UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

ANÁLISE DA INTERAÇÃO VITAMINA A E O AMBIENTE EM REPRODUTORES SUÍNOS

Pirassununga

2006

Simone Maria Massami Kitamura Martins

ANÁLISE DA INTERAÇÃO VITAMINA A E O AMBIENTE EM REPRODUTORES SUÍNOS

Pirassununga

2006

Simone Maria Massami Kitamura Martins

Análise da interação vitamina A e o ambiente em reprodutores suínos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:
Nutrição Animal e Produção Animal

Área de concentração:
Nutrição Animal

Orientador:
Prof. Dr. Aníbal de Sant' Anna Moretti

Pirassununga

2006

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1785
FMVZ

Martins, Simone Maria Massami Kitamura
Análise da interação vitamina A e o ambiente em reprodutores suínos / Simone Maria Massami Kitamura Martins. – Pirassununga: S. M. M. K. Martins, 2006.
126 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2006.

Programa de Pós-graduação: Nutrição e Produção Animal.
Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Aníbal de Sant'Anna Moretti.

1. Vitamina A. 2. Sazonalidade. 3. Temperatura. 4. Sêmen. 5. Suíno. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Influência da vitamina A e da sazonalidade na qualidade do sêmen em suínos", protocolo nº600/2005, utilizando 10 suínos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Anibal de Sant'Anna Moretti, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendun".

(We certify that the Research "Influence of vitamin A and seasonality upon the boar semen quality", protocol number 600/2005, utilizing 10 swine, under the responsibility of Prof. Dr. Anibal de Sant'Anna Moretti, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendun", meeting).

São Paulo, 22 de fevereiro de 2005

Profª Drª Júlia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87 - 05508-000 - Cid. Univ. "Armando de Salles Oliveira"
Fones: (011) 3091-7671/3091-7676 Fax: (011) 3032-2224

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome do autor: MARTINS, Simone Maria Massami Kitamura

Título: Análise da interação vitamina A e o ambiente em reprodutores suínos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data:____/____/____

Banca Examinadora

Prof. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

DEDICO AOS MEUS PAIS
CECÍLIA (*in memorian*) E ANTÔNIO
PELO AMOR INCONDICIONAL,
PELO ESFORÇO, CARINHO E
COMPREENSÃO

AGRADECIMENTO

AGRADEÇO AO ANDRÉ (SIMPRÃO) POR
TODO INCENTIVO, APOIO, DEDICAÇÃO,
CARINHO E AMOR

Agradeço a Deus por sua perfeição.

A minha mãe por sempre ter me incentivado a correr atrás do que se quer e a não desistir dos sonhos.

Ao meu pai pelo voto de confiança e pelo apoio.

As minhas tias “Cida e Glória“ por toda a dedicação.

As minhas irmãs pela compreensão.

A Mitiko, Antonio, Mariana e Alexandre pelo apoio.

Ao Professor Aníbal por todos os ensinamentos, dedicação, amizade e “por ter sido meu segundo pai”.

Ao Professor Rubens por todos os ensinamentos, incentivos, pelos momentos de compreensão e colaboração e, principalmente pelas oportunidades oferecidas.

A Laura e ao Professor Félix (*in memorian*) pelo auxílio na confecção da ração.

Ao Professor Paulo Mazza pelos ensinamentos de como não ser “Gersão”.

Aos Professores do Departamento de Nutrição e Produção Animal e do Departamento de Reprodução Animal pela contribuição em meu aperfeiçoamento profissional.

Ao amigo Abrão por dividir sua experiência profissional e despertar o interesse em trabalhar com reprodutores suínos.

Aos meus amigos Sidney, Wagner, Edison, Marcos, Aline, Patrícia, Francine, Carlinha, Claudinha, Juliana, Martini, Vergalho, Sonião, TD, Culhão e Cindy, Tenébrio, Pardo, Emu e Camila pelos ensinamentos e colaboração.

Aos amigos da Pós-Graduação do VNP e do VRA pela amizade.

Aos meus queridos Askov, Foca e Zoraide “Trio Parada Dura” por toda colaboração.

A CAPES pela bolsa concedida.

A DSM e ao Maurício Prata pelo apoio.

A todos os estagiários pela ajuda.

Ao Fabinho pela paciência e pela ajuda com os meus “meninos”.

A todos os funcionários do VNP, em especial a Cristiane, a Lúcia, a Alessandra, o Zequinha e o Júnior por todo o auxílio.

A todos os funcionários do Laboratório de TPOA e Bromatologia.

Aos funcionários da Fábrica de Ração, ao Edílson e sua equipe.

Ao Setor de Apoio, Limarque, Marcos, Bigode e Batatinha por toda a ajuda.

Aos funcionários da biblioteca, em especial a Elza pela colaboração e dedicação.

RESUMO

MARTINS, S.M.M.K. **Análise da interação vitamina A e o ambiente em reprodutores suínos** [Assessment of interaction between vitamin A and environment on boars]. 2006. 126 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

Os objetivos do estudo foram: (a) avaliar a influência da suplementação de vitamina A na dieta de cachaços nos parâmetros seminais: volume, motilidade, vigor espermático, pH, concentração espermática, número total de espermatozóides, percentual de espermatozóides vivos e anormalidades morfológicas ao longo do ano; (b) averiguar a variabilidade das características, em animais suplementados com vitamina A na dieta, frente às variações da temperatura nas estações do ano. A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Pesquisa em Suínos, da FMVZ-USP, utilizando-se 10 machos de linhagem híbrida e distribuídos em dois tratamentos, controle (nível de 25.000 UI de vitamina A/animal/dia) e suplementado com a vitamina A (nível de 40.000 UI de vitamina A/animal/dia). O delineamento foi inteiramente casualizado, com medidas repetidas no tempo, sendo os dados analisados utilizando o programa estatístico Statistical Analysis System (SAS). As probabilidades de interações com o tempo foram determinadas pelo teste de Greenhouse-Geisser Epsilon, considerando o nível de significância de 5%. Em relação aos efeitos da vitamina A durante o período de 1 ano, verificou-se que não houve diferença entre os tratamentos para os parâmetros seminais, não encontrando-se efeito de interação tempo e tratamento. Detectou-se efeito de tempo para os parâmetros pH, concentração espermática, número total de espermatozóides, percentual de espermatozóides vivos e anormalidades morfológicas. Já na averiguação da variabilidade também não foi constatado efeito de tratamento, porém houve efeito de estação do ano para todos os parâmetros e de temperatura para o percentual de espermatozóides vivos, pH e

anormalidades morfológicas, não sendo verificado efeito para os demais parâmetros. Inferiu-se com o estudo que, dada à condição metabólica diferencial dos animais híbridas, novas averiguações devem ser perseguidas para a relação nutrição e reprodução, uma vez que, os efeitos positivos da suplementação da vitamina A na espermatogênese foram evidenciados, principalmente nas características que mais se relacionam com a formação da célula espermática, as anormalidades morfológicas, percentual de espermatozóides vivos e número total de espermatozóides no ejaculado.

