq et al., 2018). A presença de áreas mais hipo ou hiperecogénicas no parênquima testicular indicam alterações fibróticas ou a presença de estruturas quísticas (Edmondson et al., 2012). Tibary et al (2018) refere que a presença de focos hiperecogénicos é típico na degenerescência testicular, e que os granulomas testiculares são geralmente microscópicos e não são detetados à ecografia.

A cauda do epidídimo é visível na ecografia como uma estrutura de ecogenicidade inferior à do parênquima testicular. O corpo do epidídimo não é visível e a cabeça é parcialmente visível, uma vez que a sua parte superior é coberta pelo plexo pampiniforme que é totalmente visualizado (Gouletsou et al., 2003). A presença de granulomas na cabeça e cauda do epidídimo aparecem como áreas anecogénicas ou hiperecogénicas, em função da idade do processo (Edmondson et al., 2012).

2.1.7.2. Biópsia testicular

A biópsia testicular é uma técnica bastante útil no diagnóstico de casos de infertilidade ou de subfertilidade (Lopate et al., 1989), estando reservada a animais com alto valor económico (Edmondson et al., 2012). É o exame mais útil na deteção de aplasia ou atrofia, degeneração, inflamação e neoplasias (Edmondson et al., 2012; Lopate et al., 1989).

Têm sido estudadas diversas técnicas ao longo dos anos para recolha de amostras de tecido testicular (Threlfall & Lopate, 1992; Blanchard & Varner, 1996), das quais podemos referir a biópsia aberta ou incisional e a biópsia por punção com agulhas “*puch*”, “*split*”, “*Tru-cut*” ou agulha fina. A técnica aberta é bastante invasiva, contrastando com a punção por agulha fina que é menos invasiva (Sartori et al, 2002 a). Apesar de útil, os médicos veterinários parecem ser um pouco relutantes em realizar biópsia testicular, talvez pelas complicações que podem advir da realização da técnica (Sartori et al., 2002 b), nomeadamente hemorragia, hematomas, degeneração do epitélio germinativo, fibrose e inflamação, i.e., lesões que podem agravar a situação inicial (Lopate et al., 1989; Threlfall & Lopate, 1992).

2.1.8. Padrões de qualidade reprodutiva

Com base no exame físico, teste de líbido e avaliação de sémen os carneiros podem ser classificados em quatro categorias: insatisfatório, questionável, satisfatório e excelente

(Kimberling & Parsons, 2006; Tibary et al., 2018). Na Tabela 13 encontram-se os critérios utilizados para atribuir a classificação aos carneiros no final do exame andrológico. Completando esta classificação, é importante salientar que qualquer animal deve estar livre de *Brucella ovis* por testagem realizada segundo as exigências da DGAV (2021).

Tabela 13 – Classificação dos carneiros no exame andrológico (conjugando dados de de The Western Regional Coordination Committee on Ram Epididymitis and Fertility e de Yarney & Sanford, 1993)

	6 a 12 meses			12 a 18 meses		
	PE (cm)	Motilidade (%)	Morfologia (% Spz normais)	PE (cm)	Motilidade (%)	Morfologia (% Spz normais)
Insatisfatório	inferior a 28 - 30	< 30	< 50	inferior a 32 - 33	< 30	< 50
Questionável	inferior a 28 - 30	< 30	< 70	inferior a 32 - 33	< 30	< 70
Satisfatório	superior a 28 - 30	> 30	> 50	superior 32	> 30	> 50
Excelente	superior a 33 - 36	> 50	> 90	superior a 35 - 40	> 50	> 90

Uma categoria que requer especial atenção é a de “Questionável”, uma vez que inclui os carneiros que apresentam um parâmetro duvidoso ou uma condição que possa ser tratável ou reversível. Os carneiros incluídos nesta categoria devem ser testados novamente entre 50 e 60 dias após o tratamento e classificados como reprodutores satisfatórios ou insatisfatórios (Tibary et al., 2018).

No final da avaliação o Médico Veterinário emite um relatório onde constam todos os dados do proprietário bem como das observações feitas ao animal e o parecer do clínico em relação ao potencial reprodutivo do animal.

Parte II – Parte Prática

1. Objetivos

O trabalho aqui apresentado resulta de parte das atividades desenvolvidas no âmbito do estágio curricular. Foram objetivos do estágio curricular, que decorreu em contexto de clínica das espécies pecuárias, a aplicação na prática clínica da aprendizagem construída ao longo do percurso académico, a aquisição de autonomia nos procedimentos de rotina e uma ambientação à área profissional do estágio. Durante o estágio, que decorreu sob tutoria do Prof. Ricardo Romão, foram realizados diversos procedimentos em âmbito da avaliação andrológica em campo de carneiros reprodutores, para avaliação do seu potencial reprodutivo.

No presente trabalho foram compilados, organizados e discutidos dados relativos a 198 exames andrológicos em carneiros, dos quais 168 representavam dados retrospectivos cedidos pelo Prof. Ricardo Romão, Diretor Clínico do VETAL, Complexo Veterinário do Alto Alentejo, e 30 relativos aos casos acompanhados durante o período de estágio curricular.

2. Introdução

O exame reprodutivo no macho – exame andrológico - é realizado pelo médico veterinário como uma prestação de serviços aos produtores (Ott & Memon, 1980), que permite estimar a capacidade reprodutiva de um macho em beneficiar um determinado número de fêmeas durante a época reprodutiva (Kimberling & Parsons, 2006).

O exame andrológico deve ser realizado idealmente nas situações de pré-época reprodutiva, em atos de compra e venda de reprodutores ou em situações que se suspeita de infertilidade no rebanho (Profile, 2015). Tem como a finalidade de identificar e retirar do efetivo os animais potencialmente inférteis, de forma a aumentar a produtividade e a rentabilidade da exploração (Arrebola-Molina et al., 2020).

O exame pode ser dividido em três componentes: o exame físico e do aparelho reprodutor, avaliação da libido (nem sempre realizada em situações de campo), colheita e avaliação de sémen (LeaMaster et al., 2007). No exame físico e do trato reprodutivo do macho, a medição do perímetro escrotal (PE) é um importante parâmetro a registar (Ridler et al., 2012), uma vez que esta medida está altamente correlacionada com o volume testicular e a produção de espermatozoides (Profile, 2015). A colheita de sémen é na grande maioria das vezes realizada por eletro-ejaculação, visto os machos não estarem habituados à recolha com vagina artificial. A realização do espermograma em campo inclui ainda a avaliação da Motilidade Massal (MM; numa escala de 0 a 5), da Motilidade Individual (MI; em percentagem), e recorrendo ao uso de corantes, também a Vitalidade (VT) e as Anomalias Morfológicas (AM) (Tibary et al., 2018).

3. Material e Métodos

3.1. Animais

O exame andrológico foi realizado a 198 animais entre os anos de 2010 e 2021, em 11 explorações situadas no Alto e Baixo Alentejo (Figura 9). Os machos avaliados pertenciam às raças Assaf (n=113), Île de France (n=7), INRA (n=5), Lacaune (n=42), Merino Branco (n=29), Preto Precoce (n=1) e Suffolk (n=1). Todas as explorações onde foram realizados os exames detinham um estatuto sanitário B4.

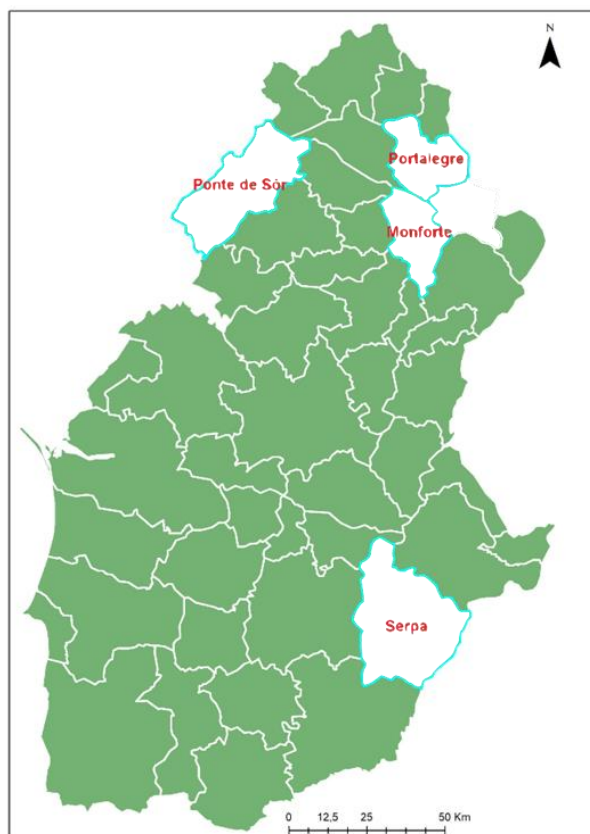


Figura 9 – Mapa da região do Alentejo. Estão assinalados os concelhos onde se encontram as explorações em que foi realizado o exame andrológico a carneiros

Os exames, num total de 198, foram realizados em vários meses do ano, de acordo com as necessidades do produtor e conforme o manejo praticado em cada exploração, não havendo registo na grande maioria das vezes do propósito da realização do mesmo (pré-época reprodutiva, ato de compra, suspeita de infertilidade). Pelos motivos anteriormente referidos e uma vez que os ovinos são considerando animais sazonais, foram definidos dois períodos de conveniência no que respeita ao momento de realização do exame andrológico: um período de contra-estação (119 machos avaliados), compreendida entre os meses de Fevereiro a Agosto, e um

período de estação reprodutiva (79 machos avaliados), compreendida entre os meses de Setembro a Janeiro (Figura 10).

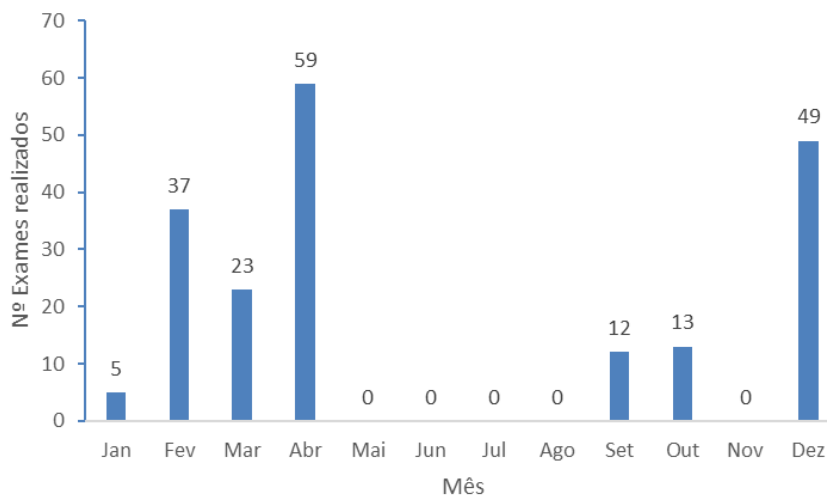


Figura 10 – Distribuição da realização dos exames andrológicos ao longo do ano

3.2. Exame andrológico

O exame andrológico foi realizado de acordo com o recomendado pela Sociedade Internacional de Teriogenologia, e incluiu:

- O exame físico, realizado em duas etapas. Primeiro os animais foram observados à distância, onde se observou a atitude, postura e andamentos, e pesquisou a existência de claudicação. A segunda etapa, de exame físico individual, foi suficientemente detalhada para permitir detetar alguma doença no animal. Foram recolhidas e registadas na ficha clínica as constantes vitais do animal, motilidade gastrointestinal, observação de úngulas, aprumos e a pontuação da condição corporal.

- o exame das estruturas externas do aparelho genital, que consistiu num exame detalhado da genitália externa, tendo sido avaliados o pénis (durante a exteriorização aquando da colheita), o prepúcio e o escroto e conteúdo. A bolsa escrotal foi inspecionada e palpada; os testículos foram avaliados em relação à correta posição no escroto, consistência e simetria, avaliando também nesse momento o epidídimo por palpação. Por último, com o auxílio de uma fita métrica flexível foi medido o perímetro escrotal (PE).

3.2.1. Recolha e avaliação de sémen

A colheita de sémen foi realizada por eletroejaculação (Eletroejaculador ElectroJac® 6), com estímulos em ciclos de cinco segundos com intensidade crescente (1 a 9 Volts), com o carneiro em decúbito lateral (Figura 11). O sémen foi colhido em copo aquecido a uma temperatura próxima de 37°C.

Uma vez obtido, o sêmen foi rapidamente analisado, de modo a evitar alterações provocadas pelo choque térmico, luz ou outros contaminantes. A Figura 12 mostra o material a usar, tal como montado para avaliação de sêmen em situação de campo.

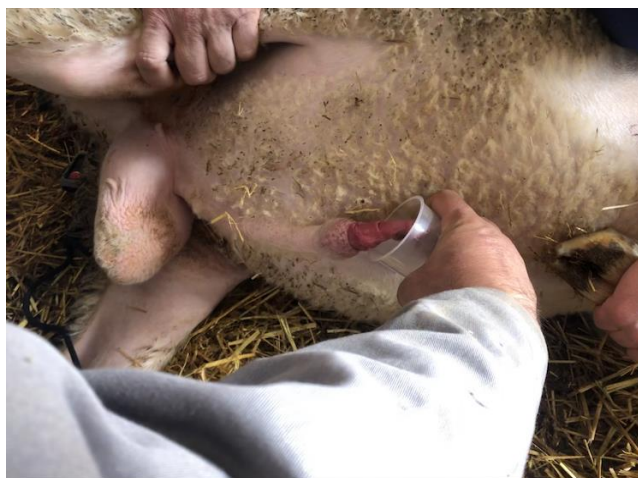


Figura 11 – Colheita de sêmen em carneiro (Fotografia do Autor)



Figura 12 – Material utilizado em situação de campo (microscópio com platina aquecida, placa de aquecimento, laminas, lamelas, solução salina e coloração de eosina-nigrosina) (Fotografia do Autor)

3.2.2. Avaliação Macroscópica

O sêmen recolhido foi avaliado macroscopicamente no copo de recolha para registo da cor (esbranquiçada, amarelada, transparente, avermelhada), consistência (cremosa, líquida) e odor (sem odor, odor a urina) da amostra.

