

# Efeito da Adição de Ácidos Graxos Poli-Insaturados na Dieta Sobre a Cinética Espermática do Sêmen de Carneiros

*José Eduardo Matos<sup>1</sup>; Tarsizio da Silva Santos<sup>2</sup>; Rebeca Santos da Silva<sup>3</sup>; Maiana Silva Chaves<sup>4</sup>; Ana Cláudia França de Freitas<sup>5</sup>; Pábola Santos Nascimento<sup>6</sup>; Allan Andrade Rezende<sup>7</sup>; Paulo César Falanghe Carneiro<sup>8</sup>; Alexandre Nizio Maria<sup>9</sup>; Anselmo Domingos Ferreira Santos<sup>10</sup>; Carollina Florido Pires<sup>11</sup>; Hymerson Costa Azevedo<sup>12</sup>*

## Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de dietas com diferentes concentrações de ácidos graxos poli-insaturados complexados com sais de cálcio ( $AGP \cdot Ca^+$ ) sobre a cinética espermática computadorizada do sêmen de carneiros. Foram utilizados 24 carneiros da raça Santa Inês (SI) distribuídos em quatro grupos experimentais que se diferiram na quantidade consumida diariamente de  $AGP \cdot Ca^+$  a partir da ingestão de uma dieta base como segue: G3 – grupo controle com 3% de extrato etéreo (EE), sem adição de  $AGP \cdot Ca^+$  e, G6, G9 e G12 com adição de  $AGP \cdot Ca^+$  e 6, 9 e 12% de EE, respectivamente. Um ejaculado de cada

<sup>1</sup> Zootécnico, mestre em Zootecnia, professor substituto da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>2</sup> Biólogo, mestrando de Recursos Naturais do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, SE.

<sup>3</sup> Médica-veterinária, mestranda de Zootecnia da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>4</sup> Médica-veterinária, mestranda de Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

<sup>5</sup> Médica-veterinária, mestranda de Zootecnia da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>6</sup> Médica-veterinária, mestranda de Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

<sup>7</sup> Médico-veterinário, mestrando de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

<sup>8</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Zootecnia, professor da Universidade Federal de Sergipe, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>9</sup> Zootécnico, doutor em Produção Animal, professor da Universidade Federal de Sergipe, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

<sup>10</sup> Médico-veterinário, doutor em Zootecnia, professor da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>11</sup> Graduanda em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

<sup>12</sup> Médico-veterinário, doutor em Reprodução Animal, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

carneiro foi colhido totalizando 24 amostras de sêmen em cada momento do período experimental como segue: dia 0 (M0), aos 30 dias (M30), aos 60 dias (M60) e aos 90 dias (M90) do início da administração das dietas experimentais. Cada ejaculado foi avaliado quanto à cinética espermática computadorizada, sendo obtidos os seguintes parâmetros: motilidade total, motilidade progressiva, velocidade em linha reta, velocidade curvilínea, velocidade média do percurso, retilinearidade, linearidade, deslocamento lateral da cabeça e frequência de batimento flagelar cruzado. Não houve interação significativa ( $P > 0,05$ ) entre as variáveis independentes, grupo experimental e momento. Os grupos não diferiram significativamente entre si ( $P > 0,05$ ) quanto aos parâmetros de cinética. Observou-se que os parâmetros de cinética espermática apresentaram mudanças ( $P < 0,05$ ) ao longo do período experimental sendo que a maioria dos incrementos foram a partir dos 60 dias coincidindo, aproximadamente, com o ciclo completo da produção e liberação dos espermatozoides em ovinos. Conclui-se que a administração de dietas suplementadas com  $AGP \cdot Ca^+$  não tem influência sobre a cinética espermática do sêmen de carneiros.