Palavras-chave: Vitamina A. Sazonalidade. Temperatura. Sêmen. Suíno

ABSTRACT

MARTINS, S.M.M.K. **Análise da interação vitamina A e o ambiente em reprodutores suínos** [Assessment of interaction between vitamin A and environment on boars]. 2006. 126 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

The objectives of the study were: (a) to evaluate the effect of vitamin A supplementation on boars' diet considering the parameters: volume, motility, spermatic vigor, seminal pH, spermatic concentration, total number of spermatozoa, percentage of living sperm cells and morphologic abnormalities during one year; (b) to investigate the variability founded against the temperature and seasons of the year on vitamin A supplemented animals seminal parameters. The research was developed in the Laboratory of Research in Swines, the FMVZ-USP, using 10 boars of hybrid lineages. Two treatments were used having the control (level of 25.000 UI of vitamin A/animal/day) and vitamin A supplemented group (level of 40.000 UI of vitamin A/animal/day). The statistical design was random, with repeated measured in time. The analyzed data used was the statistical program Statistical Analysis System (SAS). The probabilities of the interactions in time were determined by Greenhouse-Geisser Epsilon test, considering the significant level 5%. None of the evaluated parameters was significantly different and no detected interaction in time was found treatment. In relation to the effects of the vitamin A on supplementation in one year period it wasn't have differences among treatments on seminal parameters, and also there wasn't interaction in time and at treatment, however for pH, spermatic concentration, total number of spermatozoa, percentage of living sperm cells and morphologic abnormalities it was detected effect on time. In relation to the variability there wasn't treatment effect, however there was for all the parameters studied effect of the season. The effect of temperature was only for the percentage of living sperm

cells, pH and morphologic abnormalities. It was concluded that at a given metabolic condition of the hybrid animals, new ascertainments must be inquired for the relation nutrition and reproduction, a time that, the positive effect of the suplementation of the vitamin in spermatogenesis had been evidenced, mainly in the characteristics that more become related with the formation of the espermática cell.

Key words: Boar. Nutrition. Semen. Vitamin A. Seasonality

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO III

Figura 1 – Valores médios de temperatura do galpão (ºC) e umidade relativa do ar (%), agrupados por mês 61

Figura 2 – Valores médios e desvios-padrão do volume do ejaculado em mL, agrupados por mês 66

Figura 3 – Valores médios e desvios-padrão da motilidade espermática (%) no ejaculado agrupados por mês 69

Figura 4 – Valores médios e desvios-padrão do vigor espermático no ejaculado agrupados por mês 71

Figura 5 – Valores médios e desvios-padrão do pH no ejaculado por mês 74

Figura 6 – Valores médios e desvios-padrão da concentração espermática em 10^6 espermatozóides/mL 77

Figura 7 – Valores médios e desvios-padrão do número total de espermatozóides (109) no ejaculado agrupados por mês 80

Figura 8 – Valores médios e desvios-padrão do percentual de espermatozóides vivos (eosina-nigrosina) agrupados por mês 83

Figura 9 – Valores médios e desvios-padrão das anormalidades morfológicas agrupados por mês 86

CAPÍTULO IV

Figura 1 – Valores médios e desvios-padrão do volume e da temperatura do galpão nas 4 estações do ano 105

Figura 2 – Valores médios e desvios-padrão da motilidade espermática e da temperatura do galpão nas 4 estações do ano 107

Figura 3 – Valores médios e desvios-padrão do vigor espermático e da temperatura do galpão nas 4 estações do ano 109

Figura 4 – Probabilidades de transição entre os diferentes estados de vigor espermático, estimada conjuntamente para todo o conjunto de 10 animais 110

Figura 5 – Valores médios e desvios-padrão do pH e da temperatura do galpão nas 4 estações do ano 111

Figura 6 – Valores médios e desvios-padrão da concentração espermática e da temperatura do galpão nas 4 estações do ano 113

Figura 7 – Valores médios e desvios-padrão do número total de espermatozóides e da temperatura do galpão nas 4 estações do ano 114

Figura 8 – Valores médios e desvios-padrão do percentual de espermatozóides vivos e da temperatura do galpão nas 4 estações do ano 116

Figura 9 – Valores médios e desvios-padrão de anormalidades morfológicas e da temperatura do galpão nas 4 estações do ano 117

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO III

Tabela 1 – Composição da ração com os níveis de minerais e vitamina utilizados no experimento 56

Tabela 2 – Recomendação do consumo diário de ração para reprodutor (Kg/dia) 58

Tabela 3 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades do volume do ejaculado distribuídos nas 53 semanas 64

Tabela 4 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades da motilidade espermática distribuídos nas 53 semanas 67

Tabela 5 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades do vigor espermático distribuídos nas 53 semanas 69

Tabela 6 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades do pH distribuídos nas 53 semanas 72

Tabela 7 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades da concentração espermática distribuídos nas 53 semanas 74

Tabela 8 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades do número total de espermatozóides distribuídos nas 53 semanas 78

Tabela 9 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades do percentual de espermatozóides vivos (eosina-nigrosina) distribuídos nas 53 semanas 82

Tabela 10 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades das anormalidades morfológicas distribuídos nas 53 semanas 84

CAPÍTULO IV

Tabela 1 – Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável volume 106

Tabela 2 – Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável motilidade espermática 108

Tabela 3 – Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável pH 112

Tabela 4 – Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável concentração espermática 114

Tabela 5 – Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável número total de espermatozóides 115

Tabela 6 – Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável percentual de espermatozóides vivos (eosina-nigrosina) 117

Tabela 7 – Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável anormalidades morfológicas 118

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO 19
REFERÊNCIAS 21

CAPÍTULO II

1. REVISÃO DE LITERATURA 23
1.1 ASPECTOS ANATÔMICOS E ENDÓCRINOS DOS MACHOS 23
1.2 ESPERMATOGÊNESE 26
1.3 VITAMINA A E SEUS EFEITOS 27
1.3.1 **Metabolismo** 27
1.3.2 **Funções** 30
1.3.3 **Exigências** 33
1.4 SAZONALIDADE 34
REFÊRÊNCIAS 40

