

# AVALIAÇÃO DO SEMEN DE REPRODUTORES ZEBUINOS VISANDO A SUA UTILIZAÇÃO EM INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

JOSE ANTONIO VISINTIN  
Professor Assistente Doutor  
Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia da USP

VALQUIRIA HYPOLITO BARNABE  
Professora Adjunta  
Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia da USP

RENATO CAMPANARUT BARNABE  
Professor Titular  
Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia da USP

JOAO FLORIANO CASAGRANDE  
Doutor em Ciências  
Sembra Central de Inseminação Artificial

CARLOS ALBERTO DE ALMEIDA  
Médico Veterinário  
Sembra Central de Inseminação Artificial

VISINTIN, J.A.; BARNABE, V.H.; BARNABE, R.C.; CASAGRANDE, J.F.; ALMEIDA, C.A. Avaliação do sêmen de reprodutores zebuínos visando a sua utilização em inseminação artificial. Rev.Fac. Med.vet.Zootec.Univ.S.Paulo, 23(1):69-77 1986.

**RESUMO:** O quadro espermático de 13 touros Zebus, doadores em Central de Inseminação Artificial, foi estudado em colheitas semanais obtidas por meio de eletroejaculação, durante 9 semanas. As características seminais foram, em média, volume de 7,89 a 13,44 ml, motilidade progressiva retilínea de 48,83 a 73,89%, concentração de 712.000 a 1.774.000 espermatozoides por mm<sup>3</sup>. A taxa de patologia espermática, através das microscopias de contraste de interferência diferencial e de contraste de fase, juntamente com a coloração Williams, variou respectivamente, para defeitos totais, maiores e menores, de 11,83 a 45,87%; 3,50 a 35,50% e 1,72 a 14,90% e 7,56 a 42,34%; 2,83 a 31,02% e 1,72 a 11,32%. Constatou-se, ainda, que uma única prova não constitui elemento suficiente para a avaliação do sêmen, pois muitas amostras que apresentam boa motilidade possuem altas porcentagens de espermatozoides anormais e que a microscopia de contraste de interferência diferencial mostrou-se sensivelmente superior ao contraste de fase para a observação de defeitos espermáticos.

**UNITERMOS:** Reprodução bovinos; Inseminação artificial; Sêmen; Microscopia

## INTRODUÇÃO E LITERATURA

Na evolução dos conhecimentos referentes à patologia da reprodução pouca atenção foi dada, no início, à participação masculina. ZSCHOKKE, 40, em 1900, foi quem primeiro declarou que o touro constitui-se em importante fator de esterilidade dos rebanhos. LAGERLOF, 24, 25 (1934, 1936) demonstrou que as anormalidades do sêmen e patologia dos testículos estão relacionadas, refletindo com perfeição, a condição dos túbulos seminíferos. Sucessivos estudos da morfologia dos espermatozoides e sua correlação com os problemas de infertilidade, passaram a ser encarados com mais objetividade, principalmente devido à expansão do método da Inseminação Artificial (ANDERSON, 2, 1941; RAO & HART, 30, 1948; HANCOCK & ROLLINSON, 21, 1949; BLOM, 6, 1950; BISHOP et alii, 5, 1954; BLOM, 7, 1959; GAMCICK, 15, 1966), biotécnica que visa selecionar reprodutores de alta linhagem genética e manter elevado padrão sanitário dos rebanhos.

No entanto, muito mais prejudicial que uma esterilidade definitiva, são as anormalidades subclínicas que acometem certos reprodutores, cujas conseqüências quase sempre são tardiamente verificadas, causando expressivos danos ao rebanho. Nestas condições, impõem-se os exames sistemáticos do sêmen, através de várias provas laboratoriais, possibilitando diagnóstico precoce e possíveis correções de problemas de alterações temporárias. Assim é que várias características do sêmen puro, tais como o volume, a motilidade, a concentração e a morfologia espermática, podem ser observadas e servir como elementos críticos na avaliação da quantidade e qualidade do material fecundante (GUSTAFSSON, 18, 1965; WILLIAMS, 38, 1965; GAMCICK, 16, 1967; KOEFOED-JOHNSEN & PEDERSEN, 23, 1971; RAO, 29, 1971; GUSTAFSSON et alii, 19, 1972; SAACKE, 32, 1970; ALMQUIST, 1, 1973; GUSTAFSSON et alii, 20, 1974 e RAO & RAO, 31, 1975).