**Palavras-chave:** gordura protegida, gordura inerte, espermatozoides, lipídios, sêmen, Santa Inês.

## Introdução

Entre as várias biomoléculas que exercem efeito sobre a fisiologia dos gametas masculinos estão os lipídios poli-insaturados que têm sido incorporados à dieta com o objetivo de proporcionar melhorias na qualidade do sêmen de várias espécies como em ovinos (FARAJI et al., 2012;). A dieta dos ruminantes, entretanto, não deve apresentar grandes concentrações de ácidos graxos poli-insaturados devido a seu efeito tóxico sobre os microrganismos, e consequentemente, diminuição da digestibilidade das fibras no rúmen (GRUNERT et al., 2005). Experimentos que envolvam a suplementação de óleos insaturados em dietas para ruminantes são beneficiados pela adição de um protetor que reduza a saturação dos ácidos graxos no rúmen, resultando em maior absorção no intestino (DE GRAAF et al., 2007). A gordura protegida no rúmen consiste basicamente em uma fonte de ácidos graxos insaturados, normalmente ácidos linoleico e  $\alpha$ -linolênico protegidos, obtendo-se melhor aproveitamento de suas características particulares (CERVONI, 2011), por isso também é conhecida também como ácidos graxos poli-insaturados complexados com sais de cálcio ( $AGP \cdot Ca^+$ ).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de dietas com diferentes concentrações de AGP·Ca<sup>+</sup> sobre a cinética espermática do sêmen de carneiros.

## Material e Métodos

Foram utilizados 24 carneiros da raça Santa Inês (SI) contemporâneos, com idade entre 21 e 22 meses e peso vivo médio de 50 Kg, selecionados por meio de exames clínico-andrológicos. Os carneiros passaram por um período de adaptação de sete dias a uma dieta base (feno de capim tifton-85, milho triturado, farelo de soja, cloreto de sódio e fosfato bicálcico), formulada para atender as exigências de ganho mínimo de 100g/dia. Após o período de adaptação, os animais foram distribuídos aleatória e equitativamente em quatro grupos: G3, G6, G9 e G12. Os grupos experimentais diferiram-se na quantidade consumida diariamente de AGP·Ca<sup>+</sup> a partir da ingestão da dieta base formulada sem e com adição de diferentes níveis de Megalac-E® (Church & Dwight Co., Nova Jersey, EUA): G3 - grupo controle com 3% de extrato etéreo (EE), sem adição de AGP·Ca<sup>+</sup> e, G6, G9 e G12 com adição de AGP·Ca<sup>+</sup> e 6, 9 e 12% de EE, respectivamente. Durante todo o período experimental os alimentos foram fornecidos na forma de dieta total, com consumo ad libitum de água e das dietas.

Um ejaculado de cada carneiro foi colhido por meio de vagina artificial, totalizando 24 amostras de sêmen em cada momento do período experimental como segue: dia 0 (M0), aos 30 dias (M30), aos 60 dias (M60) e aos 90 dias (M90) do início da administração das dietas experimentais. Cada ejaculado foi avaliado quanto à cinética espermática computadorizada utilizando-se o Sperm Class Analyzer (SCA®), sendo obtidos os seguintes parâmetros dos espermatozoides (SPTZ): motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), velocidade em linha reta (VSL), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média do percurso (VAP), retilinearidade (STR), linearidade (LIN), deslocamento lateral da cabeça (ALH) e frequência de batimento flagelar cruzado (BCF).

Os dados foram analisados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a normalidade da distribuição dos resíduos. Os dados normais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias ao teste Scott-Knott, ao nível de significância de 5% de probabilidade. As médias que apresentaram diferença foram submetidas a análise de regressão. As análises foram realizadas pelo programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2000).

## Resultados e Discussão

A análise dos dados indicou que não houve interação significativa ( $P > 0,05$ ) entre as variáveis independentes, grupo experimental e momento (Tabela 1). Os grupos não diferiram significativamente entre si ( $P > 0,05$ ) quanto aos parâmetros de cinética.

**Tabela 1.** Efeito dos diferentes níveis de ácidos graxos poli-insaturados complexados com sais de cálcio ( $AGP \cdot Ca^+$ ) na dieta de carneiros sobre a cinética espermática analisada por computador.