CAPÍTULO III – AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA A NOS PARÂMETROS SEMINAIS EM REPRODUTORES SUÍNOS

RESUMO 49
ABSTRACT 51

1 INTRODUÇÃO 53
2 MATERIAL E MÉTODO 55
2.1 LOCAL 55
2.2 ANIMAIS 55
2.3 TRATAMENTO 55
2.4 MANEJO 56
2.4.1 **Manejo nutricional** 56
2.5 ANÁLISE DE SÊMEN 58
2.6 AVALIAÇÃO DA TEMPERATURA 60
2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA 61
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 63
4 CONCLUSÃO 87
REFERENCIAS 88

CAPÍTULO IV – AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE DOS PARÂMETROS SEMINAIS NA INTERAÇÃO VITAMINA A, TEMPO E AMBIENTE EM REPRODUTORES SUÍNOS

RESUMO 93
ABSTRACT 95
1 INTRODUÇÃO 97
2 MATERIAL E MÉTODO 101
2.1 LOCAL E ANIMAIS 101
2.2 TRATAMENTO 101
2.3 ANÁLISE DE SÊMEN 102
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICAS 102
3 RESULATDOS E DISCUSSÃO 104
4 CONCLUSÃO 119
REFERENCIAS 121

CAPÍTULO V

CONSIDERAÇÕES FINAIS 126

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

Com o aperfeiçoamento da inseminação artificial, tem-se intensificado as averiguações de alguns parâmetros reprodutivos que envolvem os reprodutores suínos e a influência direta ou indiretamente dos mesmos na eficiência reprodutiva do plantel.

A alimentação assume papel relevante nos fenômenos reprodutivos, dada sua ação dirigida para a produção da célula espermática e, conseqüentemente na espermatogênese. A interação nutrição e reprodução nos reprodutores vêm despertando interesse científico, dada a amplitude biológica que reflete na prática, trazendo efeitos nas fases que envolvem a puberdade (períodos pré e pós-púbere), a libido, o vigor sexual, desenvolvimento das glândulas endócrinas. Neste contexto, os efeitos da alimentação, especificamente voltados à célula espermática ainda são pouco estudados, merecendo a devida averiguação.

A ação das vitaminas, e, especificamente a vitamina A apresenta sua ação dirigida na proteção do epitélio germinativo de machos, agindo também na estabilização da integridade das membranas celulares (CHEW, 1993). Segundo Rillo (1982), essa ação é reforçada e complementada pela interação com a vitamina E e D, e a vitamina C são importantes para estimular a libido e vigor sexual. As ações interativas direcionam para uma complexidade de reações metabólicas com efeitos na espermatogênese.

Na mesma linha de pensamento, vários outros fatores também interferem na espermatogênese e que de mesma forma, agem direta ou indiretamente. As variações climáticas, por exemplo, desempenham papel relevante sobre o desempenho de reprodutores, pois principalmente nos meses quentes os efeitos negativos são mais acentuados. Essa condição climática adversa afeta a fertilidade de cachaços e porcas, observados nos períodos de temperatura elevada acima dos níveis críticos. Na maioria dos mamíferos, são evidenciados prejuízos na espermatogênese no caso de degeneração testicular. Verificam-se

também, taxas de concepção menores em porcas no clima quente do ano (STONE, 1982). O efeito, portanto, do estresse térmico no macho se manifesta nas alterações morfológicas reduzindo a fertilidade.

Tendo como fundamento a ação da vitamina A foram propostos estudos que averiguassem, portanto, seus efeitos na qualidade do sêmen.

As novas perspectivas dentro dessa linha de pesquisa envolvem os demais componentes da célula espermática com estudos voltados para avaliação quantitativa e qualitativa das proteínas e hidratos de carbono do sêmen, formando o complexo que visa qualificar o sêmen, numa proposta multidisciplinar que vem sendo implantada.

REFERÊNCIAS

CHEW, B.P.; WONG, T.S.; MICHAL, J.J.; STANDAERT, F.E.; HEIRMAN, L.R. Kinectic characteristics of β-carotene uptake after injection of β-carotene in pigs. **Journal of Animal Science**, v.69, p.4883-4893, 1993.

RILLO, M.R. **Reproducción e inseminación artificial porcina**. Espanha: Aedos, 1982. p.72-73.

STONE, B.A. Heat induced infertility of boars: the inter-relationship between depressed sperm output and fertility and an estimation of the critical air temperature above which sperm output is impaired. **Animal Reproduction Science**, v.4, p.283-299, 1982.

CAPÍTULO II

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 ASPECTOS ANATÔMICOS E ENDÓCRINOS DOS MACHOS

O reprodutor suínos, atinge a puberdade, fisiologicamente, entre 5 a 8 meses de idade. Nessa fase, o peso oscila entre 80 a 120 kg, sendo considerado por Colenbrander et al. (1990) que a puberdade está mais relacionada à idade do que ao peso. Por sua vez, Williams (2000), relata que a puberdade inicia-se quando as primeiras células espermáticas maduras são encontradas na cauda do epidídimo, por volta de 120 dias de idade (4 meses).

Ainda Cunningham (2004), vem sugerir que a puberdade aparece no momento em que o animal é capaz de produzir número suficiente de células espermáticas passíveis de fecundar a fêmea. Na prática, poderia ser definida, quando o ejaculado apresentar $50x10^6$ espermatozóides, havendo no mínimo, em torno de 10% ou mais células que tenham motilidade.

Existem vários fatores que interferem na puberdade como os níveis de testosterona e de gonadotrofinas, o meio ambiente, a raça, além do nível nutricional (GONZÁLEZ, 2002).

Após a puberdade, o desenvolvimento corporal e genital prossegue até a completa estabilização do sistema reprodutivo, período esse que pode levar alguns meses, até o reprodutor iniciar seu condicionamento para a monta ou a inseminação artificial. Informações confirmam que essa estabilização é atingida aos 7 meses de idade do animal, justamente na época indicada para o início do condicionamento do cachaço jovem.

O sistema reprodutivo dos machos domésticos apresenta diferenças peculiares. No cachaço é composto pelo testículo, epidídimo, glândulas sexuais acessórias (próstata, vesícula

seminal e glândula bulbouretral) e pênis, tendo como função principal a produção de andrõgenos e de células espermáticas que se encontram no plasma seminal (ROMERO, 2005). Dentre as espécies domésticas, no cachaço observa-se um número elevado de espermatozóides por ejaculado e maior vascularização do testículo (MORETTI et al., 1992).

O controle hormonal do testículo é dependente da secreção do Fator Liberador de Gonadotrofinas (GnRH), pelo hipotálamo, que por sua vez, estimula a hipófise anterior, a secretar o Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e o Hormônio Luteinizante (LH) (GUYTON, 1988).