Diversos autores, embora considerando outros elementos para a avaliação do sêmen, enfatizam as quantidades e os tipos de defeitos morfológicos presentes nas amostras (MUNRO et alii, 27, 1961; SWANSON & BOYD, 35, 1962; BLOM, 18, 1966; CHENOWETH & BURGESS, 12, 1972; BLOM, 9, 1973 e BLOM, 10, 1978) e esta conduta torna-se cada vez mais aperfeiçoada e até mesmo mais valorizada pelo uso da microscopia de contraste de interferência diferencial (MARSHALL & SAACKE, 26, 1967; SAACKE & WHITE, 34, 1972; FLEMING et alii, 14, 1976; MITCHELL et alii, 28, 1978; BARNABE, 4, 1979 e SAACKE et alii, 33, 1980).

O objetivo do presente trabalho foi analisar rotineiramente o volume, a motilidade, a concentração e a morfologia espermática, com o intuito de alertar precocemente possíveis fatores atuantes sobre a

REFERÊNCIA

espermatogênese que possam provocar alterações da fertilidade.

## MATERIAL E METODOS

Para o estudo das características seminais foram utilizadas amostras de sêmen de 117 colheitas de 13 touros zebus, doadores em Central de Inseminação Artificial, sendo um da raça Gir, 1 Guzerá e 11 Nelore.

O material seminal foi obtido semanalmente, durante 2 meses, através do método da eletroejaculação (DZIUK et alii, 13, 1954; AUSTIN et alii, 3, 1961; GARCIA, 17, 1971; CASAGRANDE, 11, 1973; VALE FILHO et alii, 37, 1974 e VALE FILHO et alii, 36, 1976). Após a colheita foram analisados o volume (ml), a motilidade progressiva retilínea (%), a concentração (espermatozoides por mm<sup>3</sup>) e a morfologia espermática (%). O volume foi observado em tubo de ensaio graduado, a motilidade entre lâmina e lamínula, utilizando platina aquecida a 37 C e a concentração em câmara de Neubauer, após diluição da amostra em pipeta hematimétrica a 1:200 em solução isotônica de citrato de sódio formolada. As alterações morfológicas dos espermatozoides foram verificadas em esfregaços corados pelo método de WILLIAMS, 39 (1920), modificado por LAGERLOF, 24 (1934) e descrito por RAO, 29 (1971) e examinados em microscópio óptico comum e em preparações úmidas de sêmen diluído em solução tampão de glutaraldeído a 0,2% (HARASYMOWICZ et alii, 22, 1976), examinadas em microscópio de contrastes de interferência diferencial e fase, sendo as anormalidades espermáticas classificadas, de acordo com BLOM, 9 (1973), em defeitos maiores e menores.

## RESULTADOS

Os resultados referentes à avaliação das características seminais estão reunidos na Tab. 1, enquanto que as Fig. 1 e 2 mostram algumas alterações morfológicas observadas, respectivamente, em microscopia de contraste de interferência diferencial e de contraste de fase.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A média de volume das colheitas variou de 7,89 a 13,44 ml (Tab.1), estando dentro dos limites considerados normais e tendo como extremos 2,0 e 20,0 ml, no geral, superiores às citadas por LAGERLOF, 24 (1934), LAGERLOF, 25 (1936), ANDERSON, 2 (1941), BISHOP et alii, 5 (1954), WILLIAMS, 38 (1965), GUSTAFSSON, 18 (1965),