3.2.3. Avaliação Microscópica

Foi ainda submetido a uma avaliação de vários parâmetros microscópicos, que se explicam de seguida.

3.2.3.1. Motilidade Massal

Para determinação da motilidade massal, imediatamente após a colheita, colocou-se uma gota de sémen numa lâmina aquecida a 37°C, que se observou ao microscópio com a objetiva de 10 (para uma ampliação final de 100 x). Observou-se o movimento na amostra e classificou-se a motilidade numa escala de zero a cinco (reveja-se a Tabela 9).

3.2.3.2. Motilidade Individual

Para avaliar o movimento individual dos espermatozoides, foi misturada uma gota de sémen e uma gota de soro fisiológico numa lâmina; a observação foi realizada após colocação de uma lamela, sob objetiva de 40 (para uma ampliação final de x400). A estimativa, em percentagem, foi registada.

3.2.3.3. Viabilidade e morfologia espermática

Para avaliar a percentagem de espermatozoides vivos, foi realizado numa lâmina um esfregaço de sémen misturado com o corante eosina-nigrosina (Figura 13). Este esfregaço foi observado com a objetiva de imersão (1000x) contando o número de espermatozoides corados (mortos) e o número de espermatozoides não corados (vivos) num total de 100 células. De igual modo, no caso da morfologia foram contados 100 espermatozoides, anotando-se de forma discriminada as anomalias presentes.

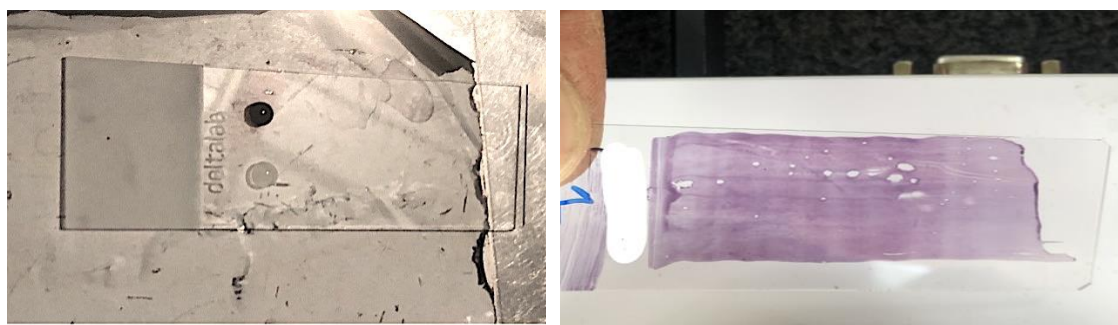


Figura 13- Realização de esfregaço com coloração de eosina-nigrosina. A imagem da esquerda mostra como colocar as gotas de sémen e de corante. A imagem da direita mostra o esfregaço terminado. (Fotografia do Autor)

3.2.4. Critérios de classificação dos carneiros

Os critérios de classificação utilizados no estudo basearam-se no exame físico e da genitália externa, bem como dos dados obtidos no espermograma. Os carneiros que apresentaram uma circunferência escrotal superior a 30 cm, motilidade individual superior a 50% e formas anormais inferiores a 30% foram considerados como potencialmente férteis e por consequência foram aprovados.

Na grelha usada nos exames a campo realizados, sempre que os machos apresentavam diminuição do perímetro testicular, anomalias da genitália externa, ou se não cumpriam os requisitos do espermograma, eram classificados como inadequados, e portanto reprovados. De acordo com os procedimentos de rotina usados, não era proposta aos produtores uma reavaliação da situação no espaço de 60 dias.

3.3. Análise estatística

Os dados obtidos foram tratados com o programa IBM SPSS Statistic 24 ®. Numa primeira análise foi realizada a estatística descritiva para os elementos avaliados. Os dados de variáveis contínuas são apresentados como Média \pm SEM; os dados das variáveis categóricas são apresentados na forma Mediana [Q1; Q3].

O número de observações (n) não é igual em todos os parâmetros avaliados, uma vez que, em alguns casos, quando o animal não atingiu o mínimo exigido nesse parâmetro, a avaliação terminou nesse momento, não sendo avaliados os parâmetros seguintes. Deste modo o número de observações registadas em cada parâmetro será apresentado nas tabelas de resultados.

Numa segunda fase foram testadas as influências da estação reprodutiva, raça, idade, e da pontuação da condição corporal (CC) dos carneiros nos diferentes parâmetros avaliados, recorrendo ao teste de Qui-Quadrado no caso das variáveis categóricas (MM) e ao ANOVA, no caso das variáveis contínuas com distribuição normal (PE, MI, VT e AM). O pressuposto de normalidade foi verificado com recurso ao teste de Kolmogorov-Smirnov. O intervalo de confiança de 95% ($\alpha = 0,05$) foi o utilizado para todos os cálculos. Foram excluídos da análise estatística comparativa as raças representadas na população por um único animal (Suffolk e Preto Precoce).

Para a regressão quadrática realizada entre o PE e a idade foi utilizado o programa Excel®.

4. Resultados

A Tabela 14 resume os dados dos animais avaliados por raça e por idade, e a Tabela 15 apresenta o número de animais avaliados em cada estação (reprodutiva vs. contra-estação) e raça.

Os carneiros avaliados (n=198) foram classificados como aprovados (n=168; 84,8%) ou reprovados (n=30; 15,2%) (Tabela 16). Na população abrangida por este estudo, a reprovação dos animais deveu-se a exame físico insatisfatório (n=15; 7,6%) ou por alteração dos parâmetros seminais (n=15; 7,6%).

Tabela 14 – Distribuição dos animais por raça e idade (n=198)

Raça	Idade (anos)							Total
	<1	1	2	3	4	5	≥ 6	
Assaf	5	77	4	5	13	6	3	113
Lacaune	0	25	7	7	3	0	0	42
Île-de-France	0	0	0	2	2	2	1	7
Preto Precoce	0	1	0	0	0	0	0	1
Merino Branco	0	3	6	4	5	4	7	29
Suffolk	0	1	0	0	0	0	0	1
INRA	0	0	5	0	0	0	0	5
Total	5	107	22	18	23	12	11	198

Tabela 15 – Distribuição dos machos avaliados segundo a raça e a época reprodutiva (n=198).

Raça	Estação		Total
	Contra - Estação	Reprodutiva	
Assaf	65	48	113
Lacaune	42	0	42
Île-de-France	7	0	7
Preto Precoce	0	1	1
Merino Branco	0	29	29
Suffolk	0	1	1
INRA	5	0	5
Total	119	79	198

Tabela 16 – Resultado do exame andrológico (aprovados vs. reprovados) e causas de reprovação (n = 198)

BSE Realizados	Reprovados			Aprovados
	Ex. Físico	Espermograma	Reprovados Totais	
Assaf (n=113)	8 (7,1%)	8* (7,1%)	16 (14,2%)	97 (85,8%)
Lacaune (n=42)	2 (4,8%)	4 (9,5%)	6 (14,3%)	36 (85,7%)
Île-de-France (n=7)	2 (28,6%)	2 (28,6%)	4 (57,2%)	3 (42,9%)
Preto Precoce (n=1)	1 (100%)	0	1 (100%)	0
Merino Branco (n=29)	1 (3,4%)	1 (3,4%)	2 (6,89%)	27 (93,1%)
Suffolk (n=1)	0	0	0	1 (100%)
INRA (n=5)	1 (20%)	0	1 (20%)	4 (80%)
Total (n=198)	15 (7,6%)	15 (7,6%)	30 (15,2%)	168 (84,8%)

*3 destes carneiros foram reprovados por impossibilidade de recolha de sêmen

As Tabelas 17 e 18 resumem as causas de reprovação identificadas em sede de exame andrológico. No caso dos animais reprovados com base na avaliação espermática, houve animais que apresentaram défice em mais do que um critério, o que se reflete no total de observações registados.

Tabela 17 – Causas de reprovação no exame físico (n= 15)

Causa		N	%
Assimetria Escrotal	Associada a atrofia Testicular	8	53,33
	Associada a Orquite	4	26,67
Perímetro Escrotal Baixo		3	20,00
Total		15	100

Tabela 18 – Causas de reprovação no espermograma (n=15). Registaram-se animais com mais do que um critério de reprovação

Raça	S/ recolha de Sêmen	Motilidade	Anomalias	Vitalidade	Total	%
Assaf	3	4	1	0	8	53,33
Lacaune	0	1	1	2	4	26,67
Île-de-France	0	1	1	0	2	13,33
Merino Branco	0	0	0	1	1	6,67
Total (%)	3 (20%)	6 (40%)	3 (20%)	3 (20%)	15	100

Na Tabela 19 apresentam-se os resultados dos exames andrológicos (aprovação vs. reprovação) distinguindo as duas épocas consideradas (reprodutiva e não reprodutiva). O número de carneiros reprovados em contra-estação foi maior do que os reprovados em época reprodutiva, no entanto esta diferença não apresenta significado estatístico (Fisher = 2,580; $p=0,156$).

Tabela 19 – Resultados do exame andrológico na totalidade dos animais testados ($n = 198$), segundo a época considerada: contra-estação (Fevereiro a Agosto) e em estação reprodutiva (Setembro a Janeiro)

Resultados do BSE	Contra-estação	Época Reprodutiva	Total
Aprovado	97 (81,5%)	71 (89,9%)	168
Não Aprovado	22 (18,5%)	8 (10,1%)	30
Total	119 (100%)	79 (100%)	198

Os resultados obtidos dos parâmetros avaliados estão indicados na Tabela 20 (CC e PE), Tabela 21 (cor e consistência), Tabela 22 (MM) e Tabela 23 (MM, MI, VT e AM). Os dados são apresentados globalmente, e ainda distinguindo os períodos de contra-estação e estação reprodutiva. A mediana da condição corporal nos animais avaliados foi 3 (i.e., CC regular), não se tendo observado diferenças na CC entre as épocas consideradas (Fisher = 31,912; $p = 0,778$) (Tabela 20).

A observação da cor da amostra seminal obtida revelou que a maioria das amostras foi categorizada como tendo uma cor esbranquiçada e consistência cremosa (Tabela 21), com menos de 7 a 9 % das amostras a mostrar uma coloração ou uma consistência alterada. Não se observaram diferenças entre as ocorrências registadas em animais avaliados em época reprodutiva ou em contra-estação (Fisher = 6,091; $p=0,152$) e (Fisher = 6,855; $p=0,345$) para cor e consistência respetivamente.

Tabela 20 – CC (n = 198) e PE (n = 191) dos carneiros submetidos a exame andrológico (Global) e distinguindo as observações realizadas em contra-estação (Fevereiro a Agosto) e em estação reprodutiva (Setembro a Janeiro)

Parâmetros	Global				Contra-estação				Estação Reprodutiva			
	n	Mín.	Máx.	Mediana [Q1, Q2]	n	Mín.	Máx.	Mediana [Q1, Q2]	n	Mín.	Máx.	Mediana [Q1, Q2]
CC (1-0)	198	1,5	4,5	3 [2,5 ; 3,5]	119	2	4,5	3 [2,5 ; 3,5]	79	1,5	4	2,5 [2,25 ; 3]
	n	Mín.	Máx.	Média ± Sem	n	Mín.	Máx.	Média ± Sem	n	Mín.	Máx.	Média ± Sem
PE (cm)	191	23	42	33,68 ± 0,219	115	23	42	33,53 ± 0,276	76	27	40	33,91 ± 0,359

Tabela 21 – Avaliação descritiva da cor (n = 180) e consistência (n = 181) do sêmen para a globalidade das observações (Global) e distinguindo as observações em contra-estação (Fevereiro a Agosto) e em estação reprodutiva (Setembro a Janeiro)

		Global		Conta-Estação		Estação Reprodutiva	
		n	%	n	%	n	%
Cor	Amarelada	3	1,7	3	2,8	0	0
	Esbranquiçada	168	93,3	95	89,6	73	98,6
	Transparente	7	3,9	6	5,7	1	1,4
	Turva	2	1,1	2	1,9	0	0
	Total	180	100	111	100	74	100
Consistência	Cremosa	165	91,2	93	86,8	72	97,3
	Líquida	16	8,8	14	13,2	2	2,7
	Total	181	100	107	100	74	100

Tabela 22 – MM (n = 180) registada nas amostras de sémen analisadas na sua globalidade (Global), e distinguindo as observações em contra-estação (Fevereiro a Agosto) e em estação reprodutiva (Setembro a Janeiro)

Categoria	Global		Contra-estação		Estação Reprodutiva	
	n	%	n	%	n	%
0 - sem motilidade	9	5	8	7,5	1	1,4
1 - muito baixa motilidade	18	10	13	12,3	5	6,8
2 - baixa motilidade	18	10	11	10,4	7	9,5
3 - motilidade aceitável	25	13,9	14	13,2	11	14,9
4 - boa motilidade	45	25	26	24,5	19	25,7
5 - motilidade excelente	65	36,1	34	32,1	31	41,9
Total	180	100	106	100	74	100

Tabela 23 – Avaliação descritiva dos parâmetros MM (n= 180), MI (n = 179), VT (n = 177) e AM (n= 176) para a totalidade das observações (Global) e distinguindo as observações em contra-estação (Fevereiro a Agosto) e em estação reprodutiva (Setembro a Janeiro)

Parâmetros	Global				Contra-estação				Estação Reprodutiva			
	n	Mín.	Máx.	Mediana [Q1, Q2]	n	Mín.	Máx.	Mediana [Q1, Q2]	n	Mín.	Máx.	Mediana [Q1, Q2]
MM (0-5)	180	0	5	4 [2,25 ; 5]	106	0	5	4 [2 ; 5]	74	0	5	4 [3 ; 5]
	n	Mín.	Máx.	Média ± Sem	n	Mín.	Máx.	Média ± Sem	n	Mín.	Máx.	Média ± Sem
MI (%)	179	0	90	67,08 ± 1,195	105	0	90	66,00 ± 1,69	74	2	90	68,61 ± 1,596
VT (%)	177	29	98	79,36 ± 0,975	103	42	97	78,83 ± 1,26	74	29	98	80,09 ± 1,548
AM (%)	176	0	80	4,91 ± 0,610	103	0	80	5,1 ± 0,960	73	0	22	4,63 ± 0,581

Efeito do momento de realização do exame andrológico sobre os parâmetros avaliados

Foi testado o efeito potencial da estação na qual foi realizado o exame andrológico sobre o PE e os parâmetros seminais avaliados (MM, MI, VT e AM).