A liberação de FSH e LH obedece ao padrão pulsátil de secreção de GnRH. Pulsos de GnRH baixa amplitude resultam na liberação de FSH, enquanto pulsos de alta freqüência induzem a liberação de LH (CUNNINGHAM, 2004).

Os andrógenos produzidos pelos testículos são essenciais para o desenvolvimento dos órgãos sexuais acessórios, da genitália externa, incluindo a diferenciação testicular do macho, além da diferenciação sexual do cérebro, semelhante às outras espécies. O testículo, principal órgão genital masculino, desempenha funções essenciais como a espermatogênica, na qual há geração de células germinativas haplóides através da espermatogênese e na androgênica produzem-se andrógenos, através da esteroidogênese (MIES FILHO, 1987; CUNNINGHAM, 2004).

O testículo pode ser dividido em 3 compartimentos, de acordo com aspecto funcional: o compartimento do tecido intersticial, composto pelas células de Leydig que circundam e banham os túbulos seminíferos com fluido rico em testosterona; o compartimento basal com as espermatogônias, se dividindo continuamente por mitose e o compartimento adluminal que representa um meio especial onde os espermatócitos sofrem o processo de meiose para se diferenciarem em espermátides e finalmente em espermatozóides (CUNNINGHAM, 2004).

O LH estimula as células intersticiais de Leydig a produzir andrógenos, principalmente testosterona. Os andrógenos além de desenvolverem as características sexuais secundárias do macho, ainda mantêm a função reprodutiva. A testosterona também é secretada dentro do túbulo seminífero, onde é necessária para a manutenção da espermatogênese. O FSH interage com os receptores das células de Sertoli na produção da proteína carreadora de andrógenos (ABP), convertendo a testosterona em diidrotestosterona e estrógeno. Este atua no estímulo da espermatocitogênese, que se complementa com a liberação dos espermatozóides (espermiação), havendo ainda a secreção de inibina e ativina.

As células de Sertoli, também conhecidas como células sustentaculares, ocupam uma posição fundamental para a preservação de condições favoráveis às células presentes nos túbulos seminíferos, por serem o único tipo celular a ter contato com a camada mais externa do epitélio seminífero, com a luz dos túbulos e com os outros tipos celulares concomitantemente. Assim, juntamente com a membrana basal, a célula de Sertoli compõe a chamada barreira hemato-testicular, onde esta célula repousa sua base no limite dos túbulos seminíferos enquanto as espermatogônias situam-se cercadas por duas células de Sertoli adjacentes e as células germinativas em estágio mais avançado de diferenciação como as espermátides e espermatozóides encontram-se envoltas por profundas criptas citoplasmáticas das células de Sertoli presentes na superfície do lúmen (SETCHELL, 1990).

Esta barreira restringe a entrada de muitos compostos hidrofílicos pequenos que poderiam ser nocivos às células germinativas, bem como a saída de proteínas produzidas internamente e que poderiam provocar uma reação imune fora dos túbulos seminíferos (GARNER; HAFEZ, 1995).

A membrana basal do epitélio seminífero contém ainda células contráteis mióides (ASHDOWN; HAFEZ; 1995) que também estariam envolvidas no mecanismo seletivo da barreira hemato-testicular (GARNER; HAFEZ, 1995; SETCHELL, 1991).

1.2 ESPERMATOGÊNESE

A espermatogênese pode ser definida como um processo de divisão, diferenciação e maturação celular, mediado por hormônios e outras substâncias, pelo qual os espermatozóides são produzidos nos túbulos seminíferos dos testículos.

Dessa forma, a espermatogênese pode ser dividida em duas fases: a espermatocitogênese (de espermatogônia a espermátide) e a espermiogênese (de espermátide a espermatozóide), sendo essa divisão importante para as considerações necessárias que envolvem complexo de estudos referente aos efeitos da vitamina A. (MIES FILHO, 1987).

Já para Johnson (1991), a duração da espermatogênese na maioria das espécies é semelhante e compreende três fases, segundo a seqüência natural de ocorrência: (1) Espermatocitogênese – processo onde as espermatogônias (diplóides) passam por meiose resultando nos espermatócitos primários ou outras células de sua linhagem; (2) Meiose – fase de divisão pela qual o espermatócito secundário é transformado em espermatogônia (haplóide); (3) Espermiogênese – processo onde é a diferenciação morfológica da espermátide, a qual passa de célula esférica, aflagelada, para uma célula alongada, flagelada, o espermatozóide.

As espermatogônias são encontradas junto à membrana basal dos túbulos seminíferos e sua função é produzir (mitose) outras células da linhagem e repor o testículo em casos de danos às células germinativas. Apesar de haver uma diferença numérica entre as espécies, podem ser descritas 5 principais subtipos de espermatogônias: A1, A2, A3, B1 e B2. As diferenças entre estes subtipos devem-se a alterações nos cromossomos, que são longos nas espermatogônias do tipo A e mais curtos nas do tipo B (JOHNSON, 1991).

Os espermatócitos primários, resultantes da divisão mitótica das espermatogônias, encontram-se em diferentes fases: pré-leptóteno, leptóteno, zigóteno, paquíteno (inicial e final) e diplóteno (GARNER; HAFEZ, 1995).

A primeira divisão meiótica resulta na formação dos espermatócitos secundários. Após a segunda divisão meiótica surgem as espermátides, localizadas nos túbulos seminíferos. Nos estágios finais de seu desenvolvimento, estas células possuem uma cabeça aerodinâmica contendo enzimas e um núcleo condensado contendo o genoma masculino (JOHNSON, 1991)

As cabeças espermáticas ficam alojadas em profundos recortes denteados da superfície da célula de Sertoli, porém nunca realmente dentro do citoplasma. E, as espermatogônias, os espermatócitos e as espermátides em estágio de desenvolvimento são ligados entre si através de pontes intercelulares (sincício) que facilitam a sincronia no desenvolvimento ou degeneração, a diferenciação de espermátides haplóides e a fagocitose e digestão dos corpos residuais na etapa final da espermatogênese (RUSSEL; GRISWOLD, 1993).

1.3 VITAMINA A E SEUS EFEITOS

1.3.1 **Metabolismo**

A vitamina A, uma vitamina lipossolúvel, caracteriza-se por pertencer ao grupo de substâncias que apresentam as propriedades biológicas do retinol. Apresenta-se de duas formas, denominadas vitaminas A_1 e A_2 sendo a primeira a mais comum e principalmente encontrada na forma de retinol (álcool) nos produtos de origem animal (fígado, gema de ovos

e leite) e peixes de água salgada. A vitamina A_2 pode ser encontrada em peixes de água doce, diferindo da A_1 em sua estrutura molecular. A Vitamina, pode ainda ser encontrada na forma de aldeído (retinal) e na forma ácida (acido retinóico) (BERTECHINI, 1997).