GUSTAFSSON et alii, 19 (1972), ALMQUIST, 1 (1973), GUSTAFSSON et alii, 20 (1974) e RAO & RAO, 31 (1975), embora o aumento de volume em função da eletroejaculação já tenha sido citado por DZIUK et alii, 13 (1954), AUSTIN et alii, 3 (1961) e GARCIA, 17 (1971). Também o volume pode variar entre touros, criações, raças, idades, grau de excitação e frequência de colheitas (BISHOP et alii, 5, 1954; ALMQUIST, 1, 1973; e LAGERLOF, 25, 1936). GAMCICK, 16 (1967) não constatou alteração de volume de sêmen que pudesse elucidar o baixo índice de fertilidade em touros (40,0%) e KOEFOED-JOHNSON & PEDERSEN, 23 (1971) encontraram volume considerado normal em touro que apresentava alta taxa de patologia espermática (70-90%). ANDERSON, 2 (1941) chamou a atenção para o fato de que o volume de sêmen pode ser mais indicativo da atividade das glândulas acessórias dos testículos, o que foi corroborado por VALE FILHO et alii, 36 (1976) ao encontrarem volumes normais em touros que apresentavam anormalidades espermáticas indicativas de alterações testiculares.

WILLIAMS, 39 (1920) considerou que a motilidade não constitui padrão de medida de vitalidade e poder de fecundação dos espermatozoides, mas LAGERLOF, 25 (1936) julgou-a necessária para a fertilização, o que foi constatado por RAO & HART, 30 (1948). A motilidade por si só não constitui avaliação segura da qualidade do sêmen, pois BLOM, 6 (1950) encontrou 95% de alterações do acrossomo ("Knobbed sperm") em espermatozoides com motilidade normal e GAMCICK, 16 (1967) não conseguiu elucidar o baixo índice de fertilidade de touros (40%), embora 2 a 17% dos espermatozoides apresentassem formações vesiculosas do acrossomo. Por sua vez, HANCOCK & ROLLINSON, 21 (1949), WILLIAMS, 38 (1965), BLOM, 8 (1966) e VALE FILHO et alii, 36 (1976) encontraram motilidade baixa ou igual a zero, em touros com história de esterilidade ou baixa fertilidade, enquanto que GUSTAFSSON, 18 (1965), KOEFOED-JOHNSON & PEDERSEN, 23 (1971), GUSTAFSSON et alii, 19 (1972) e GUSTAFSSON et alii, 20 (1974) relacionaram-na com disfunções epididimária e BLOM, 7 (1959) e SWANSON & BOYD, 35 (1962) com altas taxas de patologia da peça intermediária e cauda, além de cabeças soltas.

A motilidade espermática encontrada variou, em média, de 48,83 a 73,89% (Tab. 1), com intervalo de 30,0 a 80,0%, podendo esta variação estar relacionada aos procedimentos técnicos (RAO & HART, 30, 1948; FLEMING et alii, 4, 1976), aos efeitos dos diluidores (SWANSON & BOYD, 35, 1962) à idade, às raças, aos métodos de colheitas, ao estado patológico do aparelho reprodutor (GARCIA, 17, 1971), excitação prévia com falsas montas (ALMQUIST, 1, 1973), às variações sazonais (RAO & RAO, 31, 1975), à saúde dos animais (ANDERSON, 2, 1941) e à fertilidade (VALE FILHO et alii, 37, 1974).

CASAGRANDE, 11 (1973) salientou correlação entre esta característica e a congelabilidade do sêmen, destacando que as amostras com menos de 60,0% de motilidade progressiva retilínea apresentavam baixa taxa de congelabilidade. Portanto, devemos estar atentos a todos os fatores nocivos que possam interferir na motilidade dos espermatozoides, na tentativa de bloqueá-los e obter um melhor padrão de qualidade.

As concentrações médias encontradas foram de 712.000 a 1.774.000 espermatozoides por  $\text{mm}^3$  (Tab. 1), estando dentro de padrões de touros considerados normais (LAGERLOF, 24,25, 1934, 1936 e BISHOP et alii, 5, 1954) e variações de 180.000 a 3.010.000. Deve-se considerar que o método da eletroejaculação normalmente proporciona maior volume e conseqüente diminuição da concentração, embora com semelhante número total de espermatozoides (RUSTIN et alii, 3, 1961); a concentração pode ainda variar entre touros e criações (BISHOP et alii, 5, 1954), idade e raças (GARCIA, 17, 1971), preparo sexual e freqüência de colheitas (ALMQUIST, 1, 1973) e estação do ano (RAO & RAO, 31, 1975).