Não se encontraram diferenças entre o PE de animais avaliados em época reprodutiva e em contra-estação ($p= 0,395$). Apesar de se ter registado uma maior proporção de animais com MM nas categorias 0 e 1 em contra-estação (Tabela 22; Figura 14), ainda assim a estação em que foi realizado o exame andrológico não exerceu efeito estatístico sobre a MM (Fisher = 6,870; $p=0,321$).

Resultado semelhante foi obtido quando se compararam os resultados dos outros parâmetros ($p= 0,284$, $p= 0,522$ e $p= 0,702$ para MI, VT e AM respetivamente), não tendo sido encontrado efeitos da estação de recolha das amostras em relação a qualquer um dos parâmetros estudados.

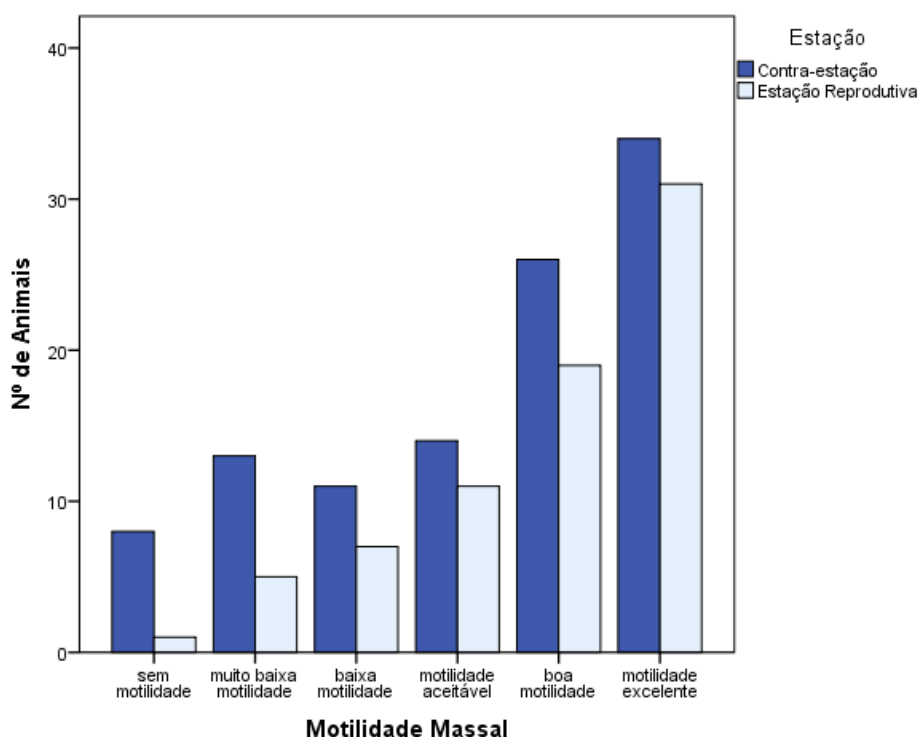


Figura 14 – Comparação dos dados da MM (n = 180) entre a contra-estação (Fevereiro – Agosto) e a época reprodutiva (Setembro – Janeiro)

Efeito da raça sobre os parâmetros avaliados

A raça influenciou a variável PE ($p = 0,002$) (Tabela 24). A raça INRA apresentou valores de PE consistentemente superiores aos das restantes raças (Figura 15).

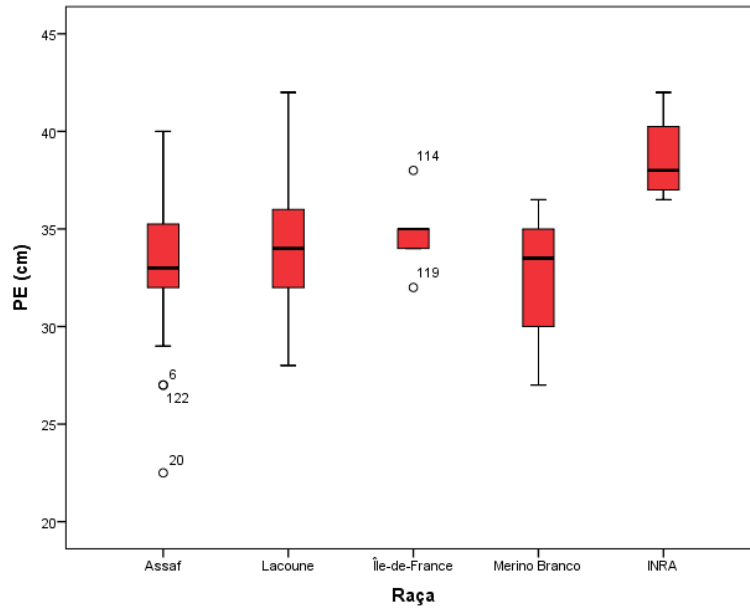


Figura 15 – Variação do PE com a raça (n = 191)

Tabela 24 – Avaliação descritiva dos parâmetros PE, MM, MI, VT, e AM segundo a raça

Raça	PE (cm)	MM (0-5)	MI (%)	VT (%)	AM (%)
Assaf	33,45 ± 0,286	4 [2 ; 5]	66,05 ± 1,536	80,32 ± 1,191	4,19 ± 0,566
Lacaune	34,26 ± 0,455	4 [2 ; 5]	69 ± 2,943	79,82 ± 2,186	4,34 ± 1,052
Île-de-France	34,80 ± 0,97	3 [2,50 ; 5]	61,25 ± 18,86	73,40 ± 3,64	22,60* ± 14,36
Merino Branco	32,69* ± 0,510	5 [3,25 ; 5]	69,11 ± 1,925	76 ± 3,121	5,11 ± 1,119
INRA	38,63* ± 1,197	3,5 [3 ; 4]	65 ± 2,887	82,75 ± 4,82	5,5 ± 1,55
p	0,002	0,075	0,733	0,440	0,001

* indica diferenças estatísticas entre os grupos assinalados para um nível de significância de 0,05

Não se observaram efeitos da raça (Tabela 24) sobre a classificação atribuída à MM (Fisher = 25,285; $p = 0,075$; Figura 16), à MI ($p = 0,733$; Figura 17) ou à VT ($p = 0,440$; Figura 18). Salvo alguns casos esporádicos (*outliers*), a mediana da MI manteve-se relativamente próxima entre raças, apesar de a distribuição dos valores a MI na raça Île-de-France ser mais ampla que nas outras raças (Figura 17). Uma situação similar registou-se para a VT, cujas médias se localizam acima de 80% em quase todas as raças, e com a raça Merino Branco a mostrar uma maior amplitude de valores para este parâmetro (Figura 18).

A proporção de espermatozoides com anomalias morfológicas variou em função da raça ($p = 0,001$; Figura 19). Ainda assim, em relação a este último parâmetro, o gráfico de extremos e quartis (Figura 19) evidencia uma variabilidade individual marcada.

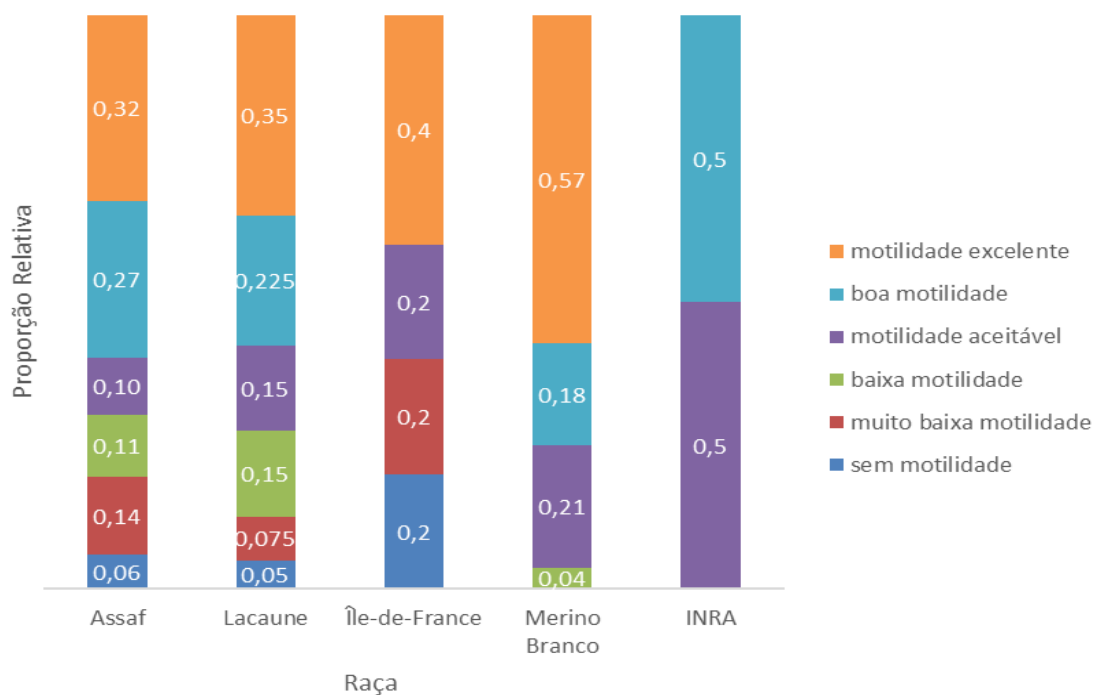


Figura 16 – Proporção relativa de cada categoria de MM segundo a raça (n= 180)

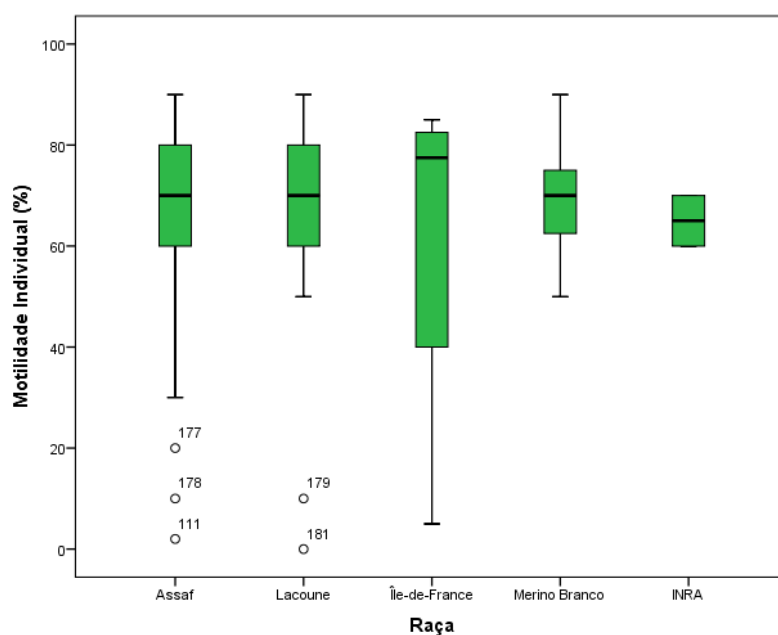


Figura 17 – Variação da MI em função da raça (n= 179)

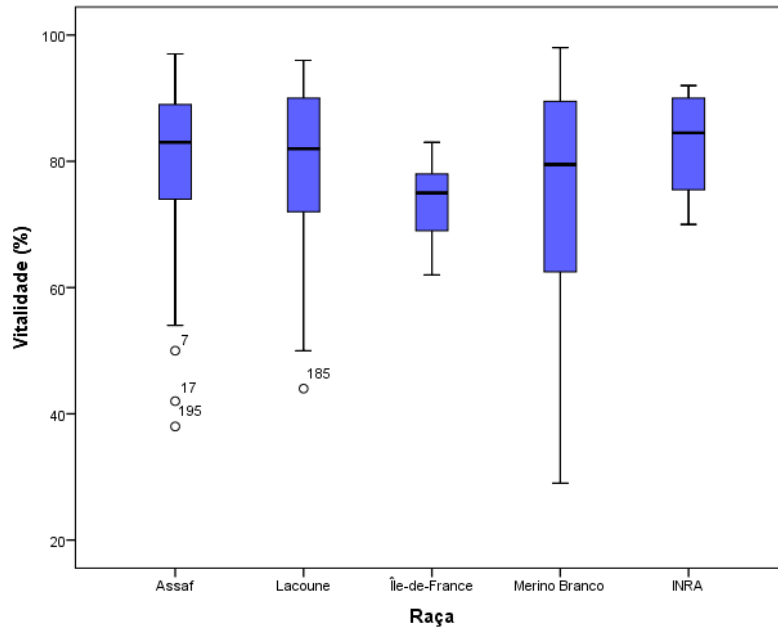


Figura 18 – Variação da VT com a raça (n = 177)

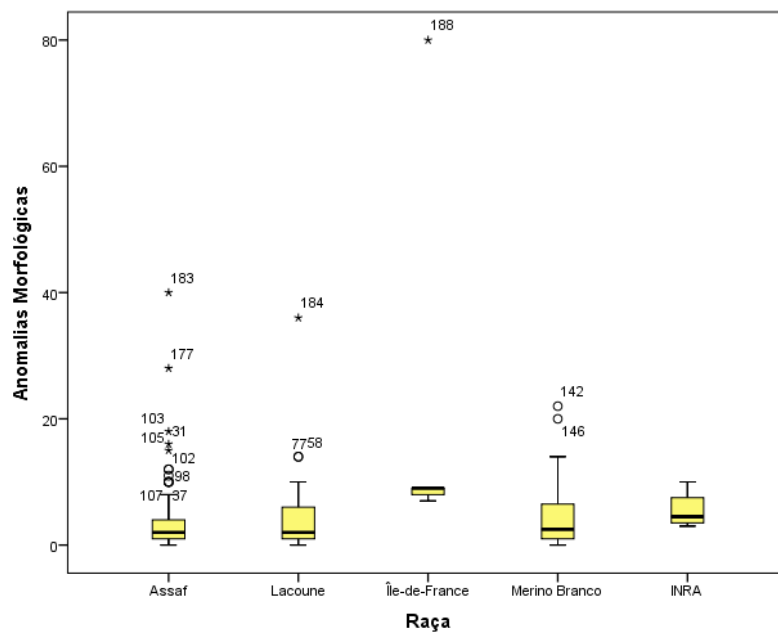


Figura 19 – Variação das AM com a raça (n=176)

Efeito da Idade nos parâmetros avaliados

A Tabela 25 resume os dados relativos aos parâmetros estudados (PE, MM, MI, VT e AM) segundo a idade dos animais submetidos ao exame andrológico. Não foram encontrados efeitos da idade sobre a MM (Fisher = 24,042; $p = 0,709$), a MI ($p = 0,702$; Figura 22) e da VT (p

= 0,946; Figura 23). No entanto encontrou-se uma predisposição para uma variação do PE com a idade do animal ($p = 0,055$; Figuras 20 e 21). Foi a AM o único parâmetro que apresenta variação com a idade ($p = 0,001$; Figura 24).