Em produtos de origem vegetal não são encontrados a vitamina A propriamente dita, mas seus precursores denominados carotenos. Estes compostos são comumente conhecidos como pró-vitamina A, pois o organismo é capaz de transformá-los em vitamina ativa. Os principais carotenóides, em relação à atividade como pró-vitamina A são: α-caroteno, β-caroteno, γ-caroteno e criptoxantina (principal carotenóide do milho) (McDOWELL, 2000). E seus respectivos percentuais de conversão são: 53%, 100%, 53% e 57%, respectivamente (ISLABÃO, S.D.)

Dentre os precursores de vitamina A, os carotenóides, principalmente o β-caroteno, são encontrados em maior quantidade nos alimentos tais como os vegetais de cor amarela, laranja ou verde, frutas, legumes e verduras, e, são convertidos em vitamina A na mucosa intestinal e no fígado por hidrólise enzimática (MEDEIROS; PAULINO, 1999).

Este processo de conversão envolve duas enzimas a β-caroteno-15, 15'-diogenase que cliva o β-caroteno em uma molécula de ácido retinóico e outra de retinal, e, a retinaldeído redutase, que reduz o retinal em retinol ((McDOWELL, 2000)).

A maioria dos mamíferos é capaz de obter a vitamina A, a partir dos carotenóides, porém algumas espécies tem relativa habilidade nesta transformação. Algumas espécies como o rato, o suíno, a cabra, o carneiro, o coelho, o búfalo e o cão, são capazes de clivar quase todo o caroteno no intestino. Em humanos, bovinos, eqüinos e peixes (carpas) uma quantidade significativa é absorvida. Os bovinos, em especial, apresentam absorção diferenciada de acordo com a raça. O caroteno absorvido pode ser armazenado no fígado e no tecido adiposo, podendo ser observado nestes animais que tanto a gordura corpórea como o leite apresentam coloração amarelada (McDOWELL, 2000).

O principal sítio de absorção da vitamina A e dos carotenóides é na mucosa do jejuno proximal. A absorção da vitamina A no intestino ocorre na proporção de 80 a 90%, enquanto o β-caroteno cerca de 50 a 60% (McDOWELL, 2000). A eficiência na absorção da vitamina A diminui com o aumento da dose. Este fato foi comprovado por McDowell (2000), que demonstrou uma maior atividade de clivagem do β-caroteno intestinal em ratos deficientes de vitamina em comparação aos ratos com quantidades elevadas de vitamina A ou β-caroteno.

Continua o autor que os carotenóides são normalmente convertidos em retinol na mucosa intestinal, mas podem também ser convertidos no fígado e em outros órgãos, por exemplo nas aves. A vitamina A é encontrada no alimento primeiramente na forma de éster de palmitato. Este é hidrolizado no intestino delgado pela retinil éster hidrolase, o qual é secretado pelo pâncreas. Os sais biliares são utilizados tanto para a ativação desta enzima como para a formação das micelas. Normalmente, a vitamina A é absorvida quase exclusivamente como retinol (álcool). Dentro das células, o retinol é re-esterificado, em sua maior parte, a palmitato que pode ser incorporado nesta forma ou uma pequena quantidade pode ser oxidado a retinal e então em ácido retinóico.

A vitamina A é transportada através do sistema linfático por proteínas de baixa densidade, onde é depositada principalmente nos hepatócitos (90%), células estelares e células parenquimais (BLOMHOFF et al., 1991).

O retinol é transportado pela proteína ligada ao retinol (RBP). A RBP é sintetizada e secretada pelas células do parênquima hepático e sua secreção é regulada pelo estrógeno, pelo estado nutricional de vitamina A, proteína e zinco (McDOWELL, 2000).

Esta proteína ligada também atua exibindo os retinóides para as enzimas apropriadas para o metabolismo (McDOWELL, 2000). Algumas das principais formas de proteínas ligadas aos retinóides intracelulares (citoplasmático) são: as proteínas ligadas ao retinol celular (CRBP I e II), a proteína ligada ao ácido retinóico celular (CRABP I e II), a proteína

ligada ao retinaldeído celular (CRALBP), e os seis receptores de ácido retinóico nucleares (RAR α, β, γ e RXR α, β, γ) (KIM; WANG, 1993; SHARPE, 1994; McDOWELL, 2000).

O retinol celular e as proteínas ligadas ao ácido retinóico CRBP (I, II) e CRABP (I, II) atuam no transporte e metabolismo de retinóides dentro das células parenquimais, intestinais, reprodutivas e fetais, e através da barreira entre órgão e corrente sangüínea. A proteína ligada ao retinol sérico age o epidídimo e no útero (McDOWELL, 2000). A RBP uterina tem sido identificada no útero de suínos com a função transmitir retinol ao feto (CLAWITTER et al., 1990).

Normalmente 80% da vitamina A ingerida são absorvidos e distribuídos, suprindo as necessidades orgânicas por um período de 3 a 12 meses, e o restante conjuga-se com o ácido glicurônico e é eliminado pelas fezes ou sofre oxidação hepática e renal sendo eliminada pela urina (MEDEIROS; PAULINO, 1999).

1.3.2 **Funções**

A vitamina A é essencial na alimentação de mamíferos, aves e peixes e tem importante função sobre a visão (retina), o crescimento normal da maioria das células e, sobretudo, para o crescimento e a proliferação normal dos diferentes tipos de células epiteliais (ácido retinóico). E necessária para o crescimento ósseo e muscular, além de exercer função essencial na reprodução e no desenvolvimento embrionário (MEDEIROS; PAULINO, 1999).

A ausência da vitamina provoca a estratificação e queratinização do epitélio. É exigida, portanto, na manutenção do epitélio que recobre todos os canais, cavidades e áreas de exposições externas, onde atua diretamente na síntese de mucopolissacarídeos. A

queratinização dos epitélios é o resultado da perda de sua capacidade secretora, tornando-se susceptíveis às infecções (BERTECHINI, 1997).

Uma outra importante atuação está relacionada à síntese de hormônios esteróides, a partir do colesterol orgânico, nas gônadas, placenta e adrenais. Nos casos de deficiência, observam-se alterações histológicas dos órgãos reprodutivos de machos e fêmeas, tornando as glândulas atróficas e mesmo quando ocorrer à fecundação, o feto poderá ser reabsorvido ou nascer defeituoso ou morto (BERTECHINI, 1997). Por influenciar na esteroidogênese ovariana e no desenvolvimento uterino, a deficiência de vitamina A em porcas pode causar o nascimento de leitões fracos, mal formados e natimortos (PALLUDAN, 1975).

