



Abordagem multivariada envolvendo características físicas e morfológicas do sêmen bovino, idade dos touros e época de colheita de sêmen

Antônio Rodrigues da Silva¹, Antonio Sergio Ferraudo², Dilermando Perecin², Vera Fernanda Martins Hossepian de Lima³

¹ Departamento de Ciências Biológicas/Zootecnia da UFMT, CEP: 78735-901, Rondonópolis, MT, Brasil.

² Departamento de Ciências Exatas da FCAV, Unesp, CEP: 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil.

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da FCAV, Unesp, CEP: 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil.

RESUMO - Avaliaram-se as relações entre características físicas e morfológicas do sêmen de bovinos das subespécies *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* com a idade dos touros e a época de colheita do sêmen. Utilizaram-se observações feitas durante o período de 1993 a 1999, em 42 touros com 12 a 174 meses de idade, divididos em cinco classes: *Bos taurus taurus* - 12 a 36 meses; 37 a 60 meses; 61 a 84 meses; 85 a 108 meses; e 109 a 138 meses; e *Bos taurus indicus* - 12 a 42 meses; 43 a 72 meses; 73 a 102 meses; 103 a 132 meses; e 133 a 174 meses. As características analisadas foram: volume, turbilhonamento espermático, concentração espermática, motilidade espermática, vigor espermático, anormalidades espermáticas e integridade do acrossoma. No processamento das análises, utilizaram-se as médias das características em cada classe de idade e o mês de colheita de sêmen durante o período de 1993 a 1999. As técnicas estatísticas multivariadas de componentes principais e de agrupamento hierárquico mostraram resultados que podem contribuir na escolha de sêmen de melhor qualidade. As classes 103 a 132 meses e 133 a 174 meses para a subespécie *Bos taurus indicus* e a classe de idade 109 a 138 meses para a subespécie *Bos taurus taurus* foram as mais contrastantes. Para ambas as subespécies, nos meses mais úmidos, o sêmen apresentou menor qualidade, principalmente na subespécie *Bos taurus taurus*. As características do sêmen mais contrastantes no estudo por classes e no período de coleta de sêmen foram: vigor espermático, motilidade espermática, concentração espermática, integridade do acrossoma e anormalidades terciárias no sêmen.

Palavras-chave: análise de componentes principais, análise de agrupamento, idade do touro, período de colheita do sêmen, qualidade do sêmen

A multivariate approach for physical and morphological characteristics of cattle semen, age of bull and semen collection period

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the relation between the physical and morphological characteristics of semen from *Bos taurus taurus* and *Bos taurus indicus* cattle, the age of the bull and semen collection periods. Observations were made on 42 bulls with ages ranging from 12 to 174 months in five classes: subspecies *Bos taurus taurus* - 12 to 36 months; 37 to 60 months, 61 to 84 months, 85 to 108 months and 109 to 138 months and subspecies *Bos taurus indicus* - 12 to 42 months; 43 to 72 months, 73 to 102 months, 103 to 132 months and 133 to 174 months, from 1993 to 1999. The analyzed characteristics were: semen volume, mass motility, sperm concentration, sperm motility, sperm vigor, abnormalities and acrosome integrity. The average of characteristics in each age class and collection month were used for the analysis process during the period from 1993 to 1999. The statistical multivariate techniques of clustering and principal components showed results that can help in selection of semen with better quality. The age classes 4 and 5 of *Bos taurus indicus* and the age class 5 of *Bos taurus taurus* were the most contrasting. For both subspecies, the wetter months showed the lowest semen quality. This result was more evident in *Bos taurus taurus*. The most contrasting semen characteristics were: sperm vigor, sperm motility, sperm concentration, acrosome integrity and tertiary abnormality.

Key Words: clustering analysis, principal components analysis, semen quality

Introdução

A análise estatística multivariada é aplicada no estudo de múltiplas medidas em cada indivíduo ou objeto em

investigação. Técnicas de análise multivariada são utilizadas atualmente em todas as áreas do conhecimento; neste estudo, foram aplicadas a análise de agrupamento hierárquica (AA) e a análise de componentes principais (ACP).