Tabela 25 - Avaliação descritiva dos parâmetros PE, MM, MI, VT, e AM segundo a idade

Idade	PE (cm)	MM (0-5)	MI (%)	VT (%)	AM (%)
< 1 (n= 5)	30,90 ± 1,382	4,5 [4 ; 5]	77,50 ± 2,5	79 ± 15	4 ± 0
1 (n= 107)	33,26 ± 0,282	4 [2 ; 5]	65,93 ± 1,8	79,95 ± 1,22	4 ± 0,58
2 (n=22)	34,26 ± 0,831	4 [3 ; 4]	67,86 ± 2,058	79,67 ± 2,377	3,19 ± 0,815
3 (n=18)	33,88 ± 0,719	4 [3 ; 4]	64,06 ± 4,47	77,25 ± 3,55	13,50* ± 5
4 (n=23)	34,84 ± 0,60	5 [4 ; 5]	71,50 ± 2,29	80,19 ± 3,02	3,25 ± 0,73
5 (n= 12)	34,86 ± 0,61	4 [3 ;5]	67,73 ± 4,93	75,45 ± 4,39	3,55 ± 0,985
>6	34,05 ± 0,95	5 [2,75 ; 5]	70 ± 4,35	79 ± 6,58	7,80* ± 1,89
p	0,055	0,709	0,702	0,946	0,001

* assinala diferenças estatísticas entre os grupos assinalados para um nível de significância de 0,05

O PE é um pouco mais baixo em animais jovens, tendendo as médias e medianas a estabilizar nas restantes idades. Acima do ano de idade, apesar da variabilidade de valores obtida, as médias e medianas encontradas para idades entre 1 e mais de 6 anos apresentam poucas variações (Tabela 25; Figura 20 e 21).

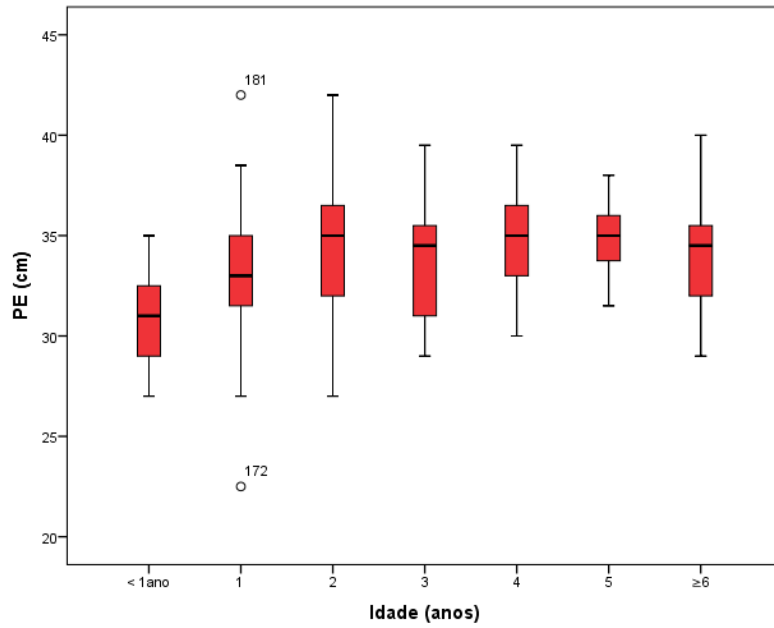


Figura 20 – Variação do PE com a idade (n = 191)

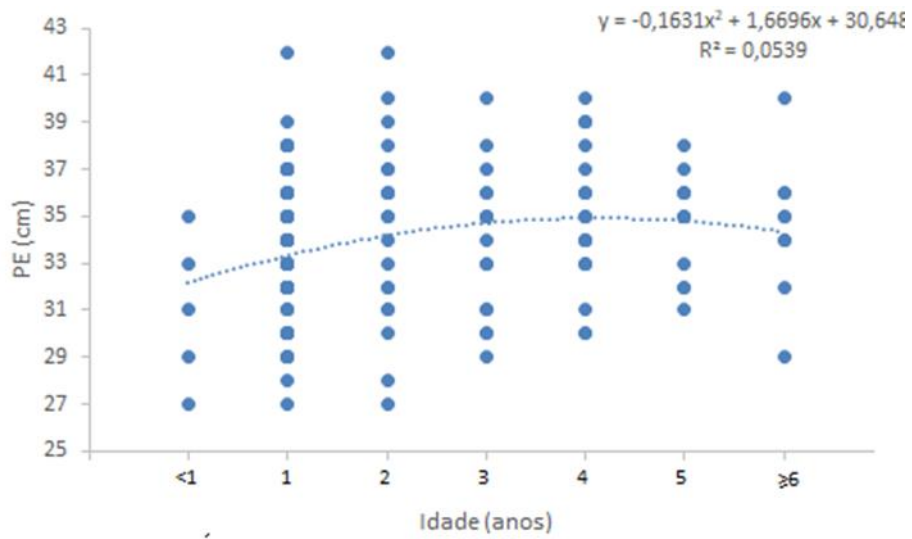


Figura 21 – Regressão Quadrática entre o PE e a idade (n= 191)

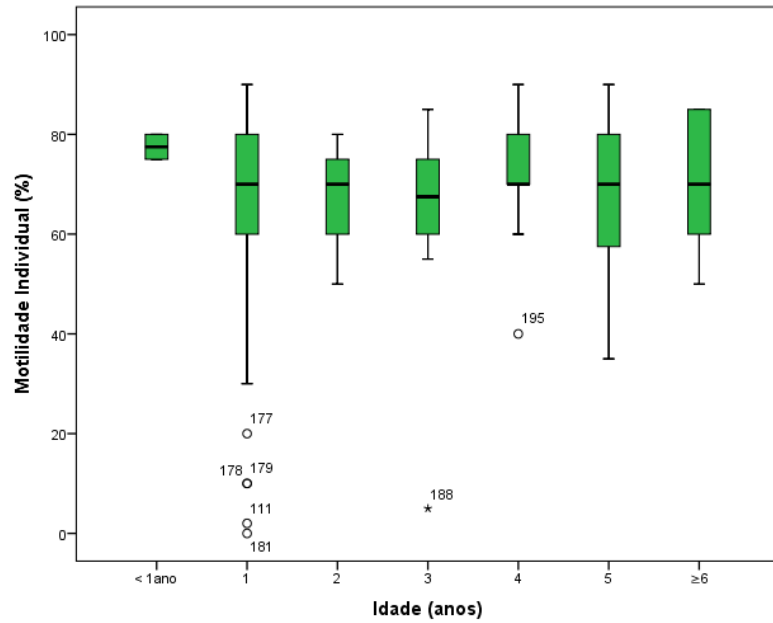


Figura 22 – Variação da MI com a idade (n = 179)

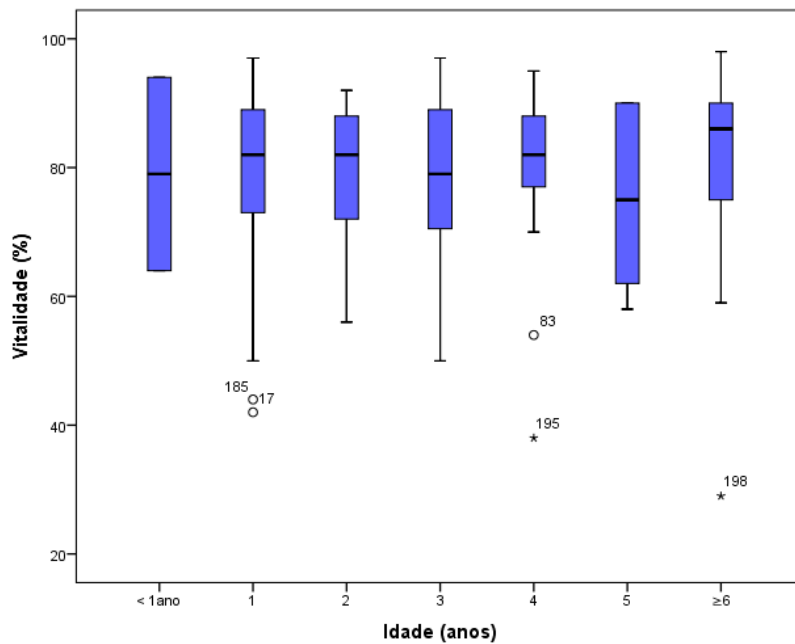


Figura 23 – Variação da VT com a idade (n = 177)

Avaliando o gráfico da Figura 24 verifica-se a ocorrência de uma proporção maior de anomalias espermáticas em animais com 3 e mais de 6 anos de idade. No entanto é também possível confirmar a existência de numerosos *outliers*, sugerindo que a sua ocorrência é aleatória e poderá ser determinada por outros fatores que não a idade.

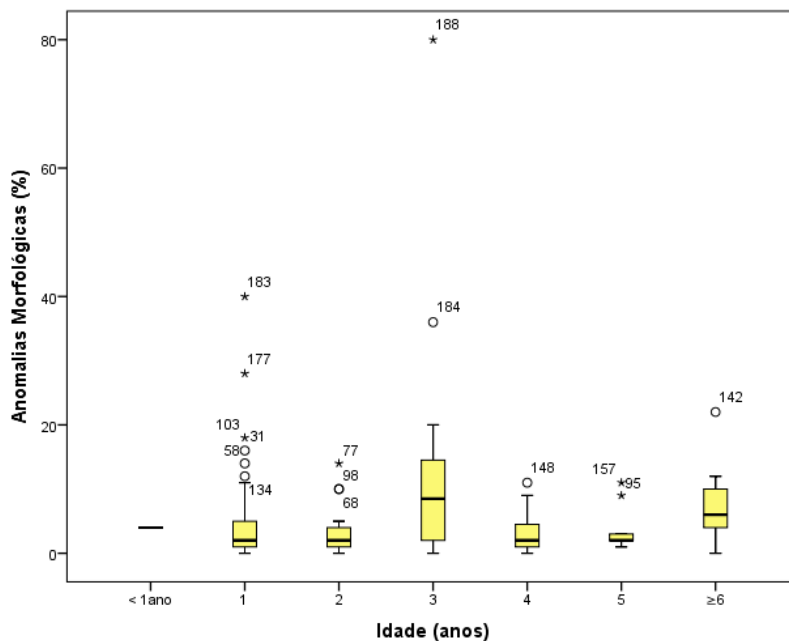


Figura 24 – Variação das AM com a idade (n = 176)

Influência da CC nos parâmetros avaliados

A influência da CC foi avaliada para os parâmetros PE, MM, MI, VT e AM (Tabela 26). O único parâmetro que mostra variação é o PE ($p = 0,007$; Figura 25). Não foi observada relação com a MM (Fisher = 50,610; $p = 0,191$), MI ($p = 0,625$; Figura 26), VT ($p = 0,342$; Figura 27) e AM ($p = 0,920$; Figura 28).