Em touros com hipoplasia testicular, LAGERLOF, 24 (1934) encontrou variação de 20.000 a 300.000 espermatozoides por  $\text{mm}^3$ , WILLIAMS, 38 (1965) de 100.000 a 900.000 e GARCIA, 17 (1971) uma média de 62.600, enquanto que naqueles portadores de degeneração testicular, BLOM (1959) constatou variação de 40.000 a 200.000 espermatozoides por  $\text{mm}^3$  e GARCIA, 17 (1971) uma média de 367.160. Segundo LAGERLOF, 24 (1934), BLOM, 7 (1959) e WILLIAMS, 38 (1965) a concentração influi na fertilidade quando apresenta valores abaixo de 300.000 espermatozoides por  $\text{mm}^3$ , refletindo alterações do epitélio germinativo, como ocorrem nos casos de hipoplasia e degeneração testiculares. Neste particular, ressaltamos a importância dos exames rotineiros de sêmen, visando surpreender, precocemente, prováveis alterações do tecido germinativo testicular.

Os exames morfológicos, realizados em microscopia de interferência diferencial (Fig. 1), segundo SAACKE, 32 (1970), são preferíveis em relação à fase por eliminarem os halos interferentes que este apresenta ao redor das células espermáticas (Fig. 2).

BLOM, 9 (1973) aconselha a utilização de sêmen que apresenta até 15% de espermatozoides com defeitos maiores e 10-15% de menores, enquanto que FLEMING et alii, 14 (1976) e MITCHELL et alii, 28 (1978) recomendam até 25% de patologia total ou 12% de gotas citoplasmáticas ou 12% de cabeças anormais.

A média de defeitos espermáticos maiores, menores e totais, variou, respectivamente para a microscopia de contraste de interferência diferencial e fase de 3,50 a 35,50%; 1,72 a 14,90% e 11,83 a 45,87% e 2,83 a 31,02%; 1,72 a 11,32% e 7,56 a

42,34% (Tab. 1), sendo que os touros 3, 5, 9, 10 e 11 ultrapassaram o limite máximo de defeitos totais considerado para touros normais (18-20%), segundo LAGERLOF, 24 (1934); já o de número 9, estaria dentro do padrão de 25%, aconselhado por CASAGRANDE, 11 (1973), FLEMING et alii, 14 (1976) e MITCHELL et alii, 28 (1978).

Para uma avaliação segura da qualidade seminal dos reprodutores, CASAGRANDE, 11 (1973) e MITCHELL et alii, 28 (1978) recomendam o exame morfológico de todas as ejaculações e, por sua vez, VALE FILHO et alii, 36 (1974) consideram que o controle pelo nível de patologia espermática é básico para maior segurança na liberação de sêmen congelado, melhor controle da fertilidade dos animais e melhor manejo da Central de Inseminação Artificial, pois pode indicar, com certa precocidade, alterações subclínicas de fertilidade. Já SAACKE & WHITE, 34 (1972) aconselham maior destaque na avaliação da integridade do acrossomo, da motilidade e presença de espermatozoides anormais no sêmen fresco, limitando-se à estimativa e vigor da motilidade após o descongelamento, enquanto que FLEMING et alii, 14 (1976) utilizam estes dois parâmetros para a verificação dos possíveis defeitos injuriosos, provocados pelo processamento do sêmen sobre os espermatozoides.

A melhor resolução e maior riqueza de detalhes morfológicos, tanto em sêmen puro quanto diluído, constatadas por MARSHALL & SAACKE (1967), MITCHELL et alii, 28 (1978), BARNABE, 4 (1979) e SAACKE et alii, 33 (1980) para patologia do acrossomo e defeitos maiores através da microscopia de contraste de interferência diferencial, em comparação com a microscopia de contraste de fase, ficaram demonstradas pela observação de grandes diferenças percentuais de defeitos espermáticos, principalmente aqueles referentes ao acrossomo, cabeça e peça intermediária, consideradas altamente indesejáveis e de grande importância na fecundação, segundo BLOM, 6 (1950), MUNRO et alii, 27 (1961), GAMCICK, 15 (1966), GAMCICK, 16 (1967), RAO, 29 (1971), CHENOWETH & BURGESS, 12 (1972), FLEMING et alii, 14 (1976), VALE FILHO et alii, 37 (1976) e BLOM, 10 (1978).