A análise de componentes principais é utilizada quando o objetivo é reter o máximo da informação contida em um número relativamente grande de variáveis correlacionadas em número menor de variáveis não-correlacionadas, chamadas componentes principais. Essas novas variáveis são combinações lineares das variáveis originais. A variância contida em cada componente principal é expressa pelos autovalores da matriz original padronizada e os primeiros componentes principais sempre explicam a maior parte da variância das variáveis originais.

A análise de agrupamento hierárquica é aplicada no intuito de dividir um conjunto de dados em grupos com máxima homogeneidade intragrupos e máxima heterogeneidade entre grupos (Neff & Marcus, 1980) e consiste basicamente de duas etapas: a primeira é a escolha do coeficiente de semelhança (medida de similaridade ou de dissimilaridade) entre indivíduos; e a segunda, a escolha da estratégia de formação dos grupos (Cruz & Regazzi, 1994).

Até 1995, segundo Piassi et al. (1995), trabalhos científicos com técnicas de análise multivariada eram escassos, porém, nos últimos anos, houve crescimento acentuado na utilização das técnicas AA e ACP em todas as áreas do conhecimento. De acordo com Morrison (1976), a análise por componentes principais consiste na transformação do conjunto original de variáveis em outro mediante combinações lineares de respostas, cujos componentes principais, de dimensões equivalentes retêm porcentagens da variância original.

No Brasil, Roso & Fries (1995) utilizaram técnicas de componentes principais em bovinos europeus utilizando características de desmama e sobreano e verificaram que os coeficientes positivos para as médias das características estudadas indicaram médias contrastantes dentro da mesma medida básica, ou seja, animais acima da média apresentaram desvios positivos, enquanto animais abaixo da média apresentaram desvios negativos. Assim, este componente contrasta animais mais pesados com animais mais leves após o nascimento. Segundo Romesbug (1984), a análise de agrupamento pode ser compreendida e utilizada por pesquisadores com limitações matemáticas e estatísticas.

Neste estudo objetivou-se associar, por meio de técnicas estatísticas multivariadas (AA e ACP), o efeito da idade do touro e do mês de colheita do sêmen sobre as características físicas e morfológicas do sêmen de touros.

Material e Métodos

Os dados originais de produção de sêmen foram observados no período de 1993 a 1999, em 42 touros (22

Bos taurus taurus e 20 *Bos taurus indicus*) com 12 a 174 meses de idade (divididas em cinco classes), com média de 67 meses para os touros *Bos taurus taurus* (grupo E) e 78 meses para os touros *Bos taurus indicus* (grupo Z), mantidos em regime permanente de colheita.

Os touros eram oriundos de rebanhos selecionados e foram considerados animais de destaques pelas particularidades das características que podem ser transmitidas aos seus descendentes.

As características consideradas e avaliadas nos sêmens dos touros foram volume, turbilhonamento, concentração espermática, motilidade espermática no sêmen fresco, motilidade espermática no instante do descongelamento e motilidade espermática 3 horas após o descongelamento, vigor espermático no sêmen *in natura*, vigor espermático no instante do congelamento e vigor espermático 3 horas após o descongelamento, anormalidades primárias dos espermatozoides no ejaculado, anormalidades secundárias dos espermatozoides no ejaculado e porcentagem de integridade do acrossoma 3 horas após o descongelamento.

O banco de dados utilizado constava de 14.475 registros contendo informações das ejaculações dos touros (838 registros de touros europeus e 613 observações de touros zebus). Esses registros foram divididos em dois grupos: um contendo, para cada variável, a média mensal do período estudado; e outro contendo as médias para cinco classes de idade (Tabela 1). O *software* utilizado no cálculo das médias das características avaliadas foi o Microsoft Excel 7.0.

Para aplicação das análises multivariadas de agrupamento e de componentes principais, o conjunto de dados foi submetido à padronização:

$$Z_{ij} = \frac{N_{ij} - \bar{N}_j}{S_j},$$

de modo que: N_{ij} é a matriz de dados originais ($i = 1, \dots, n$ e $j = 1, \dots, p$); e \bar{N}_j e S_j = média e desvio-padrão, respectivamente, de cada variável N_j .