Os retinóides atuam diretamente no desenvolvimento embrionário, regulando a diferenciação, proliferação celular e na transcrição de alguns genes (CHIOCCA et al., 1988; BEDO et al., 1989).

Em estudos feitos em marrãs, esta vitamina atua também no útero afetando a produção de progesterona ovariana e, em situações de deficiência pode alterar a composição de glicosaminaglicanas da placenta que são fundamentais para o desenvolvimento fetal (McDOWELL, 2000).

Estudos pioneiros mostraram que a espermatogênese é influenciada pela vitamina A em ratos machos. Demonstrou-se que em animais com deficiência desta vitamina, os túbulos seminíferos apresentavam apenas células de Sertoli, espermatogônias e alguns espermatócitos, estando ausentes às células germinativas em desenvolvimento, fundamentais para a espermatogênese (WOLBACH; HOWE, 1925, MASON, 1933).

O retinol, após sua transformação em ácido retinóico pelas células testiculares, participa da espermatogênese, promovendo a diferenciação espermática, a adesão das células germinativas às células de Sertoli, e a liberação de espermatozóides no lúmen do túbulo seminífero (VERNET et al., 2006).

Em ratos machos com deficiência de retinol, mas que receberam suplementação de ácido retinóico, há um processo de atrofia nos túbulos seminíferos, demonstrando que o ácido retinóico é incapaz de dar suporte para o processo reprodutivo (DOWLING; WALD, 1960). Porém, esses mesmos animais mantinham constante o nível de produção de testosterona, levando os autores a concluir que o ácido retinóico pode manter a esteroidogênese, mas não a espermatogênese (APPLING; CHYTIL, 1981).

Segundo Rillo (1982), a vitamina A torna-se imprescindível junto com o complexo B e vitamina C no estímulo da libido e vigor sexual, favorecendo a motilidade, volume e porcentagem de espermatozóides vivos no ejaculado.

No testículo de ratos deficientes em vitamina A, a espermatogênese foi bloqueada no estágio de espermatogônia A e a suplementação de retinóide restabeleceu a espermatogênese, ocorrendo concomitantemente em todos os túbulos seminíferos (MORALES; GRISWOLD, 1987; LIVERA et al., 2002).

O efeito sobre a espermatogônia ainda não está bem estabelecido, a ação pode ser direta, ou seja, a vitamina A sendo essencial para a divisão da espermatogônia A1 ou é uma conseqüência secundária da alteração da função das células de Sertoli pela interrupção do desenvolvimento da espermatogônia A1 (KIM; WANG, 1993; SHARPE, 1994; FLOWERS, 1997). A degeneração das células germinativas pós-meiose acompanhada da diminuição de vitamina A é sugerido como um fator importante na queda de função das células de Sertoli (UNNI et al.,1983; SHARPE, 1994).

Os retinóides também são prejudiciais em doses excessivamente elevadas. A hipervitaminose A em ratos reduz a massa testicular, produz lesões no epitélio seminífero e perturbações no ritmo da espermatogênese (BISWAS; DEB,1965; LIVERA et al., 2002).

Esses relatos destacam a importância da averiguação da ação da vitamina A no complexo funcional e metabólico de formação da célula espermática, dados seus efeitos de modo sutil no espermatozóide.

1.3.3 **Exigências**

Para se estabelecer o nível satisfatório de vitamina A na dieta é necessário considerar os fatores que podem alterar as exigências, como por exemplo, o tipo e nível de produção, pois quanto maior a taxa de produção maiores serão as exigências; a fase do ciclo tais como gestação, lactação; as diferenças em relação a espécie, raça; a alteração na função da tireóide, que pode reduzir a eficiência na conversão dos carotenóides em vitamina A, as condições estressantes como temperatura ambiente, presença de infecções (McDOWELL, 2000).

Outros fatores podem afetar o metabolismo e aumentar as exigências da vitamina A. Estes incluem os nitratos livres no alimento, proteína inadequada, deficiência de zinco e baixas quantidades de fósforo na dieta (MEDEIROS; PAULINO, 1999).

A exigência de vitamina A recomendada pelo NRC (1998) para reprodutores é de 4.000 UI/Kg. Vale ressaltar, que para suínos a conversão de 1 mg de β-caroteno equivale a 500 UI de vitamina A, apresentando apenas 30% de eficiência (McDOWELL, 2000).

König (1979), referindo-se a suplementação da vitamina A para cachaços utilizados em regime de colheita na inseminação artificial, preconiza a ingestão de 40.000 UI de vitamina A/dia/animal, num consumo total de 2,5 a 3,0 kg de ração/dia. Os premixes e núcleos comercializados no mercado nacional, normalmente utilizados para a fabricação de rações destinadas aos reprodutores doadores de sêmen, disponibilizam de 18.000 a 23.000 UI

de vitamina A, num consumo de 2,5 a 3,0 kg de ração/dia, o que de certo são mais baixos do que é preconizado pelo autor.

Tal programa (de 18.000 a 23.000 UI vitamina A), por outro lado, pode conduzir à diminuição da concentração espermática e à elevação da incidência de anormalidades morfológicas do sêmen. Pondera o autor, que a alimentação do macho reprodutor deva ser oferecida em níveis adequados, pois há uma influência decisiva na quantidade e qualidade espermática, que acaba refletindo na vida útil do reprodutor. É bem evidente a deficiência acentuada da vitamina manifestada pela descamação da pele, deficiência de crescimento em animais jovens, infertilidade que vem associada à atrofia do epitélio germinativo dos testículos e, por vezes, à interrupção do ciclo sexual feminino, além da queratinização da córnea e cegueira (GUYTON; HALL, 1998). O oferecimento em níveis limítrofes da real necessidade para a eficiência na produção espermática é um tópico, portanto, de interesse na relação nutrição e reprodução.

1.4. SAZONALIDADE

Os testículos, assim como qualquer outra parte do organismo, apresenta mecanismos gerais e específicos para controlar a temperatura. O que permite a ocorrência da termorregulação testicular são as características anatômicas dos testículos e do escroto. A pele escrotal é desprovida de gordura subcutânea, mas rica em glândulas sudoríparas (ASHDOWN; HAFEZ, 1995). Stabenfeldt e Edqvist (1996) afirmam, por outro lado, que os mecanismos especializados são fundamentais na regulação da temperatura testicular. Antes de sua chegada ao testículo, o sangue arterial é resfriado por um sistema de “contra-corrente”,

onde troca calor com o sangue venoso no plexo pampiniforme localizado externamente e cranialmente aos testículos.