Tabela 26 – Avaliação descritiva dos parâmetros PE, MM, MI, VT, e AM segundo a CC

Idade	PE (cm)	MM (0-5)	MI (%)	VT (%)	AM (%)
1,5 (n= 2)	30,50 ± 3,5	4 [3; 4]	70 ± 0	73 ± 14	0
2 (n= 8)	34,81 ± 0,881	3,5 [1,25; 4,75]	62,13 ± 9,31	82,38 ± 5,19	3,75 ± 1,31
2,25 (n =14)	32,68 ± 0,766	3 [3 ; 5]	65,7 ± 2,61	72,07 ± 4,31	2,93 ± 0,855
2,50 (n=29)	33,07 ± 0,690	4 [3 ; 5]	70,93 ± 1,96	81,11 ± 1,83	4,67 ± 0,793
2,75 (n=26)	32,06 ± 0,59	4 [1,25 ; 5]	66,88 ± 2,58	79,29 ± 2,61	5,04 ± 1,17
3 (n= 47)	34,36 ± 0,412	4 [2 ; 5]	69,64 ± 2,09	79,95 ± 2,19	5,19 ± 1,143
3,25 (n=11)	32,77 ± 0,695	4 [2 ; 5]	59,44 ± 6,84	71,56 ± 5,43	4,50 ± 3,375
3,50 (n=40)	33,69 ± 0,426	5 [5 ; 5]	63,85 ± 3,63	80,89 ± 2,11	6,58 ± 2,32
3,75 (n=5)	36,00 ± 1,387	4 [2 ; 4]	70 ± 3,53	84,60 ± 2,60	1,80 ± 0,2
4 (n=8)	36,06 ± 0,98	3,5 [2 ; 4]	71,25 ± 2,059	81,50 ± 2,40	3,88 ± 0,776
4,50 (n=1)	38,50 ± 0	4 [4 ; 4]	60 ± 0	70 ± 0	10 ± 0

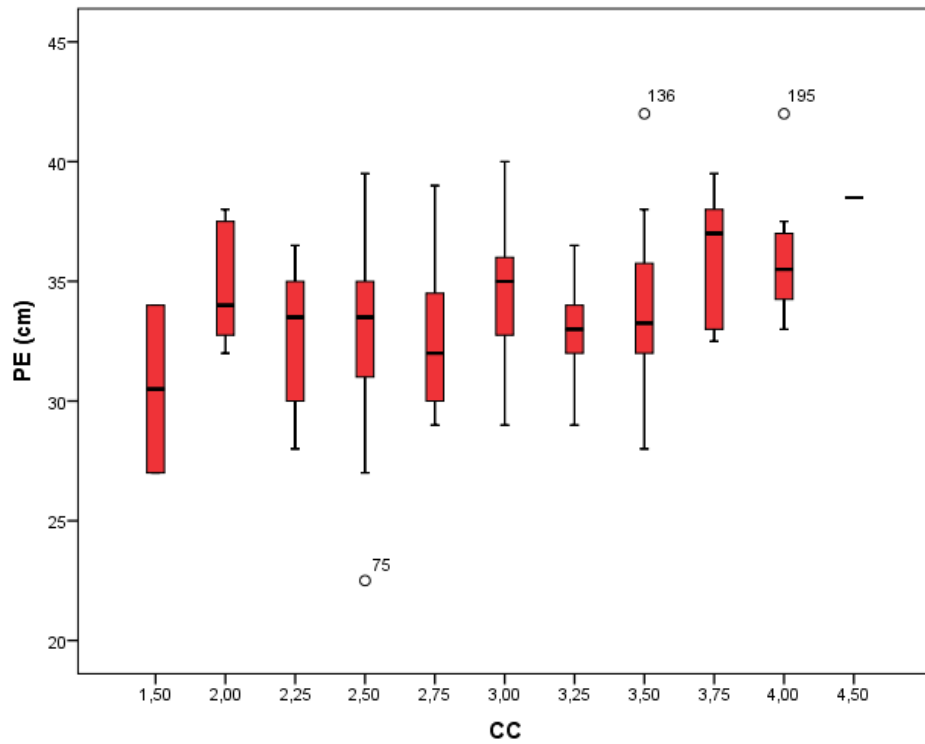


Figura 25 – Variação do PE com a CC (n = 191)

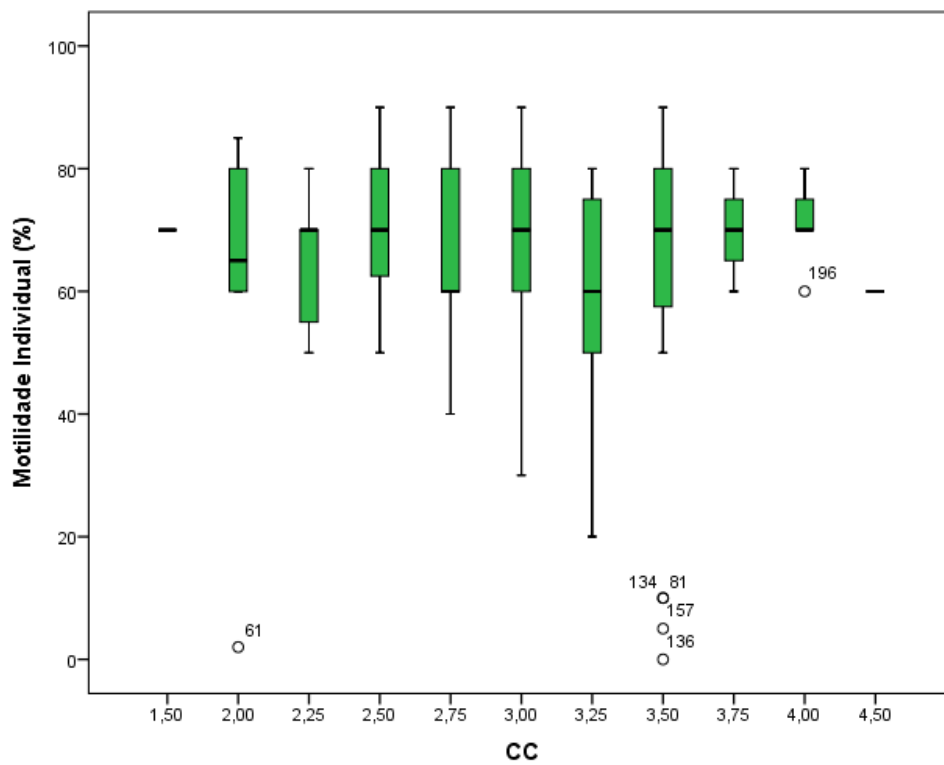


Figura 26 – Variação da MI com a CC (n = 179)

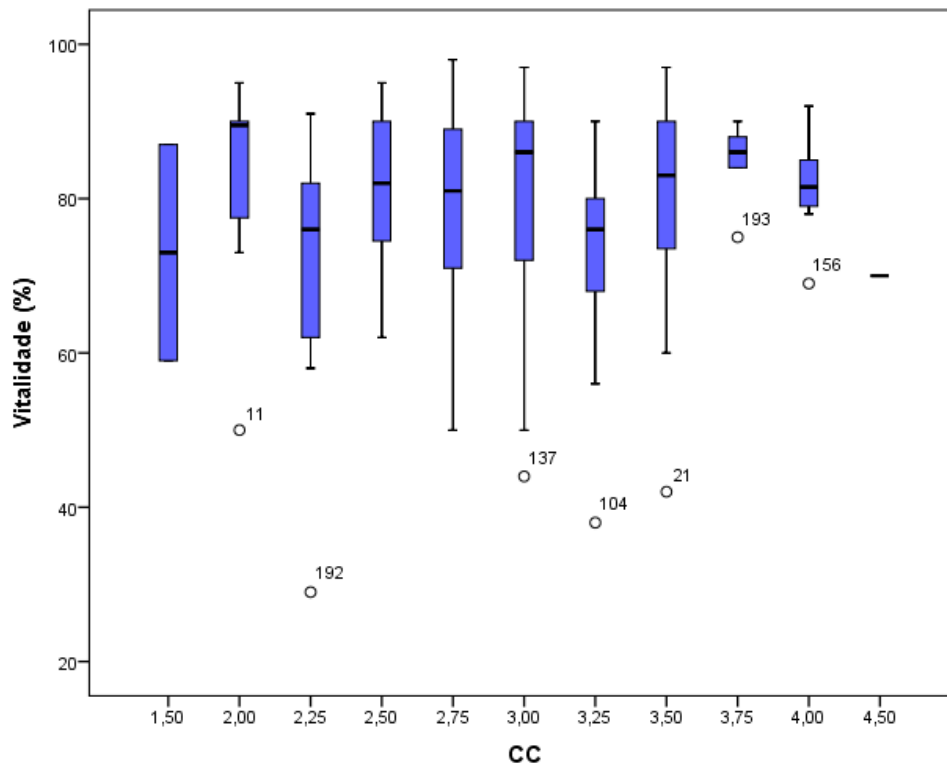


Figura 27 – Variação da VT com a CC (n = 177)

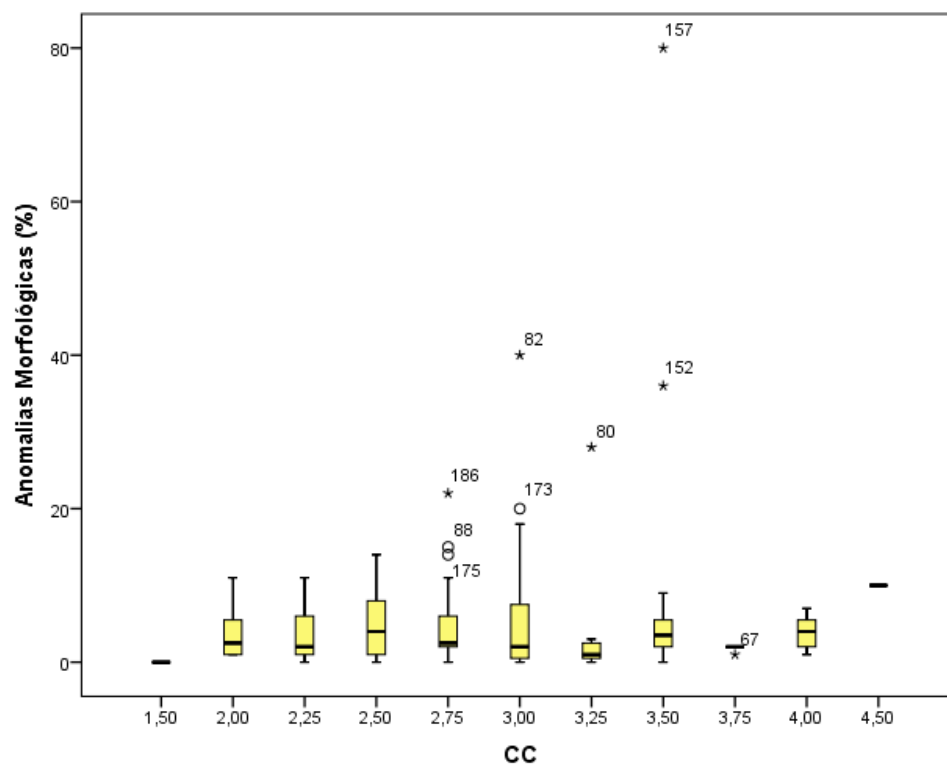


Figura 28 – Variação das AM com a CC (n = 176)

5. Discussão

Neste trabalho, utilizaram-se os dados de 198 exames andrológicos realizados em situações reais de campo, a pedido dos proprietários das explorações, que pretenderam testar a capacidade reprodutiva de carneiros que estão em usos como reprodutores. Na sua maior parte, os animais foram aprovados (84,8%), havendo apenas cerca de 15,2% dos carneiros reprovados. Estes resultados obtidos são semelhantes aos reportados em estudos anteriores. De acordo com Renato et al. (2014), num estudo realizado em 1002 carneiros pertencentes as 21 explorações no Rio Grande de Sul (Brasil) onde a percentagem de carneiros reprovados foi 16,7%. O estudo de Arrebola e Molina (2020), envolvendo 966 carneiros no sul de Espanha, entre Setembro de 2017 e Janeiro de 2019, identificou como inférteis 13,5% dos machos testados. No entanto, há autores, como Van Metre (2012) que obtêm maior número de carneiros reprovados (29,0%). As diferenças encontradas entre estudos poderão ser explicadas por diferenças nos momentos de avaliação dos machos, na dimensão dos efetivos (não contabilizado no caso do presente trabalho), ou nos motivos que presidiram ao pedido de avaliação andrológica. Van Metre (2012) encontrou nos animais sujeitos a exames andrológicos um número particularmente elevado de situações inflamatórias associadas ao trato genital que determinaram a reprovação dos machos.

No presente trabalho, de entre os motivos associados à reprovação no exame físico, os registos usados neste trabalho referem unicamente a anomalias presentes no aparelho reprodutor, nomeadamente PE inferior ao indicado pela Sociedade Internacional de Teriogenologia, ou evidências de lesões de atrofia ou inflamação testicular. Estes dados discordam dos achados de Renato et al (2014), que mencionam ter encontrado uma taxa de reprovação de 12,72% devida a problemas relacionados com a condição corporal dos animais, problemas ao nível dos membros ou dentes, ou ainda ao nível do prepúcio, para além das anomalias de testículo e epidídimo. No entanto, outros estudos reportam taxas de reprovação mais elevadas decorrentes de alterações observadas ao exame físico. MacLaren (1988), num trabalho envolvendo 547 carneiros, encontrou 14,8% dos animais com anomalias no aparelho genital. Também Arrebola-Molina et al, (2020) reportam uma taxa de reprovação de 15,3%, por anomalias testiculares. As diferenças entre taxas de reprovação mencionadas nos diferentes trabalhos podem ser explicadas por vários fatores, tais como o sistema e manejo geral da produção, o estatuto sanitário do rebanho, a condição corporal dos carneiros avaliados, nível nutricional do rebanho, a estação em que foi realizado o exame andrológico e a idade do reprodutor (Jaume, 2006). No caso do presente estudo, os animais das explorações de origem dos carneiros apresentavam estatuto B4 – “oficialmente indemne de brucelose”, o que poderá ter contribuído para uma redução das falhas reprodutivas associadas a brucelose. No entanto, deve salientar-se que no rastreio oficial para pesquisa de Brucelose, apenas se pesquisa *Brucella melitensis*, não havendo pesquisa de *Brucella ovis* pelo que esta não será a única justificação para uma menor proporção de machos reprovados por infertilidade.

Para além das reprovações derivadas de falha no exame físico, no presente trabalho houve ainda animais nos quais não foi conseguido obter um ejaculado, pelo que foram reprovados liminarmente, e outros que não cumpriam os requisitos associados ao espermograma, representando um total de 7,6%. O valor aqui reportado é ligeiramente inferior ao apresentado por Barr (1984), num estudo realizado na Escócia em 1260 carneiros, que refere uma taxa de reprovação no espermograma de 9% dos animais reprovados. No entanto, no estudo de Arrebola-Molina et al. (2010) obtiveram uma proporção de carneiros declarados inférteis com base no exame de sémen de 61,6 % dos animais reprovados. Também o estudo de Van Metre (2012) reporta uma taxa infertilidade devido ao espermograma de 43,8% do total de reprovados, referindo que a amostra avaliada apresenta uma prevalência de 10% de animais positivos para *Brucella ovis*, podendo ser esta uma das causas da reprovação na análise de sémen.