A Análise de Agrupamento Hierárquica foi processada utilizando-se como coeficiente de semelhança a medida de dissimilaridade euclidiana. O método de agrupamento aplicado para identificar a similaridade entre grupos foi o UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages). O resultado da classificação obtida é um gráfico denominado dendrograma (Sneath & Sokal, 1973).

Para a aplicação da ACP, utilizou-se o procedimento Proc Princomp, *software* estatístico SAS® System for Elementary Statistical Analysis, versão 6.12, e, para a AA, o STATISTICA®, versão 6.0.

Tabela 1 - Subdivisão adotada para as idades em cinco classes

Classe de idade	Subespécie			
	<i>Bos taurus taurus</i>		<i>Bos taurus indicus</i>	
Idade (mês)				
12345	E1	12 – 36	Z1	12 – 42
	E2	37 – 60	Z2	43 – 72
	E3	61 – 84	Z3	73 – 102
	E4	85 – 108	Z4	103 – 132
	E5	109 – 138	Z5	133 – 174

Resultados e Discussão

As classes de idade 4 e 5 para a subespécie *Bos taurus indicus* e a classe de idade 5 para a subespécie *Bos taurus taurus* são classes contrastantes (Tabela 2; Figura 1). Essas classes são formadas por touros com mais idade e indicam comportamento diferenciado das características estudadas em comparação às classes de idade formadas por animais mais jovens. As classes com touros mais jovens mantiveram-se juntas (Figura 1), o que indica similaridade.

Na ordenação das classes de idade (Figura 1), o grupo formado à direita (classe Z2: touros *Bos taurus indicus* com idades entre 37 a 60 meses; classe Z5: touros *Bos taurus indicus* com idades entre 109 a 138 meses; classe E5: touros *Bos taurus taurus* com idades entre 109 a 138 meses) permaneceu com os touros mais jovens, o que explica o comportamento semelhante das características estudadas nas duas subespécies de animais jovens. Classes de idade intermediárias se juntaram em outro grupo, enquanto touros de maior idade tenderam a se contrastar, não formando grupos.

Os números à direita de E e Z correspondem aos meses do ano para o período de estudo avaliado

Os componente CP1 e CP2 retiveram 76,54% da variabilidade existente nas variáveis originais (Tabela 2). O primeiro componente (CP1) é o mais importante, pois é responsável por 61,29% desta retenção e as características mais contrastantes neste componente foram: concentração espermática, com correlação negativa, indicando que classes localizadas mais à esquerda (classe Z4: touros

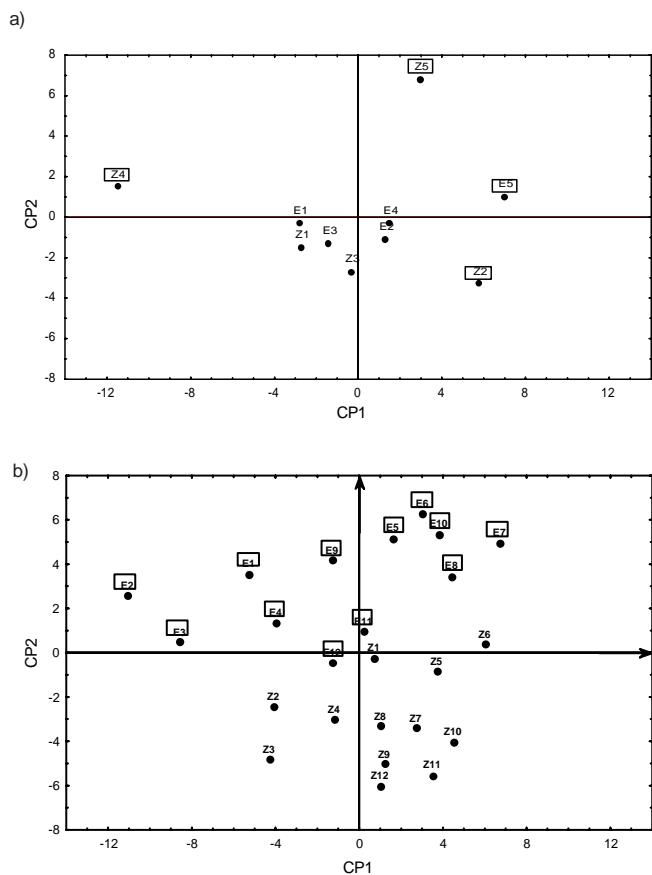


Figura 1 - Distribuições bidimensionais das classes de idades e dos períodos de colheita do sêmen segundo os dois primeiros componentes principais.