VISINTIN, J.A.; BARNABE, V.H.; BARNABE, R.C.; CASAGRANDE, J.F.; ALMEIDA, C.A. Evaluation of seminal characteristics of Zebu bulls to utilization in artificial insemination. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 23(1): 69-77, 1986.

SUMMARY: The semen picture of 13 zebu bulls, used as donors in an Artificial Insemination Center, was studied weekly during nine weeks. Average seminal characteristics were as follows: volume ranged from 7.89 to 13.44 ml progressive motility from 48.83 to 73.89%, spermatic concentration

from 712.000 to 1.774.000 spermatozoa/mm<sup>3</sup>. Spermatic pathology percentage observed with DIC and phase contrast microscopy, varied, respectively to total, major and minor defects, from 11.83 to 45.87%; from 3.50 to 35.50% and from 1.72 to 14.90% and from 7.56 to 42.34% from 2.83 to 31.02% and from 1.72 to 11.32%. Results based on a single examination of semen did not

offer sufficient information because many samples with a high percentage of abnormal spermatozoa exhibited normal motility. The DIC microscopy was appreciably superior that of phase contrast for observation of spermatic defects.

UNITERMS: Reproduction of cattle; Artificial insemination; Semen; Microscopy

TABELA 1 - Características seminais de 13 touros zebus, doadores em Central de Inseminação Artificial, Barretos, SP, 1981.

Caracteres Touros	Volume (ml)	Motilidade (%)	Concentração (10 <sup>5</sup> spz/mm <sup>3</sup> )	Microscopia de interferência diferencial e Williams (%)			Microscopia de Fase e Williams (%)		
				Defeitos Maiores	Defeitos Menores	Total	Defeitos Maiores	Defeitos Menores	Total
				1	13,44	58,89	7,12	9,50	4,44
2	12,44	71,11	13,00	12,28	7,78	20,06	7,83	5,06	12,89
3	10,61	68,89	17,74	17,67	14,90	32,57	14,50	5,50	20,00
4	10,44	69,44	14,36	3,50	8,33	11,83	2,83	4,72	7,55
5	7,89	67,78	8,78	21,76	7,56	29,32	17,37	4,49	21,86
6	8,67	62,78	13,49	14,72	4,78	19,50	10,00	3,50	13,50
7	8,89	73,89	14,29	12,33	1,72	14,05	10,56	1,72	12,28
8	10,61	71,11	12,02	12,33	2,94	15,27	9,44	2,11	11,55
9	8,94	73,33	10,54	13,67	7,67	21,34	7,39	5,00	12,39
10	11,50	48,33	11,53	35,50	10,37	45,87	31,02	11,32	42,34
11	8,56	67,22	11,63	22,83	12,78	35,61	15,11	8,50	23,61
12	11,00	70,00	8,19	7,11	10,50	17,61	4,78	4,78	9,56
13	9,17	73,33	14,01	11,39	6,11	17,50	6,17	3,56	9,73

spz - espermatozoides



FIGURA 1 – Acrossomo Enrugado  
Microscopia de Contraste de Interferência  
Diferencial – 1250 X.