Parâmetro	Grupo <sup>1</sup>	Momento <sup>2</sup>	
		M0	M30
Motilidade total (%)	G3	93,27 ± 3,89	94,47 ± 1,03
	G6	88,38 ± 6,82	91,05 ± 10,00
	G9	91,39 ± 5,57	97,21 ± 2,39
	G12	84,97 ± 7,86	96,86 ± 1,40
	Média	89,53 ± 6,54B	94,90 ± 5,47A
Motilidade progressiva (%)	G3	45,82 ± 6,79	48,86 ± 7,23
	G6	49,80 ± 6,50	46,07 ± 13,01
	G9	53,67 ± 3,78	52,64 ± 10,38
	G12	52,68 ± 6,96	54,59 ± 3,34
	Média	50,49 ± 3,52B	50,54 ± 3,81B
Velocidade em linha reta ( $\mu\text{m/s}$ )	G3	101,49 ± 17,58	97,30 ± 11,63
	G6	97,13 ± 19,39	94,88 ± 18,64
	G9	94,58 ± 8,33	104,03 ± 7,58
	G12	92,59 ± 8,36	110,28 ± 10,96
	Média	96,45 ± 3,84B	101,62 ± 6,95B
Velocidade curvilinear ( $\mu\text{m/s}$ )	G3	232,86 ± 31,83	233,68 ± 25,34
	G6	216,76 ± 50,31	225,32 ± 42,98
	G9	217,56 ± 26,81	248,35 ± 23,62
	G12	213,92 ± 23,20	258,61 ± 31,06
	Média	220,27 ± 8,53B	241,49 ± 14,86B

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Parâmetro	Momento <sup>2</sup>		Média
	M60	M90	
Motilidade total (%)	96,35 ± 1,87	96,39 ± 3,81	95,15 ± 3,03
	95,90 ± 3,59	92,67 ± 6,29	92,00 ± 7,14
	96,83 ± 2,17	95,94 ± 2,27	91,53 ± 3,79
	95,47 ± 4,16	95,81 ± 1,60	93,28 ± 6,19
	96,14 ± 2,93A	95,20 ± 3,97A	
Motilidade progressiva (%)	58,14 ± 5,34	63,67 ± 6,70	54,12 ± 8,24
	61,77 ± 6,44	66,85 ± 13,57	56,12 ± 9,80
	63,65 ± 8,68	65,77 ± 6,58	58,93 ± 6,74
	64,07 ± 6,51	68,05 ± 7,19	59,85 ± 7,40
	61,90 ± 2,70A	66,08 ± 1,86A	
Velocidade em linha reta (μm/s)	135,67 ± 15,11	134,77 ± 10,91	117,30 ± 20,76
	141,10 ± 14,49	143,08 ± 24,02	119,04 ± 26,64
	146,17 ± 10,12	131,04 ± 14,45	118,95 ± 23,83
	144,11 ± 12,61	137,35 ± 12,98	121,08 ± 23,97
	141,76 ± 4,56A	136,56 ± 5,06A	
Velocidade curvilínea (μm/s)	297,08 ± 22,45	294,10 ± 19,55	264,61 ± 36,22
	296,08 ± 25,75	290,81 ± 30,94	257,24 ± 42,00
	308,82 ± 19,97	281,40 ± 28,29	264,03 ± 39,64
	298,12 ± 20,35	283,95 ± 17,32	263,65 ± 36,96
	300,20 ± 5,81A	287,57 ± 5,90A	

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Parâmetro	Grupo <sup>1</sup>	Momento <sup>2</sup>	
		M0	M30
Velocidade média do percurso ( $\mu\text{m/s}$ )	G3	133,56 $\pm$ 19,99	128,39 $\pm$ 14,19
	G6	125,04 $\pm$ 28,65	126,08 $\pm$ 25,08
	G9	122,21 $\pm$ 12,67	137,27 $\pm$ 9,72
	G12	117,56 $\pm$ 13,83	144,84 $\pm$ 14,26
	Média	124,59 $\pm$ 6,73B	134,14 $\pm$ 8,61B
Retilinearidade (%)	G3	75,78 $\pm$ 3,02	75,73 $\pm$ 2,42
	G6	78,07 $\pm$ 3,32	75,43 $\pm$ 4,44
	G9	77,54 $\pm$ 2,63	75,87 $\pm$ 4,30
	G12	79,00 $\pm$ 3,18	76,15 $\pm$ 1,16
	Média	77,60 $\pm$ 1,35B	75,80 $\pm$ 0,30B
Linearidade (%)	G3	43,44 $\pm$ 3,03	41,60 $\pm$ 1,14
	G6	45,08 $\pm$ 2,46	42,24 $\pm$ 4,03
	G9	43,65 $\pm$ 2,00	42,08 $\pm$ 3,66
	G12	43,41 $\pm$ 2,50	42,77 $\pm$ 1,78
	Média	43,90 $\pm$ 0,80B	42,17 $\pm$ 0,48B
Deslocamento lateral da cabeça ( $\mu\text{m}$ )	G3	3,41 $\pm$ 0,27	3,59 $\pm$ 0,31
	G6	3,38 $\pm$ 0,52	3,52 $\pm$ 0,39
	G9	3,30 $\pm$ 0,34	3,65 $\pm$ 0,49
	G12	3,43 $\pm$ 0,19	3,76 $\pm$ 0,44
	Média	3,38 $\pm$ 0,06B	3,63 $\pm$ 0,10A
Frequência de batimento flagelar cruzado (Hz)	G3	46,59 $\pm$ 7,68	41,63 $\pm$ 2,65
	G6	43,46 $\pm$ 5,08	41,64 $\pm$ 3,54
	G9	40,30 $\pm$ 3,64	41,50 $\pm$ 2,92
	G12	39,97 $\pm$ 7,00	41,70 $\pm$ 2,50
	Média	42,58 $\pm$ 3,10B	41,62 $\pm$ 0,08B