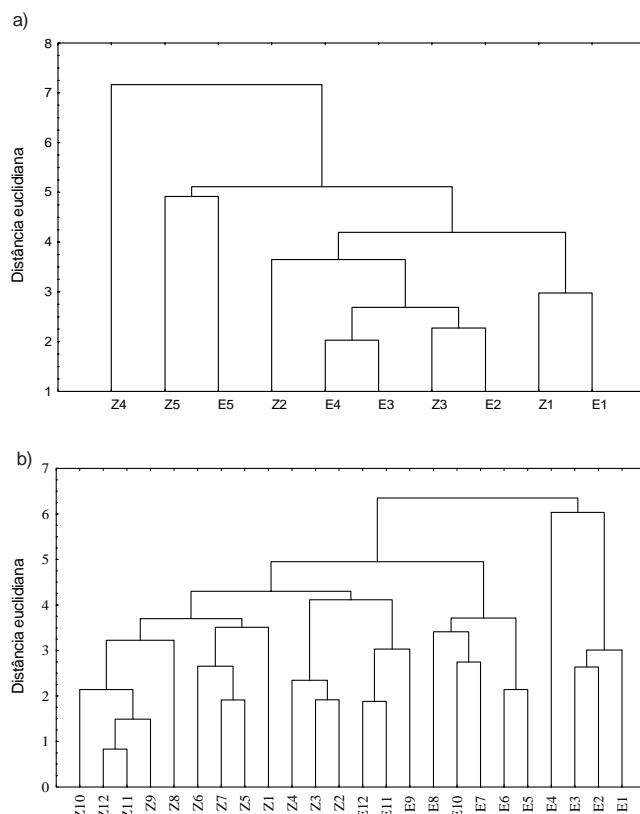


Figura 2 - Dendrogramas contendo a ordenação das classes de idades e a ordenação dos períodos de colheita de sêmen.

Tabela 2 - Correlação entre cada característica do sêmen e o componente principal (CP1 e CP2)

Característica	Classe de idade		Período de colheita	
	CP1	CP2	CP1	CP2
Volume	0,6701	0,2318	-0,5013	0,4898
Turbilhonamento	-0,6711	-0,4847	0,6461	-0,6912
Concentração	-0,7015	-0,4712	0,6334	-0,6726
Motilidade	0,7439	0,2817	0,8397	0,0913
Motilidade (0)	0,9491	-0,2434	0,8714	0,3766
Motilidade (3)	0,9631	-0,2208	0,8341	0,4665
Vigor	0,9012	0,2725	0,7735	0,2432
Vigor (0)	0,9507	-0,2469	0,8798	0,3570
Vigor (3)	0,8968	-0,3758	0,6218	0,5371
Anormalidades primárias	-0,6341	-0,2395	-0,6574	0,4224
Anormalidades secundárias	-0,3414	0,8384	-0,2809	-0,5165
Anormalidades terciárias	-0,6820	0,4443	-0,6437	0,6255
Integridade de acrossoma	0,8308	0,2242	0,8031	0,0290

Bos taurus indicus com idades entre 85 a 108 meses) (Figura 1) contêm touros com maior concentração espermática. Os touros *Bos taurus taurus* com idades entre 109 a 138 meses (classe 5) e os touros *Bos taurus indicus* com idades entre 37 a 60 meses (classe 2) tenderam a apresentar menores concentrações espermáticas (Figura 1).