FIGURA 2 – Cauda Fortemente Dobrada  
Microscopia de Contraste de Fase – 1250 X.  
Halo circundante.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 - ALMQUIST, J.O. Effects of sexual preparation on sperm output, semen characteristics and sexual activity of beef bulls with a comparison to dairy bulls. *J. anim. Sci.*, 36:331-336, 1973.
- 2 - ANDERSON, J.J. Further investigations on the semen of bull. *Vet. Rec.*, 53:197-205, 1941.
- 3 - AUSTIN, J.W.; HUPP, E.W.; MURPHREE, R.L. Comparison of quality bull semen collected in the artificial vagina and by eletroejaculation. *J. Dairy Sci.*, 44:2292-2297, 1961.
- 4 - BARNABE, V.H. Avaliação de sêmen congelado de bovinos, com especial referência à integridade de acrossomo. São Paulo, 1979. /Tese de Livre Docência - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP/.
- 5 - BISHOP, M.W.H.; CAMPBELL, R.C.; HANCOCK, J.L.; WALTON, A. Semen characteristics and fertility in the bull. *J. agric. Sci.*, 44:227-248, 1954.
- 6 - BLOM, E. Interpretation of spermatid cytology in bulls. *Fertil. and Steril.*, 1:223-238, 1950.
- 7 - BLOM, E. A rare sperm abnormality. "Corkscrew-sperms" associated with sterility in bulls. *Nature*, London, 183:1280-1281, 1959.
- 8 - BLOM, E. A new sterilizing and hereditary defect (the "dag defect") located in the bull sperm tail. *Nature*, London, 209:739-740, 1966.
- 9 - BLOM, E. Ultrastrukturen af nogle karakteristiske Spermiedefekter of for slag til et nyt klassificerings-system for tyrens spermogram. /The ultrastructure of some characteristic sperm defect and a proposal for a new classification of the bull spermogram/. *Nord. Vet. Med.*, 25:383-391, 1973.
- 10 - BLOM, E. The corkscrew sperm defect in Danish bulls. A possible indicator of nuclear fallout. *Nord. Vet. Med.*, 30:1-8, 1978.
- 11 - CASAGRANDE, J.F. Relações entre algumas características físicas e morfológicas do sêmen de zebuínos e sua congelabilidade. Jaboticabal, 1973. /Tese de doutoramento - Faculdade de Medicina Veterinária e Agronomia da UNESP/.
- 12 - CHENOWETH, P.J. & BURGESS, G.W. Mid-piece abnormalities in bovine semen following ephemeral fever. *Aust. vet. J.*, 48:37-38, 1972.
- 13 - DZIUK, P.J.; GRAHAM, E.F.; PETERSEN, W.E. The technique of eletroecjaculation and its use in dairy bulls. *J. Dairy Sci.*, 37:1035-1041, 1954.
- 14 - FLEMING, W.N.; OLAR, T.T.; MITCHELL, J.R. Techniques for evaluation of frozen bovine semen at Curtiss Breeding Service. In: TECHNICAL CONFERENCE ON ARTIFICIAL INSEMINATION AND REPRODUCTION, 6., Milwaukee, 1976. Proceedings. p.88-90.
- 15 - GAMCICK, P. Stúdiu morfologických zmien spermii bykov s porusenou a neporusenou plodnostou. /Study of morphological changes of spermatozoa of bulls with impaired and intact fertility/. *Vet. Med.*, Praha, 11:431-436, 1966.
- 16 - GAMCICK, P. Sterility of bulls caused by vesiculous deformations on the acrosome of the spermatozoa. *Folia vet.*, 11:131-138, 1967.
- 17 - GARCIA, O.S. Características físicas e morfológicas do sêmen de touros normais e de touros com distúrbios reprodutivos, de raças européias e indianas, criadas no Estado de Minas Gerais. Belo Horizonte, 1971. /Tese de Mestrado - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais/.
- 18 - GUSTAFSSON, B. A case of akinesia of bull sperm associated with a functional disturbance in the epididymis. *Nord. Vet. Med.*; 17:65-72, 1965.
- 19 - GUSTAFSSON, B.; CRABO, B.; RAO, A.R. Two cases of bovine epididymal dysfunction. *Cornell Vet.*, 62:392-402, 1972.