Continua...

**Tabela 1.** Continuação.

Parâmetro	Momento <sup>2</sup>		
	M60	M90	Média
Velocidade média do percurso ( $\mu\text{m/s}$ )	170,59 $\pm$ 15,79	168,16 $\pm$ 14,80	150,17 $\pm$ 22,29
	176,58 $\pm$ 18,18	171,73 $\pm$ 23,14	149,86 $\pm$ 28,13
	180,96 $\pm$ 13,31	161,80 $\pm$ 16,84	150,56 $\pm$ 26,02
	176,16 $\pm$ 14,58	167,07 $\pm$ 13,21	151,41 $\pm$ 26,12
	176,07 $\pm$ 4,25A	167,19 $\pm$ 4,11A	
Retilinearidade (%)	79,44 $\pm$ 2,74	80,20 $\pm$ 1,85	77,79 $\pm$ 2,37
	79,94 $\pm$ 2,51	83,02 $\pm$ 3,98	79,12 $\pm$ 3,19
	80,84 $\pm$ 3,14	80,98 $\pm$ 2,60	78,81 $\pm$ 2,52
	81,87 $\pm$ 4,10	82,14 $\pm$ 1,81	79,79 $\pm$ 2,81
	80,52 $\pm$ 1,07A	81,59 $\pm$ 1,25A	
Linearidade (%)	45,52 $\pm$ 3,15	45,79 $\pm$ 0,83	44,09 $\pm$ 1,96
	47,66 $\pm$ 2,61	48,98 $\pm$ 4,29	45,99 $\pm$ 2,98
	47,36 $\pm$ 2,33	46,65 $\pm$ 3,39	44,94 $\pm$ 2,49
	48,37 $\pm$ 3,21	48,30 $\pm$ 2,03	45,71 $\pm$ 3,04
	47,23 $\pm$ 1,21A	47,43 $\pm$ 1,47A	
Deslocamento lateral da cabeça ( $\mu\text{m}$ )	3,96 $\pm$ 0,39	3,89 $\pm$ 0,19	3,71 $\pm$ 0,26
	3,71 $\pm$ 0,23	3,83 $\pm$ 0,23	3,61 $\pm$ 0,20
	3,84 $\pm$ 0,26	3,85 $\pm$ 0,34	3,66 $\pm$ 0,26
	3,73 $\pm$ 0,21	3,74 $\pm$ 0,22	3,67 $\pm$ 0,16
	3,81 $\pm$ 0,12A	3,83 $\pm$ 0,06A	
Frequência de batimento flagelar cruzado (Hz)	51,03 $\pm$ 5,47	50,30 $\pm$ 4,58	47,39 $\pm$ 4,30
	51,98 $\pm$ 3,55	52,24 $\pm$ 3,90	47,33 $\pm$ 5,57
	53,10 $\pm$ 3,72	47,09 $\pm$ 5,59	45,50 $\pm$ 5,87
	53,92 $\pm$ 3,93	50,44 $\pm$ 3,56	46,51 $\pm$ 6,74
	52,51 $\pm$ 1,27A	50,02 $\pm$ 2,14A	

<sup>1</sup> G3 – 3% de extrato etéreo (EE), sem adição de AGP-Ca<sup>+</sup> e, G6, G9 e G12 com adição de AGP-Ca<sup>+</sup> e 6, 9 e 12% de EE, respectivamente.