A motilidade espermática, o vigor espermático e a integridade do acrossoma do sêmen apresentaram altas correlações positivas com o CP1, indicando que classes de idade à direita (classe Z2: touros *Bos taurus indicus* com idades entre 37 a 60 meses; classe Z5: touros *Bos taurus indicus* com idades entre 109 a 138 meses; classe E5: touros *Bos taurus taurus* com idades entre 109 a 138 meses) (Figura 1) possuem maiores valores dessas características. Assim, o sêmen da classe 2 da subespécie *Bos taurus indicus* e da classe 5 de ambas as subespécies apresentaram os maiores valores de vigor espermático, motilidade espermática e integridade do acrossoma do sêmen, enquanto o da classe 4 da subespécie *Bos taurus indicus* apresentou menores valores destas características.

O segundo componente CP2 reteve 15,25% da variabilidade original remanescente contida nas características estudadas e a única variável contrastante foi anormalidade espermática secundária com correlação positiva, indicando que classes de idade localizadas mais acima possuem maior número de anormalidades secundárias. Assim, a classe 5 da subespécie *Bos taurus indicus* apresenta maior quantidade de células espermáticas com anormalidades secundárias em comparação às demais.

Os touros das classes de idade 2 e 5 da subespécie *Bos taurus indicus* e os da classe de idade 5 da subespécie *Bos taurus taurus* apresentaram menores valores de concentração espermática e maiores valores da motilidade espermática, vigor espermático e integridade do acrossoma.

Os touros da classe de idade 4 da subespécie *Bos taurus indicus* apresentaram os maiores valores de concentração espermática e os menores valores de motilidade espermática, vigor espermático e integridade do acrossoma. Os demais touros das classes de idade 1 e 3 da subespécie *Bos taurus indicus* e os touros das classes de idade 1, 2, 3 e 4 da subespécie *Bos taurus taurus* se juntaram em um grupo cujas classes possuem comportamentos similares para essas características.

Nas duas subespécies, as características do sêmen de touros jovens ou de idade intermediária apresentaram certa similaridade, no entanto, tornaram-se mais discrepantes à medida que os animais envelheceram.

Houve também contraste importante entre os períodos úmidos e secos (Figura 2). Em ambas as subespécies, os meses de janeiro a abril (meses úmidos) foram separados à esquerda e os demais (meses secos), à direita. Os meses de janeiro a abril para a subespécie *Bos taurus taurus* juntaram-se em um grupo, indicando que essa subespécie é talvez mais susceptível à umidade que a subespécie *Bos taurus indicus*.

Nos resultados encontrados neste trabalho, a análise de agrupamento reuniu os grupos de reprodutores por classe de idade, considerando certa homogeneidade dentro da subespécie *Bos taurus taurus* e heterogeneidade entre as classes de idade da subespécie *Bos taurus indicus*. Para isso, a análise mostrou, segundo algum critério de similaridade ou dissimilaridade, a variância entre dos reprodutores e as subespécies, favorecendo o agrupamento as classes de idade estudadas (Cruz & Regazzi, 1997).

Para obtenção do critério de similaridade, foi utilizada a distância euclidiana (Carneiro, 2002), que pode ser estimada apenas quando se dispõe da matriz de covariâncias residuais, estimadas a partir de ensaios experimentais com

repetições. A distância generalizada de Mahalanobis inclui a variabilidade de cada unidade experimental e não somente a medida de tendência amostral, por isso, é recomendada para dados provenientes de delineamentos e as características correlacionadas (Cruz, 1990).

Neste estudo, os dois componentes principais retiveram 72,38% da variabilidade existente nas variáveis originais. O primeiro componente (CP1) foi o mais importante, pois determinou 50,46% desta retenção e as características mais contrastantes nesse componente foram, novamente, motilidade espermática, vigor espermático e integridade do acrossoma, com correlações positivas, o que indica que o mês da colheita de sêmen é responsável pelas variações destas características. Assim, para as duas subespécies, o sêmen obtido nos meses 2 e 3 (fevereiro e março), com alta umidade relativa, apresentou menores valores de vigor espermático, motilidade espermática e integridade do acrossoma, o que representa perda de qualidade de sêmen nesse período. Reforçando este resultado, a correlação positiva da concentração espermática e negativa para o volume com o CP1 indica que o sêmen dos touros avaliados nos meses de colheita de sêmen (à esquerda de CP1) apresentou menor concentração espermática e maior volume (Tabela 2).