O efeito da época reprodutiva sobre os diferentes parâmetros foi estudado. Apesar de se observarem valores numericamente superiores de PE, MI e VT na estação reprodutiva (dias curtos) do que na contra-estação (dias longos), e valores superiores de AM na contra-estação, estes não assumem significado estatístico. Os efeitos positivos da estação sobre o PE e os restantes parâmetros espermáticos poderá ser explicada pelos efeitos favoráveis do fotoperíodo na época reprodutiva, estimulando a secreção de Hormona foliculo estimulante (FSH), Hormona Luteinizante (LH) e testosterona (T), e diminuindo da prolactina (Pr) (Langford et al., 1987). Apesar dos carneiros manifestarem diferenças na atividade, sendo máxima no outono e diminuída no final do inverno, primavera e verão (Hafez & Hafez 2000), havendo nestes fase diminuição da intensidade do comportamento sexual, diminuição da quantidade e qualidade do ejaculado (Chemineau et al., 1996), há autores que defendem que a sazonalidade não é muito marcada em climas temperados, o que permite partos em quase todo o ano (Chemineau et al., 1991), e justificando o facto de não existirem, para algumas raças e em determinadas regiões, diferenças significativas nos parâmetros espermáticos entre as duas estações (Hill et al., 1998).

A raça exerceu influência no PE ($p = 0,002$) concordando com os estudos que relatam diferenças de PE consoante a raça. Mert et al. (2009), para as raças Norduz, Karakas, e Île-de-France x Akkaraman, e Renato et al. (2014) para as raças Merino Australiano, Corriedale, Poll Dorset, Suffolk e Texel, mencionam diferenças inter-raciais no PE. Nas raças autóctones Bordaleira de Entre o Douro e Minho e Churra do Minho, o valor do PE também apresenta valores diferentes conforme a raça (Bettencout et al., 2018a, Bettencourt et al. 2018b). Os valores médios de PE disponíveis para diferentes raças encontram-se listadas na Tabela 27.

Os valores médios de PE encontrados na raça Assaf (33,45 cm) são concordantes com o intervalo de valores mencionado na bibliografia [30,37cm em Palacios et al. (2016) e 35 cm em Fernández et al. (2004)]. Os carneiros de raça Lacaune apresentaram um valor médio de PE (34,26 cm) ligeiramente maior do que os de raça Assaf, e muito próximo dos mencionados por Oberst et al. (2011), que apresenta valores entre 31,1 e 34,1 cm em contra-estação e em estação reprodutiva, respetivamente. O valor médio do PE dos machos de raça Île-de-France (34,80 cm) estão próximos dos valores apresentados pela raça Lacaune, mas foram um pouco mais baixos

do que o referido por Toe et al. (1994) (35,4 cm). A média do PE registado para os animais de raça Merina foi o mais baixo do lote de animais avaliado neste trabalho (32,69 cm), mas é concordante com os valores mencionados por Murray et al. (1990), que indica um valor de PE de 32,6 cm para a raça. Em oposição, os carneiros INRA apresentaram um valor médio de PE superior aos das restantes raças avaliadas (38,63 cm) e ainda é superior aos 37,08 cm mencionados por Benmoula et al. (2017).

Tabela 27 – Valores de PE obtidos em estudos para diferentes raças

Raça	PE (cm)	Referência
Norduz	33,08	Mert et al., 2009
Karakas	33,75	
Île-de-France x Akkaraman	35,6	
Merino Australiano	31,33	Renato et al., 2014
Corriedale	31,5	
Poll Dorset	36,62	
Suffolk	34,93	
Texel	32,51	
Bordaleira de Entre o Douro e Minho	28,5	Bettencourt et al., 2018 a
Churra do Minho	24,7	Bettencourt et al., 2018 b

Os valores apresentados sustentam o efeito da raça no PE, sugerindo que para cada raça poderá ser necessário ajustar os limiares que distinguem um reprodutor apto de um não- apto no ato de emissão de certificado do exame andrológico. A variação do perímetro testicular poderá ser explicada por diferenças na conformação e peso adulto estimado para uma raça, e ainda com a condição corporal do animal. Em algumas raças com perímetros escrotais médios mais elevados poderá vir a ser necessário ajustar o valor do limiar do PE que determina a classificação do macho como apto. No entanto, existe ainda insuficiente informação sobre algumas raças, que não facilita a utilização deste critério, sugerindo a existência de interesse na realização de mais estudos para padronizar o PE das várias raças em uso em distintas regiões.

Apesar de se ter detetado a existência de um efeito da raça sobre a ocorrência de anomalias espermáticas ($p = 0,001$), a grande dispersão de valores dificulta a discussão desses resultados. A existência de um número considerável de valores *outliers* nos gráficos apresentados sugere a existência de uma variabilidade individual grande na ocorrência de AM, apontando para a possível existência de outros fatores envolvidos neste efeito, nomeadamente a idade dos animais, a exploração de origem ou o estatuto sanitário do reprodutor. A causa que mais frequentemente contribui para um elevado número de anomalias espermáticas é a

degenerescência testicular, tendo como causa principal o desequilíbrio térmico que impede a uma normal produção de espermatozoides. Apesar de ter uma etiologia complexa e multifatorial, a degenerescência testicular que pode ser originada por doenças sistêmicas, por processos infecciosos a nível do escroto, testículos ou epidídimos, traumatismos ou excesso de concentrado na alimentação, acompanha-se muitas vezes de uma perturbação da termorregulação (Jaume, 2006; Tibary et al., 2018). Para determinar a origem destas AM, e o seu impacto na fertilidade do animal, seria necessário realizar uma avaliação mais detalhada do animal e do ambiente em que se encontra, analisando questões de manejo e rastreio de doenças infecciosas. Contudo, nem sempre este trabalho é pretendido pelo proprietário, que procura uma recuperação mais imediata do animal, ou é justificado pelo valor económico do animal na exploração.

A idade não exerceu efeito aparente sobre a maioria dos parâmetros seminais avaliados. Já o PE apresentou uma tendência para ser afetado pela idade ($p = 0,055$), com os animais de idade inferior a um ano a apresentarem PE mais baixos do que animais maduros e que animais com idades mais avançadas (igual ou superior a 6 anos) apresentam diminuição do PE. Estes resultados são concordantes com outros estudos disponíveis na literatura (Souza et al., 1997; Elmaz et al. 2008; Al-kawmani (2019), que comprovam que o PE aumenta com a idade. Em idades mais avançadas o PE apresenta-se ligeiramente diminuído, podendo esse facto estar associado a ligeira degenerescência testicular.

A idade afetou a incidência de AM ($p = 0,001$) Apesar da grande variação de valores, observou-se uma maior concentração de anomalias espermáticas em animais de três anos e em animais com mais de 6 anos. No caso dos carneiros mais velhos é expectável que o número de anomalias morfológicas seja superior porque poderá estar a degenerescência testicular ligeira. No entanto, nas outras situação, estas poderão estar associadas a outros fatores para além da idade, sugerindo uma etiologia multifatorial (Jaume, 2006). Situações traumáticas, desequilíbrios na dieta, e os efeitos ambientais são alguns dos fatores que podem estar subjacentes a esta alteração. Em animais muito jovens poder-se-ia esperar maior número de formas anómalas do que os carneiros de mais idade, uma vez que a qualidade do sémen é melhor em carneiros adultos do que em carneiros que se encontre no período pós-púbere (Osinowo et al., 1988). No entanto, esta situação não se verificou no estudo agora descrito.

No que respeita à CC esta apenas mostrou influencia com o PE ($p = 0,007$), o que é concordante com a bibliografia consultada. Um exemplo é o estudo realizado por Al-kawmani (2019) em carneiros Naemi que mostra que existe em correlação positiva entre estes dois parâmetros. Outro estudo realizado por Akpa et al. (2012) em carneiros Yankasa onde foi igualmente encontrado uma relação positiva e significativa entre o PE e CC.

6. Conclusão

Através deste estudo conseguimos concluir que a percentagem de carneiros inférteis presentes nas explorações analisadas na região do Alentejo foi aproximadamente 15%, valor que se encontra em conformidade com outros estudos de cariz semelhante. O exame

andrológico é uma forma fácil e eficaz de avaliar o potencial reprodutivo no macho devendo ser realizado regularmente para obter garantias por parte dos proprietários aquando da colocação dos animais à reprodução, quando se adquire um reprodutor ou quando existe uma suspeita de infertilidade no efetivo. É importante identificar estes animais com fertilidade reduzida ou inférteis, sob o prejuízo de comprometer a fertilidade do rebanho e comprometer rentabilidade da exploração, sendo competência do médico veterinário aos proprietários a realização desta avaliação.

No entanto, mais estudos que poderão ser realizados no âmbito do potencial reprodutivo do carneiro, como por exemplo uma caracterização mais aprofundada em diferentes raças, sempre com a finalidade de obter melhores critérios de avaliação andrológica e apoiar a seleção dos animais, indiretamente contribuindo para a economia das explorações.

7. Bibliografia

- Aalseth, E. P., & Saacke, R. G. (1985). *Morphological change of the acrosome on motile bovine Spermatozoa due to storage at 4°C*. *Journal of Reproduction and Fertility*, 74 (2), 473-478 <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0740473>
- Ahmad, N., & Noakes, D. E. (1995). *A clinical and ultrasonographic study of induced testicular and epididymal lesions in goats and a ram*. *Animal Reproduction Science*, 39(1), 35–48. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(95\)01378-D](https://doi.org/10.1016/0378-4320(95)01378-D)
- Akpa, G. N., & Alphonsus, C. (2012). *Relationships between body and scrotal measurements, and semen characteristics in Yankasa ram*. *Wilolud Journals*, 4(1), 7–10. <https://doi.org/10.5707/cjavres.2012.4.1.7.10>
- Al-kawmani, A. A. (2019). *Testicular Parameters and Scrotal Measurements in Relation to Age and Body Weight in Growing Naemi-Rams*. *Journal of Applied Sciences*, 19(6), 605–611. <https://doi.org/10.3923/jas.2019.605.611>
- Amann, R. P., & Katz, D. F. (2004). *Reflections on CASA after 25 Years*. *Journal of Andrology*, 25(3), 317–325. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2004.tb02793.x>
- Arrebola-Molina, F. A., Sánchez-Gómez, A., Querino-Santiago, F. J., Pérez-Marín, C., Borjas-Muñoz, F., & Abecia, J. A. (2020). *Semen characteristics of a ram population in southern Spain: An on-farm program of elimination of low-fertility males diagnosed by electroejaculation*. *Small Ruminant Research*, 183 (December 2019), 106038. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.106038>
- Arruda, R., Silva, D., Affonso, F., Lemes, K., Jaimes, J., Alonso, M., Carvalho, H., Oliveira, L., & Nascimento, J. (2011). *Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros*. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 35(2), 145–151.
- Barbas, J., Sousa, J., & Ferreira, G. (2001). *Variação anual das características seminais de carneiros Merino Regional e Serra da Estrela em sêmen fresco*. *Revista Portuguesa de Zootecnia*, 8(1), 312–323, disponível em http://horta.0catch.com/aemh/carneiro_rev_port_zoot_2001.pdf, consultado a 21/05/2021
- Barbosa, J. C. (2000). *O sistema tradicional de exploração de ovinos em Bragança*, Instituto Politécnico de Bragança, disponível em:

<https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/204/1/46%20-%20O%20sistema%20trasicional%20de%20explora%C3%A7%C3%A3o%20de%20ovinos%20em%20Bragan%C3%A7a.pdf>, consultado a 12/04/2021

Baril, G., Chemineau, P., Cognie, Y., & Orgeur, P. (1993). *Étude FAO et Santé Animales, Organisation des Nations Unies pour l' alimentation et l' agriculture*, disponível em: www.fao.org/3/t0121f/t0121f.pdf , consultado a 25/04/2021

Barth, A. D. (2006). *Evaluation of Potential Breeding Soundness of the Bull. In Current Therapy in Large Animal Theriogenology: Second Edition (Second Edition)*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-072169323-1.50034-9>

Barr, W. M. (1884). *Assessment of ram fertility in hill flocks in Argyll. The Veterinary Record* 1984 Jun 16;114(24):587-90. [https://doi: 10.1136/vr.114.24.587](https://doi:10.1136/vr.114.24.587)

Benmoula, A., Badi, A., El Fadili, M., EL Khalil, K., Allai, L., El Hilali, A., & El Amiri, B. (2017). *Effect of season on scrotal circumference, semen characteristics, seminal plasma composition and spermatozoa motility during liquid storage in INRA180 rams. Animal Reproduction Science*, 180, 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.02.008>

Bergstein, T. G., Weiss, R. R., & Bicudo, S. D. (2015). *Técnicas de análise de sêmen. Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 38(4), 189–194.

a) Bettencourt, C., Bettencourt, E., Silva, D., Lalanda, H., Vitor, M., Monteiro, N., & Romão, R. (2018). *Caracterização de ejaculados de carneiros de raça Bordaleira de Entre o Douro e Minho utilizados em programa de conservação genética em Portugal. XI CONGRESSO IBÉRICO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS ANIMALES*, 91.

b) Bettencourt, C., Bettencourt, E., Romão, R., Lalanda, H., Vitor, M., Monteiro, N., & Silva, D. (2018). *Caracterização de ejaculados de carneiros de raça Churra do Minho utilizados em programa de conservação genética em Portugal. XI CONGRESSO IBÉRICO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS ANIMALES*, 156.