<sup>2</sup> M0, M30, M60 e M90 = dia zero, 30, 60 e 90 dias da administração da dieta, respectivamente. SPTZ - espermatozoides.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5%, maiúscula na linha e minúscula na coluna.

Apesar dos relatos dos benefícios dos ácidos graxos poli-insaturados aumentando a motilidade dos espermatozoides (FARAJI et al., 2012), o presente trabalho não apresentou vantagens da adição destes elementos na dieta para melhoria da cinética espermática no sêmen de carneiros. Uma das hipóteses é de que os

ácidos graxos oriundos da gordura protegida da dieta talvez não tenham sido transferidos para o sêmen e conseqüentemente para os espermatozoides.

Analisando-se as médias, independentemente do grupo, observou-se que os parâmetros de cinética espermática apresentaram mudanças ( $P < 0,05$ ) ao longo do período experimental. Os parâmetros MT e ALH aumentaram significativamente ( $P < 0,05$ ) a partir do M30. Quanto aos demais parâmetros MP, VCL, VSL, VAP, STR e BCF, foram observados incrementos significativos ( $P < 0,05$ ) a partir do M60.

A maturação dos espermatozoides no epidídimo dura em torno de 13 a 15 dias, ocorrendo mudanças substanciais nas suas funções, composição e organização da sua membrana com conseqüente aquisição da motilidade e habilidade de fertilização do ovócito (KNOBIL; & NEILL, 2006) que podem ter sido responsáveis pela melhoria precocemente observada na função cinética dos espermatozoides. Mudanças aos 30 dias, entretanto não podem ser totalmente associadas ao período que compreende o tempo de espermatogênese somado ao trânsito do espermatozoide no epidídimo em ovinos, uma vez que nesta espécie, este intervalo é de aproximadamente 60 a 70 dias (CUNNINGHAM; & KLEIN, 2008). Em contrapartida, alguns efeitos benéficos das dietas ao longo do período experimental sobre a cinética espermática (MP, VCL, VSL, VAP, LIN, STR e BCF) coincidiram com o ciclo completo da produção e liberação dos espermatozoides em ovinos.

## Conclusão

A administração de dietas energéticas baseadas na suplementação com ácidos graxos poli-insaturados complexados com sais de cálcio ( $AGP \cdot Ca^+$ ) não tem influência sobre a cinética espermática do sêmen de carneiros.

## Agradecimentos

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (FAPITEC/SE) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão das bolsas de mestrado e de PIBIC.



## Referências

CERVONI, J. E. **Gordura protegida na alimentação de ruminantes**. 2006.

Disponível em: < <http://www.limousin.com.br/pages/artigos/vendo.asp?ID=107>>. Acesso em: 11 de fevereiro de 2011.

CUNNINGHAM, J. G.; KLEIN, B. G. Tratado de fisiologia veterinária. In: FISILOGIA reprodutiva do macho. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2008. p. 523.

CUNNINGHAM, J. G.; KLEIN, B. G. Fisiologia reprodutiva do macho. In: CUNNINGHAM, J. G.; KLEIN, B. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Campos LV; Elsevier, 2008. p. 523.

DE GRAAF, S. P., PEAKE, K., MAXWELL, W. M. C., O'BRIEN, J. K.; EVANS, G. Influence of supplementing diet with oleic and linoleic acid on the freezing success and sex-sorting parameters of ram semen. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 110, p. 166-173, 2007.

FARAJI, Z.; ZAMIRI, M. J.; ROWGHANI, E.; AKHLAGHI, A.; JAFARZADEH, M. R.; BAYAT, A. R.; GHOLAMI, M. Effect of feeding olive-pulp silage on the seminal characteristics and fatty acid profile of the sperm plasma membrane in Iranian fat-tailed sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 105, p. 216-221, 2012.

FERREIRA, D. F. **Sistema de análises de variância para dados balanceados**. Lavras: UFLA, 2000.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H.; VALE, W. G.; BIRGEL JÚNIOR, E. H. Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia. São Paulo: Varela, 2005.

NEILL, J. D.; PLANT, T. M.; PFAFF, D. W.; CHALLIS, J. R. G.; KRETSER, D. M. de; RICHADS, J. S. WASARMAN, P. M. (Ed.). **Physiology of Reproduction**. 3. Ed. New York: Elsevier, 2006. v. 1, p. 3-54.