Sabe-se que a temperatura nos testículos deve se manter de 4 a 5°C abaixo da temperatura corporal para que a espermatogênese ocorra normalmente (KASTELIC; COULTER; COOK, 1995). Para isto, é imprescindível a presença de um eficiente mecanismo de termorregulação para o perfeito funcionamento do sistema reprodutivo. Em condições amenas, os mecanismos de termorregulação são capazes de manter a temperatura interna dos testículos em torno de 4 a 7° C abaixo da temperatura retal quando a temperatura ambiente está entre 5 e 21 °C (STABENFELDT; EDQVIST, 1996). Caso a temperatura ambiental se eleve acima de 35 °C, esta diferença de temperatura pode ser reduzida para aproximadamente 2 °C, refletindo uma dificuldade do organismo em manter a temperatura testicular dentro da faixa adequada para o órgão.

O estresse calórico prolongado causa mudanças nos padrões de secreção de cortisol, tiroxina, prolactina e hormônio luteinizante (LEE, 1993), resultando em redução na taxa de concepção de 66% para 35% e aumento de 25% na perda embrionária. Em machos, além das alterações sistêmicas que incluem alterações nos sistemas respiratório, circulatório e nos padrões hormonais de secreção, pode haver aumento da temperatura testicular conseqüente às alterações sistêmicas ou aumento da temperatura por ação direta do calor sobre os testículos.

Para o melhor desempenho de suas funções, os testículos dos mamíferos devem ser mantidos em temperatura inferior à corpórea (HAFEZ, 2004). Cunningham (2004), relata que o escroto juntamente com os músculos cremasteres e a própria vascularização do testículo, atuam protegendo e regulando a temperatura. A menor diferença entre as temperaturas escrotais e retais, que oscilam de 2 a 3 °C é devido ao escroto ser menos penduloso e a sudorese menos eficiente no suíno (STONE, 1982).

A sazonalidade influencia a reprodução através de fatores como a luminosidade, a temperatura, a nutrição e suas interações (COLENBRANDER et al., 1990).

Define-se zona de termoneutralidade como a zona que vai desde a temperatura crítica baixa (LCT) até a temperatura mais alta (UCT) e na qual a taxa metabólica é mínima e é dependente da espécie, idade do animal, isolamento corpóreo, estatus nutricional e condições ambientais tais como, a velocidade e a umidade do ar (CORCUERA et al., 2002).

Na realidade há uma diversidade de opiniões sobre a temperatura ambiente ótima para o cachaço, 16-18°C (STONE, 1982), e 16-28°C (VAN GROELAND, 1993), 16 a 29°C para a raça Large White (STONE, 1982).

A luminosidade acelera o início do comportamento de monta e diminui a idade a primeira colheita (HOAGLAND; DIEKMAN, 1982). Parece não haver influencia na puberdade pela alteração do GnRH presente no hipotálamo ou dos hormônios gonadotróficos presentes na hipófise. Por outro lado, a concentração de testosterona plasmática durante o desenvolvimento tende a ser elevada em cachaços jovens, aumentando durante a diminuição do fotoperíodo, comparado aos cachaços adultos que se eleva durante o aumento do fotoperíodo (CLAUS; WEILLER, 1985), porém as concentrações séricas de hormônios gonadotróficos e testosterona não foram afetados pelo aumento na luminosidade (HOAGLAND; DIEKAMN, 1982).

No caso do estresse térmico, tem sido observado aumento da proporção de proteínas semelhantes á albumina básica no plasma seminal, tornando a célula espermática menos apropriada para a congelação (CAMERON; BLACKSHAW, 1980; COLENBRANDER et al., 1990).

O efeito da exposição do macho reprodutor a temperaturas elevadas se faz presente na espermatogênese de forma imediata, severa e consistente, diferentemente da ação de outros fatores como a nutrição (CHRISTENSON et al., 1972; WETTEMANN; BAZER, 1985).

Esta ação tem sido bem evidenciada nos meses quentes do ano (verão), provocando a redução no desempenho reprodutivo dos cachaços (THIBAULT et al., 1966), que de certa forma redunda na queda da qualidade do sêmen (Mc NITT; FIRST, 1970; WETTEMANN et al., 1976). Esta redução durante o estresse térmico vem associada à redução da taxa de prenhez e aumento da mortalidade embrionária (CHRISTENSON et al., 1972; WETTEMANN et al., 1976). Ocorre também a diminuição do número de espermatozóides totais do ejaculado, tendendo a aumentar o porcentual de alterações espermáticas, sendo mais encontrada como anormalidade a cauda dobrada (ABRAHÃO et al., 2003).

A exposição dos machos a temperaturas elevadas por 3 dias, comprova a redução da qualidade do sêmen e este efeito perdura por um período de 6 a 8 semanas após a exposição (Mc NITT; FIRST, 1970; CHRISTENSON et al., 1972).

Segundo Wettemann et al. (1979), a exposição dos machos a temperaturas elevadas (31 e 34.5 °C por 6 semanas) não influenciou a habilidade do ejaculado ou o volume do sêmen, mas a porcentagem de espermatozóides móveis diminuiu e o número de espermatozóide com acrossoma lesado aumentou. A porcentagem de espermatozóides móveis não retornou ao normal até 5 semanas após o termino do estresse térmico.

O tempo de exposição mínimo ao estresse e temperatura crítica que leva a diminuição da produção de sêmen tem sido relatado em ser de 72 horas (Mc NITT; FIRST, 1970) e 30 °C (STONE, 1982), respectivamente. Entretanto, a maioria dos estudos emprega períodos longos de exposição (1-4 semanas) e temperaturas elevadas na faixa de 33 a 37 °C. Deve-se atentar, portanto, para as averiguações que associam o tempo de exposição e a temperatura e, neste particular, são relevantes os estudos que avaliam as alterações na célula espermática nas diferentes estações do ano.

A exposição crônica a temperaturas elevadas, ocorre rotineiramente durante os meses quentes do verão, sendo necessário o emprego de alternativas que ofereçam maior bem estar

aos animais, uma delas refere-se a ventilação mecânica que traz melhoria das condições de ambiente. A detecção da influência do estresse térmico vem manifesta após 2 semanas com a indicação de produção de sêmen anormal (WETEMANN et al., 1979). Os dados mostram evidências indiretas de que o cachaço pode também ser sensível a períodos crônicos de temperatura moderada a elevada, não associada normalmente com condições de estresse térmico. O maior intervalo entre o aumento da temperatura e os primeiros sinais da anormalidade na produção de sêmen, reflete-se na gradual redução da habilidade do cachaço em dissipar calor, redirecionando a energia de forma a compensar o aumento da demanda para manutenção da neutralidade térmica.