Blanch, E. L., Amann, R. P., Bowen, R. A., & Frantz, D. (1988). *Changes in Quality of Stallion Spermatozoa During Cryopreservation: Plasma Membrane and Motion Characteristics. Theriogenology*, 31, 283–298. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0093-691X\(89\)90533-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0093-691X(89)90533-5)

Blanchard, T.L., & Varner, D.D., (1996). *Evaluating breeding soundness in stallions 4: hormonal*

- assay and testicular biopsy. *Vet. Med.* 91, 358–365.
- Blockey, M. A., & Wilkins, J.F. (1984). *Field application of the ram serving capacity*. In: D. Lindsay y D.T. Pearce (eds.): *Reproduction in sheep*. Australian Academy of Science, Camberra, Australia.
- Blom, E. (1950). *Interpretation of spermatic cytology in bulls*. *Fertility and Sterility*, 1(3), 223–238. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)30183-2](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)30183-2)
- Blom E. (1983); *Pathological conditions in genital organs and sperm as a cause for the rejection of the breeding bulls for import to and export from Denmark*, *Nordisk Veterinaermedicin*. 35:105-30
- Boukhliq, R., Allali, K. El., & Tibary, A. (2018). *Gross anatomy and ultrasonographic examination of the reproductive organs in rams and bucks*. *Acta Scientiarum: Agronomy*, 2, 226–240.
- Burfening, P. J., & Rossi, D. (1992). *Serving capacity and scrotal circumference of ram lambs as affected by selection for reproductive rate*. *Small Ruminant Research*, 9(1), 61–68. [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(92\)90056-A](https://doi.org/10.1016/0921-4488(92)90056-A)
- Caldeira, R.M.V.H. (1992). *A condição corporal em Ovinos: sua Avaliação e Interesse do seu Conhecimento no Maneio dos Rebanhos*, *Veterinária Técnica*, 3: 14-18.
- Campos Ferra, J., & Bezerra Sereno, J. R. (2006). *Inseminação Artificial em Ovinos*. EMBRAPA, documento 156. *Embrapa*, 24., disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/570019/1/doc156.pdf>, consultado a 15/04/2021
- Chagas e Silva, J.N. (1992). *Inseminação artificial em ovinos*. *Colectânea S.P.O.C.*, 3 (1): 61-80
- Chenoweth, P. J. (1981). *Libido and mating behavior in bulls, boars and rams. A review*. *Theriogenology*. 16(2), 155–177. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(81\)90098-4](https://doi.org/10.1016/0093-691X(81)90098-4).
- Cheboweth, P. J, Hopkins, F. M., Spitzer, J. C., SC, U., & Larsen, R. E. (2010). *Guidelines for using the canine breeding soundness evaluation form*. *Proceedings of the Annual Meeting - Society for Theriogenology*, 10 (January 2010), 43–50.
- Chemineau, P., Cagnié, Y, Guérin, Y., Orgeur, P., & Vallet, J-C. (1991). *Training manual on artificial insemination in sheep and goats*. *FAO Animal Production and Health Paper*, 83.

Editor: Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

- Chemineau, P., Malpoux, B., Pelletier, J., Leboeuf, B., Delgadillo, J. A., Deletang, F., Pobel, T., & Brice, G. (1996). *Use of melatonin implants and photoperiodic treatments to control seasonal reproduction in sheep and goats. Productions Animales*, 9(1), 45–60.
- Cruz, F. P. (2002). *Sistema de produção de ovinos. Monografia de Estágio*, 1–45. <https://www.bibliotecaagpatea.org.br/zootecnia/ovinocultura/livros/SISTEMAS%20DE%20PRODUCAO%20DE%20OVINOS.pdf>
- Czubaszek, M., Andraszek, K., Banaszewska, D., & Walczak-Jędrzejowska, R. (2019). *The effect of the staining technique on morphological and morphometric parameters of boar sperm. PLoS ONE*, 14(3), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214243>
- De Vos, A., Van de Velde, H., Joris, H., Verheyen, G., Devroey, P., & Van Steirteghem, A. (2003). *Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology, and pregnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection. Fertility and Sterility*, 79(1), 42–48. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(02\)04571-5](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(02)04571-5)
- DGAV – Direção Geral de Alimentação e Veterinária – *Programa Sanitário Atual*, www.dgav.pt/animais/conteudo/animais-de-producao/bovinos/opp-organizacao-de-produtores-pecuarios/, consultado a 14/04/2021
- Diskin, M. G. (2018). *Examination of bulls for breeding soundness. Animal & Grassland Research and Innovation Programme Examination*, 70. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1967.tb08901.x>
- Dyce, K. M., Sack, W. O., & Wensing, C. J. G. (2004). *Tratado de Anatomia Veterinária* (ELSEVIER (ed.); 3ª), p:690-699.
- Edmondson, M. A., Roberts, J. F., Baird, A. N., Bychawski, S., & Pugh, D. G. (2012). *Theriogenology of Sheep and Goats. In Sheep and Goat Medicine (Second Ed)*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-2353-3.10008-3>
- Elmaz, Ö., Dikmen, S., Cirit, Ü., & Demir, H. (2008). *Prediction of postpubertal reproductive potential according to prepubertal body weight, testicular size, and testosterone concentration using multiple regression analysis in Kivircik ram lambs. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 32(5), 335–343, disponível em <https://dergipark.org.tr/pub/tbtkveterinary/issue/12524/151001>, consultado a 05/07/2021.

- Evans, G., & Maxwell, W.M.C. (1987). *Salamon's Artificial Insemination of sheep and goats*. Butterworths Pty Limited, Sydney, Australia
- Freitas de Salla, P., Franciosi Ferreira, B., & Gomes Barbieri, M.; (2016); *Exame Andrológico em carneiros Corriedale complementados pelo teste de capacidade de serviço, no município de Acegua, RS: NOTATECNICA. XLIV Jornadas Uruguaias de Buiatria 2016*. <http://dspace.fvet.edu.uy:8080/xmlui/handle/123456789/1345>
- Fernández, M., Giráldez, F. J., Frutos, P., Lavín, P., & Mantecón, A. R. (2004). *Effect of undegradable protein supply on testicular size, spermogram parameters and sexual behavior of mature Assaf rams*. *Theriogenology*, 62(1–2), 299–310. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.10.003>
- Foster, R. A., Ladds, P. W., Hoffmann, D., & Briggs, G. D. (1989). *The relationship of scrotal circumference to testicular weight in rams*. *Australian Veterinary Journal*, 66(1), 20–22. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1989.tb09707.x>
- Gouletsou, P. G., Amiridis, G. S., Cripps, P. J., Lainas, T., Deligiannis, K., Saratsis, P., & Fthenakis, G. C. (2003). *Ultrasonographic appearance of clinically healthy testicles and epididymides of rams*. *Theriogenology*, 59(9), 1959–1972. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01259-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01259-1)
- Gouletsou P.G., & Fthenakis G.C. (2010). *Microbial diseases of the genital system of rams or bucks*. *Vet. Microbiol.*, 181: 130-135
- GPP – Gabinete de Planeamento, Política e Administração Geral (2020), *Análise setorial carne de ovino e caprino, 1-25*, disponível em: https://www.gpp.pt/imges/PEPAC/Anexo_NDICE_ANLISE_SETORIAL_OVINOS_E_CAPRINOS.pdf, consultado a 15/08/2021
- Gravance, C. G., Champion, Z. J., & Casey, P. J. (1998). *Computer-assisted sperm head morphology analysis (ASMA) of cryopreserved ram spermatozoa*. *Theriogenology*, 49(6), 1219–1230. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00069-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00069-7)
- Griffiths, K.J., & Ridler, A. . (2015). *Ram breeding soundness examination*. 20(6), 341–344. <https://doi.org/10.12968/live.2015.20.6.341>
- Hackett, A. J., & Macpherson, J. W. (1965). *The Canadian Veterinary Journal*, 6(2), 113–114.

- Hafez, B., & Hafez, E. S. E. (2000). *Reproducción e Inseminación Artificial em animales*. 7ª Edição Editora M.-H. Interamericana
- Hansen, G. R. (2006). *Managing Bull Fertility in Beef Cattle Herds*. University of Florida. *IFAS Extension*. (pp. 1-9), disponível em https://IFAS_bull_fertility.pdf (floridacattleranch.org), consultado a 21/04/2021
- Hill, J.R., Thompson, J.A., & Perkins, N.R. (1998). *Factors affecting pregnancy rates following laparoscopic insemination of 28 447 Merino ewes under commercial conditions: a survey*. *Theriogenology*, 49: 697-709.
- Ibarra, D., Laborde, D., Olivera, J., Van Lier, E., & Burgueño, J. (1999). *Comparación de tres pruebas para medir la capacidad de servicio en carneros adultos*. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 31(2), 189–196. <https://doi.org/10.4067/s0301-732x1999000200005>
- IFAP – Instituto de Financiamento da Agricultura e Pescas (2020) - Declarações de Existências de Ovinos e Caprinos, disponível em www.ifap.pt/estatisticas-animais, consultado a 2/04/2021.
- INE- Instituto Nacional de Estatística. (2018). *Estatística agrícola 2018*, disponível em: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOES-tipo=ea&PUBLICACOEScolecao=107660&xlang=pt; consultado a 17/08/2021
- INE - Instituto Nacional de Estatística. (2020). *Recenseamento agrícola 2019*. 9–10, disponível em: https://www.ine.pt/ngt_server/attachfileu.jsp?look_parentBoui=470381668&att_display=n&att_download=y; consultado a 17/08/2021
- Jaume, C. M. (2006). *Como melhorar a fertilidade dos rebanhos ovinos através de maiores cuidados com os carneiros*. *October 2017*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.26450.04807>
- Jefferies, B.C. (1961). *Body condition scoring and its use in management*. *Tasmanian Journal of Agriculture* **32**, 19–21.
- Jha, P. K., Golam Shahi Alam, M., Abdullah Al Mansur, M., Taohidul Islam, M., & Yeasmin Bari, F. (2018). *Selection of breeding rams by evaluating semen quality*. *Journal of Applied Animal Science*, 11(1), 9–20.

- Kenyon, P. R., Maloney, S. K., & Blache, D. (2014). *Review of sheep body condition score in relation to production characteristics*. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 57(1), 38–64. <https://doi.org/10.1080/00288233.2013.857698>
- Kimberling, C. V., & Parsons, G. A. (2006). *Breeding Soundness Evaluation and Surgical Sterilization of the Ram*. In *Current Therapy in Large Animal Theriogenology: Second Edition (Second Ed)*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-072169323-1.50088-X>
- Langford, G. A., Ainsworth, L., Marcus, G. J., & Shrestha, J. N. (1987). *Photoperiod entrainment of testosterone, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and prolactin cycles in rams in relation to testis size and semen quality*. *Biology of Reproduction*, 37(2), 489–499. <https://doi.org/10.1095/biolreprod37.2.489>
- LeaMaster BR, & DuPont MW. (2007), *Bull Power: Examination of Beef Cattle Bulls for Breeding Soundness*. *College of Tropical Agriculture and Human Resources (CTAHR)*. Department of Human Nutrition, Food and Animal Sciences. Livestock Management. L-17. April 2007.
- Londrina, U. E. de. (2015). *Simpósio de Ovinocultura I, II e III*. In *Simpósio de Ovinocultura da Universidade Estadual de Londrina*, disponível em: http://paineira.usp.br/lae/wp-content/uploads/2017/07/e-book_SIMPÓSIO-DE-OVINOCULTURA_UEL_2015.pdf, consultado a 25/04/2021
- Lopate, C., Threlfall, W. R., & Rosol, T. J. (1989). *Histopathologic and gross effects of testicular biopsy in the dog*. *Theriogenology*, 32(4), 585–602. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(89\)90280-X](https://doi.org/10.1016/0093-691X(89)90280-X)
- Lovatt, F. M. (2010). *Clinical examination of sheep*. *Small Ruminant Research*, 92(1–3), 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.04.020>
- Lupton, C. J. (2008). *ASAS Centennial paper: Impacts of animal science research on United States sheep production and predictions for the future*. *Journal of Animal Science*, 86(11), 3252–3274. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1148>
- Marian, B. M., Stefan, G. I., Adrian, M. I., & Glad, M. (2012). *Research Regarding Evaluation of Ram's Semen, Collected by Electroejaculation, out of the Breeding Season*. *Adult males of many ruminant species present import and changes of involution and growth of testicular volume in season and out of the breeding se*. 52–59.
- Martins, R. D., McManus, C., Carvalhêdo, A. S., Borges, H. V., Silva, A. E. D. F., & Santos, N. R.

- dos. (2003). *Avaliação da sazonalidade reprodutiva de carneiros Santa Inês criados no Distrito Federal. Revista Brasileira de Zootecnia*, 32(6 suppl 1), 1594–1603. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982003000700008>
- Matos, D. L., Araújo, A. A., Roberto, I. G., & Toniolli, R. (2009). *Análise computarizada de espermatozoides : revisão de literatura. Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 32(4), 225–232.
- Mendon, P., Dra, U., Figueiras, A. P., Lopes, D. D., Veterin, C., Prof, S., Filipe, D., Prof, G., Pires, D. I., Prof, U., Lu, D., Dra, U., Monteiro, M., Prof, I., Miguel, D., Lima, S., & Maur, R. (2012). In *Guia sanitário para criadores de pequenos ruminantes*. Álvaro Mendonça (Ed) Edição : Instituto Politécnico de Bragança, 9.
- Menzies, Paula I. (2006). *Reproductive Health Management Programs in Breeding Soundness Evaluation and Surgical Sterilization of the Ram. In Current Therapy in Large Animal Theriogenology: Second Edition (Second Ed)*. Elsevier P:701-714
- Mert, H., Karakus, K., Yilmaz, A., Aygun, T., Mert, N., Apaydin, B., & Seyhan, E. (2009). *Effects of genotype on testis, semen quality, and mineral composition of semen in various ram breeds. Biological Trace Element Research*, 132(1–3), 93–102. <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8393-y>
- Moraes, J. C. F., & Souza, C. J. H. de. (2016). *A Variabilidade do Tamanho Testicular dos Carneiros Crioulos Lanados. Comunicado Técnico 91 Embrapa, January*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30434.63689>
- Moraes, J. C. F., Silva, J. F. da, Piegas, M.S., & Martins, S.C.R. (1981). *Considerações sobre o exame andrológico em carneiros. Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 5(1-2), 9-15.
- Mortimer ST. (2000); Casa- *Practical aspects. Journal Andrology*, p.515-524 <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2000.tb02116.x>
- Mozo, R., Galeote, A. I., Alabart, J. L., Fantova, E., & Folch, J. (2015). *Evaluating the reproductive ability of breeding rams in North-Eastern Spain using clinical examination of the body and external genitalia. BMC Veterinary Research*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0600-9>
- Murray, P. J., Rowe, J. B., Pethick, D. W., & Adams, N. R. (1990). *The effect of nutrition on testicular growth in the Merino ram. Australian Journal of Agricultural Research*, 41(1), 185–

195. <https://doi.org/10.1071/AR9900185>

Noakes, D., Parkinson, T., & England, G. (2009). *Veterinary reproduction and obstetrics*, Ed.Elsevier; Ninth Edition; P: 716-764

Oberst, E. R., Smirdele, W. A., Brito, M. A., Marschner, T. R., Ribeiro, L. A., & Mattos, R. C. (2011). *Seasonal variation in semen quality of lacaune rams in Brazil*. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 48(4), 319–324. <https://doi.org/10.11606/s1413-95962011000400007>

Oliveira, A. A.; *Manejo Profilático da Pododermatite Contagiosa e de Problemas Gerais dos Cascos de Ovinos e Caprinos*. Aracaju: Embampa Tabuleiros Costeiros 1999, 26 p

Osinowo, O. A., Ahmed, M. S., & Ekpe, G. A. (1988). *Semen quality and sperm output of Yankasa rams at different ages*. *Theriogenology*, 29(2), 381–386. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(88\)90241-5](https://doi.org/10.1016/0093-691X(88)90241-5)

Ott, R. S., & Memon, M. A. (1980). *Breeding soundness examinations of rams and bucks, a review*. *Theriogenology*, 13(2), 155–164. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(80\)90124-7](https://doi.org/10.1016/0093-691X(80)90124-7)

Pacheco, C. Q. (2010). *Comportamento sexual em ovinos*. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.34, n.2, 87-97. www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v34n2/p87-97.pdf.