- 20 - GUSTAFSSON, B.; EINARSSON, S.; NICANDER, L.; HOLTMAN, M.; SOOSALU, D. Morphological, physical and chemical examination of epididymal contents and semen in a bull with epididymal dysfunction. *Andrologia*, 6:321-331, 1974.
- 21 - HANCOCK, J.L. & ROLLINSON, D.H.L. A seminal defect associated with sterility of Guernsey bulls. *Vet. Rec.*, 61:742-743, 1949.
- 22 - HARASYMOWYCZ, J.; BALL, L.; SEIDEL JR., G.E. Evaluation of bovine spermatozoal morphologic features after staining or fixation. *Amer. J. vet. Res.*, 37:1053-1057, 1976.
- 23 - KOEFOED-JOHNSEN, H.H. & PEDERSEN, H. Further observations on the dag-defect of the tail of the bull spermatozoon. *J. Reprod. Fertil.*, 26:77-83, 1971.
- 24 - LAGERLOF, N. Morphologische Untersuchungen über Veränderungen im Spermabild und in den Hoden bei Bullen mit Verminderter oder aufgehobener Fertilität. *Acta path. microbiol. scand. (Supp.19)* 1934 apud WILLIAMS, W.L. Researches concerning the morphologic changes in the spermatozoa and in the testicles of sterile or subnormal fertile bulls: a review. *Cornell Vet.*, 24:361-375, 1934.
- 25 - LAGERLOF, N. Sterility in bulls. *Vet. Rec.*, 48:1159-1173, 1936.
- 26 - MARSHALL, C.E. & SAACKE, R.G. Acrosomal cap of living bovine spermatozoa. *J. anim. Sci.*, 26:947, 1967.
- 27 - MUNRO, I.B.; STEWART, D.L.; MELROSE, D.R. Middle piece defect in bovine spermatozoa. *Vet. Rec.*, 73:577-578, 1961.
- 28 - MITCHELL, J.R.; HANSON, R.D.; FLEMING, W.N. Utilizing differential interference contrast microscopy for evaluating abnormal spermatozoa. In: TECHNICAL CONFERENCE ON ARTIFICIAL INSEMINATION AND REPRODUCTION, 7., Madison, 1978. Proceedings. p.64-68.
- 29 - RAO, A.R. Changes in the morphology of sperm during their passage through the genital tract in bulls with normal and impaired spermatogenesis. Stockholm, 1971. /Thesis - Royal Veterinary College/.
- 30 - RAO, C.K. & HART, G.H. Morphology of bovine spermatozoa. *Amer. J. vet. Res.*, 9:117-124, 1948.
- 31 - RAO, R.M. & RAO, A.R. Studies on semen characteristics of tharparkar and Jersey bulls. *Indian vet. J.*, 52:889-900, 1975.
- 32 - SAACKE, R.G. Morphology of the sperm and its relationship to fertility. In: TECHNICAL CONFERENCE ON ARTIFICIAL INSEMINATION AND REPRODUCTION, 3., Chicago, 1970. Proceedings. p.17-30.
- 33 - SAACKE, R.G.; VINSON, W.E.; O'CONNOR, M.L.; CHANDLER, J.E.; MULLINS, J.; AMANN, R.P. The relationship of semen quality and fertility. A heterospermic study. In: TECHNICAL CONFERENCE ON ARTIFICIAL INSEMINATION AND REPRODUCTION, 8., Las Vegas, 1980. Proceedings. p.71-78.
- 34 - SAACKE, R.G. & WHITE, J.M. Semen quality tests and their relationship to fertility. In: TECHNICAL CONFERENCE ON ARTIFICIAL INSEMINATION AND REPRODUCTION, 4., Chicago, 1972. Proceedings. p.22-27.
- 35 - SWANSON, E.W. & BOYD, L.J. Factors affecting coiled-tail spermatozoa in the bull. *Amer. J. vet. Res.*, 23:300-309, 1962.
- 36 - VALE FILHO, V.R.; MEGALE, F.; GARCIA, O.S. Mitochondrial sheath defects in spermatozoa of sterile Gyr bulls. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 8., Krakow, 1976. Proceedings. v.4, p.752-755.
- 37 - VALE FILHO, V.R.; PINTO, P.A.; LEMOS, G.B.; FONSECA, J.; FURLAN, H. Normas para seleção de touros *Bos indicus* quanto à fertilidade, para uso em centrais de inseminação artificial e em testes de progênie, em condições de Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA, 14., São Paulo, 1974. Anais. p.181.

- 38 - WILLIAMS, G. An abnormality of the spermatozoa of some Hereford bulls. Vet. Rec., 77:1204-1206, 1965.
- 39 - WILLIAMS, W.W. Technique of collecting semen for laboratory examination with a review of several diseased bulls. Cornell Vet., 10:87-94, 1920.
- 40 - ZSCHOKKE, 1900 apud LAGERLOF, N. 24, 1934. p.362.

Recebido para publicação em 06/01/86  
Aprovado para publicação em 25/06/86  
Impresso em 11/86