O segundo componente (CP2) determinou 21,92% da variabilidade original remanescente contida nas características estudadas, contrastando as variáveis turbilhamento espermático e concentração espermática com correlações negativas e anormalidades terciárias com correlação positiva. Assim, em decorrência do contraste simétrico em relação ao CP1 entre as duas subespécies, os valores de turbilhamento espermático e concentração espermática da subespécie *Bos taurus taurus* foram inferiores aos da subespécie *Bos taurus indicus*. O contrário ocorreu para anormalidades terciárias, ou seja, essa característica foi mais acentuada na subespécie *Bos taurus taurus*.

Os resultados obtidos neste trabalho comprovam que os touros mais velhos das duas subespécies produziram maiores quantidades de doses no período estudado e que animais mais velhos possuem melhor desempenho produtivo e devem ser manejados de forma a melhorar a produtividade em centrais de inseminação artificial.

Nas duas subespécies, a quantidade média de doses foi menor no período de março a maio, o que sugere a adoção de medidas que reduzam o estresse durante o período de colheita, como sombreamento artificial, microaspersão e terapia de micronutrientes para aumentar a resistência desses animais ao estresse ambiental.

As análises multivariadas de agrupamento e de componentes principais devem ser recomendadas em estudos cujo objetivo seja compreender a estrutura complexa e multivariada contida nas características físicas e morfológicas do sêmen e que possam ser utilizados para avaliação do sêmen em touros de diferentes classes de idade e em diferentes períodos de colheita de sêmen. O mesmo deve ser feito quando o estudo envolver características correlacionadas a qualidade do sêmen, perímetro escrotal e testes de tolerância ao calor em touros mantidos em centrais de inseminação artificial.

A avaliação da influência da idade e do período de colheita do sêmen de touros permite aplicar ou desenvolver tecnologias que reduzam o estresse ambiental sobre os animais mantidos em centrais de inseminação artificial visando manter a oferta de sêmen congelado durante todo o ano.

Conclusões

As análises multivariadas de agrupamento e de componentes principais contribuem para compreensão das características físicas e morfológicas da qualidade do sêmen, avaliadas pela idade do touro e pelo período de coleta, pois condensam grande quantidade de dados em poucos resultados informativos. As características mais contrastantes, tanto no estudo por classes quanto por período de coleta, são vigor espermático, motilidade espermática, concentração espermática, integridade do acrossoma e anormalidades terciárias. As características turbilhamento, concentração e anormalidades terciárias são contrastantes nas subespécies *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus*. As características turbilhamento e concentração espermática são melhores na subespécie *Bos taurus indicus* e a concentração de anormalidades terciárias é maior no sêmen de *Bos taurus taurus*. Em ambas as subespécies, o sêmen obtido nos meses mais úmidos apresenta menor qualidade.

Literatura Citada

- CARNEIRO, P.L.S.; FONSECA, R.; PIRES, A.V. et al. Study on genetic divergence among broilers lines by multivariate analysis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.54, n.1, p.75-83, 2002.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1994. 390p.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1997. 390p.

- MORRISON, D.F. **Multivariate statistical methods**. 2.ed. New York: McGraw-Hill, 1976. 416p.
- NEFF, N.A.; MARCUS, L.A. Survey of multivariate methods for systematics. New York: Neff and Marcus, 1980. 235p.
- PIASSI, M.; SILVA, M.A.; REGAZZI, A.J. et al. Estudo da divergência entre oito grupos de aves de postura, por meio de técnicas de análise multivariada. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.5, p.715-27, 1995.
- ROMESBURG, H.C. **Cluster analysis for researches** 2.ed. Belmont: Lifetime Learning, 1984. 335p.
- ROSO, V.M.; FRIES, L.A. Componentes principais em bovinos da raça Polled Hereford a desmama e sobreano. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.5, p.728-35, 1995.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **SAS/STAT user's guide**: Stat, version 6.11. Cary, 1996. (CD-ROM).
- SNEATH, P.H.A.; SOKAL, R.R. **Numerical taxonomy**. San Francisco: W.H. Freeman, 1973. 573p.
- STATISTICA for Windows: versão 6.0. Tulsa: StatSoft, 1996, 1 CD-ROM.