Páez-Barón, E. M., & Corredor-Camargo, E. S. (2014). *Evaluación de la aptitud reproductiva del toro*. *Ciencia Y Agricultura*, 11(2), 49. <https://doi.org/10.19053/01228420.3837>

Palacios, C., Álvarez, S., Martín-gil, J., & Abecia, J. (2016). *Plasma Hormonal Levels of Rams are Affected by Sexual Activity and Confinement in a Semen Collection Centre*. *ARC Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2(2), 15–21. <https://doi.org/10.20431/2455-2518.0202002>

Pardos, L., Maza, M. T., Fantova, E., & Sepúlveda, W. (2008). *The diversity of sheep production systems in Aragón (Spain): Characterisation and typification of meat sheep farms*. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6(4), 497–507. <https://doi.org/10.5424/sjar/2008064-344>

Partyka, A., Niaski, W., & Ochot, M. (2012). *Methods of Assessment of Cryopreserved Semen*. *Current Frontiers in Cryobiology*. <https://doi.org/10.5772/33565>

Paulenz, H., Ådnøy, T., Fossen, O. H., Söderquist, L., & Andersen Berg, K. (2002). *Effect of*

- deposition site and sperm number on the fertility of sheep inseminated with liquid semen. *Veterinary Record*, 150(10), 299–302. <https://doi.org/10.1136/vr.150.10.299>
- Payan-Carreira, R., Borges, P., Mir, F., & Fontbonne, A. (2013). *Molecular Markers in Sperm Analysis. Success in Artificial Insemination - Quality of Semen and Diagnostics Employed*. <https://doi.org/10.5772/52231>
- Perkins, A., Fitzgerald, J. A., & Price, E. O. (1992). *Sexual performance of rams in serving capacity tests predicts success in pen breeding*. *Journal of Animal Science*, 70(9), 2722–2725. <https://doi.org/10.2527/1992.7092722x>
- Pezzanite, L., Bridges, D. A., Neary, D. M., & Hutchens, T. (2010). *Breeding Soundness Examination of Rams and Bucks*. *Purdue Extension*, 2, 1–4. <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/as/as-599-w.pdf>
- Pool, K. R., Rickard, J. P., Pini, T., & de Graaf, S. P. (2020). *Exogenous melatonin advances the ram breeding season and increases testicular function*. *Scientific Reports*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66594-6>
- Ramalho-Santos, J. A. A. . S. P. R. A. S. ;Martins. L. . B. M. . M. C. . T. R. . A. S. & G. S. (2007). *Probing the Structure and Function of Mammalian Sperm using Optical and Fluorescence Microscopy. Modern Research and Educational Topics in Microscopy. Vol 1, January*, 397–402. <http://www.formatex.org/microscopy3/pdf/pp394-402.pdf>
- Renato, S., Menegassi, O., Otávio, J., Barcellos, J., Batista, J., Borges, S., Eugênia, M., Canozzi, A., Peripolli, V., Koetz Júnior, C., Lopes, F. G., & Cervo, H. J. (2014). *Breeding soundness examination: Understanding the causes of examination failure in young and mature Rams*. *International Journal of Plant and Animal Sciences*, 2(2), 98–104.
- Ridler, A. L., Smith, S.L., & West, D. M. (2012); *Ram and buck management*. *Animal Reproduction Science*, 130 (3-4), 180-183. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.012>
- Rocha e Silva, S., Almeida, J. C., Monteiro, D. O., Correia, M. J., Guerreiro da Palma, A., & Ferreira, A. (2018). *Manual de Boas Práticas - Bem Estar em Ovinos*. In UCADESA (Ed.), *Journal of Chemical Information and Modeling* (Agosto 2018, Vol. 53, Issue 9).
- Romão, R. (2013). *Avaliação e gestão reprodutiva dos efectivos de carne*. XXXVII Jornadas Da AEFMV, 4. disponível em: <https://bit.ly/3Ff3HL1> consultado a 24/04/2021

- Romão, R., & Bettencourt, E. (2009). *Maneio reprodutivo em possibilidades técnicas de de carne : possibilidades técnicas. I Jornadas Do Hospital Veterinário Muralhas de Évora*, 3–5.
- Rowe J.D. (2010) *Buck Health Management. Proceedings of the Forty-Third Annual Conference of the American Association of Bovine Practitioners*, 2010: 145-148.
- Ruttle, J. L., & Southward, G. M. (1988). *Influence of age and scrotal circumference on breeding soundness examination of range rams. Theriogenology*, 29(4), 945–949.
[https://doi.org/10.1016/0093-691X\(88\)90231-2](https://doi.org/10.1016/0093-691X(88)90231-2)
- Sheep Veterinary Society (2014). *Guidelines on the examination of rams for breeding*. June, 4–6., disponível em: <https://sheepvetsoc.org.uk/wp-content/uploads/2021/04/SVS-RAM-GUIDELINES.pdf>, consultado em 15/04/2021
- Silva, C. A. da. (2019). *Caracterização da produção de ovinos de carne no concelho de Castro Verde*. Carolina Agulheiro da Silva Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia.
- Sacoto, S., Correia, T. M., Valentim, R., Gomes, M. J., Rodrigues, I., & Azevedo, J. (2018). *Maneio reprodutivo em ovinos e caprinos. 10. Ecografia. Agrotec Revista Técnico-Científica Agrícola*, 28, 24–27.
- Salhab, S. A., Zarkawi, M., Wardeh, M. F., Al-Masri, M. R., & Kassem, R. (2001). *Development of testicular dimensions and size, and their relationship to age, body weight and parent size in growing Awassi ram lambs. Small Ruminant Research*, 40(2), 187–191.
[https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(00\)00224-8](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(00)00224-8)
- Sargison N (2008). *Sheep Flock Health: a planned approach*. 1st ed. Blackwell Publishing
<http://doi/10.1002/9781444302592>
- Sartori, R., Prestes, N.C., Canavessi, A.M.O., Kempinas, W.G., & Rosa, G.J.M.. (2002a). *Avaliações ultra-sonográfica, macroscópica e histológica da biopsia testicular em ovinos. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 54(3), 233-241.
<https://doi.org/10.1590/S0102-09352002000300003>
- Sartori, R., Prestes, N. C., Canavessi, A. M. O., Curi, P. R., & Bergfelt, D. R. (2002b). *Testicular biopsy with Tru-Cut needle in conjunction with fibrin adhesive or nylon suture: Assessment of post-biopsy testicular function in rams. Small Ruminant Research*, 45(1), 25–31.

[https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(02\)00108-6](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(02)00108-6)

- Senger, P. L. (2005). *Pathways to Pregnancy and Parturition, 2nd Ed. Current Conceptions Incorporated*
- Simplício, A., Salles, H., Santos, D., & Azevedo, H. (2001). Manejo reprodutivo de caprinos e ovinos de corte em regiões tropicais. *Documentos - EMBRAPA Caprinos (Brazil)*, February, 47.
- Söderquist, L., & Hultén, F. (2006). Normal values for the scrotal circumference in rams of Gotlandic breed. *Reproduction in Domestic Animals*, 41(1), 61–62.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00608.x>
- Souza, C. J., & Ferrugem Moraes, J. C. (2019). *Uma revisão sobre a execução do exame andrológico nos carneiros [A review of the execution of the andrological examination in rams]*. — Bagé : Embrapa Pecuária Sul.
- Souza, J.A.T., Campelo, J.E.G., Leal, T.M., Sousa Júnior, A., Medeiros, R.M., & Macedo, R.C.(2007). *Biometria testicular, características seminais, libido e concentrações de testosterona em ovino da raça Santa Inês, na Microrregião de Campo Maior, PI. Ciências Veterinárias Tropicais*, v.10, p.21-28, 2007
- Souza, C. E. A., Moura, A. D. E. A. A., Carízia, A., Antônio, B. D. E. L., & Ciríaco, L. T. (1997). *Seminais Em Carneiros Da Raça Santa Inês No Estado Do Ceará*. 1992–1994. Disponível em <https://www.bovinos.ufc.br/sbz2000> .pdf, consultado a 05/07/2021.
- Stellflug, J. N., & Berardinelli, J. G. (2002). *Ram mating behavior after long-term selection for reproductive rate in Rambouillet ewes. Journal of Animal Science*, 80(10), 2588–2593.
<https://doi.org/10.1093/ansci/80.10.2588>
- Stellflug, J. N., Lewis, G. S., Moffet, C. A., & Leeds, T. D. (2008). *Evaluation of three-ram cohort serving capacity tests as a substitute for individual serving capacity tests. Journal of Animal Science*, 86(8), 2024–2031. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0820>
- Swanson, E. W., & Bearden, H. J. (1951). *An Eosin-Nigrosin Stain for Differentiating Live and Dead Bovine Spermatozoa, Journal of Animal Science*, 10 (4), 981–987
<https://doi.org/https://doi.org/10.2527/jas1951.104981x>
- Tamires, I., Cavalcante, R., Carolina, A., Caldas, A. De, Fernandes, J. B., José, E., Alencar,

- S., Netto, A. J., Morais, J., & Filho, P. (2017). *Condição Corporal e a circunferência escrotal de ovinos alimentados com inclusão de feno de jurema preta*, Realize Editora, 2017. Disponível em: <https://www.editorarealize.com.br/index.php/artigo/visualizar/33304>, consultado em: 27/06/2021
- Talbot, P., & Chacon, R.S. (1981). *A triple-stain technique for evaluating normal acrosome reactions of human sperm*. *The Journal of Experimental Zoology*, 1;215:201-208. <https://doi:10.1002/jez.1402150210>
- Thompson, J., & Meyer, H. (1994). *Body condition scoring of sheep*. Oregon State University Extension Service, disponível em: <https://catalog.extension.oregonstate.edu/>, consultado a 4/04/2021
- Threlfall, W.R., & Lopate, C., 1992. *Testicular biopsy*. In: McKinnon, A.O., Voss, J.L. (Eds.), *Equine Reproduction*. Lea & Febiger, Philadelphia, London, pp. 943–949.
- Tibary, A., Boukhliq, R., & Allali, K. El. (2018). *Ram and Buck Breeding Soundness Examination*. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires* 6(2), 241–255.
- Toe, F., Lahlou-Kass, A., & Mekasa-Mugerwa, E. (1994). Semen characteristics of Ile-de-France rams of different age and physical condition *Theriogenology* 42:321-326. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)90276-3](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)90276-3)
- Tsakmakidis, I. A. (2010). *Ram semen evaluation: Development and efficiency of modern techniques*. *Small Ruminant Research*, 92(1–3), 126–130. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.04.017>
- Van Metre, D. C., Rao, S., Kimberling, C. V., & Morley, P. S. (2012). *Factors associated with failure in breeding soundness examination of Western USA rams*. *Preventive Veterinary Medicine*, 105(1–2), 118–126. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.02.002>
- Vencato, J., Romagnoli, S., & Stelletta, C. (2014). *Trans-scrotal ultrasonography and testicular fine-needle aspiration cytology in the evaluation of ram sperm production*. *Small Ruminant Research*, 120(1), 112–115. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.05.005>
- Verstegen, M., Ouada, I., & Onclin, K. (2002). *Computer Assisted Semen Analyzers in Andrology*. *Research and Veterinary Practice*, February 1921, 1-4
- Wenkoff MS. (1988). *The evaluation of bulls for breeding soundness, 2nd ed*. Ottawa: Canadian

Veterinary Medical Association.

WHO -World Health Organization. (2021). *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. In World Health: Vol. Sixth Edit* (Issue 10). disponível em : http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241547789_eng.pdf, consultado em 25/07/2021

Yániz, J. L., Soler, C., & Santolaria, P. (2015). *Computer assisted sperm morphometry in mammals: A review. Animal Reproduction Science*, 156, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.03.002>

Yarney, T. A., & Sanford, L. M. (1993). *Pubertal development of ram lambs: Physical and endocrinological traits in combination as indices of postpubertal reproductive function. Theriogenology*, 40(4), 735–744. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(93\)90209-N](https://doi.org/10.1016/0093-691X(93)90209-N)

Zamiri, M. J., Khalili, B., Jafaroghli, M., & Farshad, A. (2010). *Seasonal variation in seminal parameters, testicular size, and plasma testosterone concentration in Iranian Moghani rams. Small Ruminant Research*, 94(1–3), 132–136. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.07.013>