Há um confundimento, entre o efeito da temperatura e do fotoperíodo sobre a produção de sêmen. Tanto é que Mazzari et al. (1968), verificaram que a exposição de machos a períodos longos do dia provocou redução no número total de espermatozóide. Em contraste, (CLAUS; WEILLER, 1985), observaram incremento na produção de espermatozóide tanto pelo aumento de luz natural ou artificial. Brandt e Dieckman (1985), não observaram nenhum efeito do aumento da luminosidade sobre a espermatogênese ou concentração de LH e testosterona. Em machos na fase pré-púbere, o fotoperíodo influenciou positivamente na produção espermática, constatando-se que o aumento da luminosidade apressava o início da função testicular não produzindo efeitos consistentes sobre os aspectos celular e endócrino da espermatogênese (BRANDT e DIECKMAN, 1985; HOAGLAND E DIEKMAN, 1982).

A influência, portanto, do estresse térmico sobre a qualidade seminal é um processo gradual (WETTEMANN et al., 1979), havendo um retardo de 2 semanas desde o início do estresse térmico até a redução da motilidade (Mc NITT e FIRST, 1970; WETTEMANN et al., 1979). Sugere-se que os espermatozóides do epidídimo são mais resistentes ao estresse

térmico do que aqueles presentes no testículo, ou que a função epididimária é alterada depois de vários dias de estresse (WETTEMANN; BAZER, 1985).

REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, AAF.; VIANNA, W.L.; MORETTI, A S. Efeito da sazonalidade sobre a concentração e características morfológicas espermáticas em reprodutores suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 11., 2003, Goiânia. **Anais…** Goiânia, 2003. 483p. p.225-226

APPLING, D. R.; CHYTIL, F. Evidence of a role for retinoic acid (vitamin A-acid) in the maintenance of testosterone production in male rats. **Endocrinology**, v.108, p.2120-2124, 1981.

ASHDOWN, R.R.; HAFEZ, E.S.E. Anatomia da Reprodução Masculina. In*:* HAFEZ, E.R. **Reprodução Animal.** 6. ed. São Paulo: Manole, 1995, p.3-13.

BEDO, G.; SANTISTEBAN, P.; ARANDA, D. Retinoic acid regulates growth hormone gene expression. **Nature**. v.339, p.231-234, 1989.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos.** Lavras: FAEPE/UFLA, 1997, 255p.

BISWAS, N.M.; DEB, C. Testicular degeneration in rats during hypervitaminosis A **Endocrinology.** v.49, p.64-69, 1965.

BLOMHOFF, R.; GREEN, M.H.; GREEN, J.B.; BERG, T.; NORUM, K.R.Vitamin A metabolism: new perspectives on absorption, transport, and storage. **Physiology Reviews**, v.71, p.951-990, 1991.

BRANDT, K.E.; DIEKMAN, M.A. Influence of suplemental lighting on serum LH, testosterone and semen quality in prepubertal and postpubertal boars. **Animal Reproduction Science**. v.8, p.287-294, 1985.

CAMERON, R.D.A.; BLACKSHAW, A.W. The effect of elevated ambient temperature on spermatogenesis in the boar. **Journal of Reproduction and Fertility.** Supplement 59, p.173-179, 1980.

CHIOCCA, E.A.; DAVIES, P.J.A.; STEIN, J.P. The molecular basis of retinoic acid action. **Journal of Biological Chemistry**. v.263, p.11584-11589, 1988.

CHRISTENSON, R.K.;TEAGUE, H.S.; GRIFO JR., A.P.; ROLLER, W.L. The effect of high environmental temperature on the boar. **Ohio Swine Research and Information Report**. Research Summary. v.61, p.19-23, 1972.

CLAUS, R.; WEILER, U. Influence of light and photoperiodicity on pig prolificacy. **Journal of Reproduction and Fertility**. Supplement 33, p.185-197, 1985.

CLAWITTER, J.; TROUT, W. E.; BURKE, M.G.; AREGHI, S.; ROBERTS, R.M. A novel family of progesterone-induced, retinol-binding proteins from uterine secretions of the pig **Journal of Biological Chemistry.** v.265, p.3248-3255, 1991.

COLENBRANDER, B.; KEMPT, B. Factors influencing semen quality in pigs. **Journal of Reproduction and Fertility**, Supplement 40, p.105-115, 1990.

CORCUERA, B.D.; HÉRNANDEZ-GIL, R.; DE ALBA ROMERO, C.; MARTÍN RILLO, S. Relationship of enviroment temperature and boar facilities with seminal quality. **Livestock Production Science.** v.74, p.55-62, 2002.

CUNNINGHAM, J.G. Fisiologia reprodutiva do macho. In:_____ **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, 890p.

DOWLING, J. E.; WALD, G. The role of vitamin A acid. **Vitamins & Hormones.** v.18, p.515-541, 1960.

FLOWERS, W.L. Management of boars for efficient semen production. **Journal of Reproduction and Fertility.** Supplement 52, p.68-78, 1997.

GARNER, D.L.; HAFEZ, E.S.E. Espermatozóides. In*:* **Reprodução Animal.** HAFEZ, E.R. (Ed.) 6. ed. São Paulo: Manole, 1995, p.187-211.

GONZÁLEZ, F.H.D. Endocrinologia reprodutiva do macho. In:_____ **Introdução a endocrinologia reprodutiva veterinária**. 2002, p.1-13.

GUYTON, A. C.; HALL. J. E. **Fisiologia humana e mecanismos das doenças**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 525 p.

GUYTON, A.C. Funções reprodutivas e hormonais do homem, e a glândula pineal. In:_____ **Tratado de fisiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

HAFEZ, E.S.E. Anatomia funcional da reprodução masculina. In:_____ **Reprodução animal**. São Paulo: Manole, 2004.

HOAGLAND, T.A.; DIECKMAN, M.A. Influence of supplemental lighting during increasing daylength on libido and reproductive hormones in prepubertal boars. **Journal of Animal Science**. v.55, p.1483-1489, 1982.

ISLABÃO, N. Vitamina A. In: _____ **Vitaminas: seu metabolismo no homem e nos animais domésticos**. 2. ed. São Paulo: Nóbia, S.D. p.29-48.

JOHNSON, L. Spermatogenesis. In: CUPPS, P.T. **Reproduction in Domestic Animals.** 4. ed. San Diego: Academic Press, p.173-219, 1991.

KASTELIC, J.P.; COULTER, G.H.; COOK, R.B. Scrotal surface, subcutaneous, intratesticular and intraepididymal temperatures in bulls. **Theriogenology.** v.44, p.147-152, 1995.

KIM, K.H.; WANG, Z.O. Action of vitamin A on the testis: role of the Sertolli cell. In: Russell, L.D.; Griswold, M.D. **The Sertolli cell**. Clearwater, Florida: Cache River Press; p.515-535, 1993.

KÖNING. I. **Inseminacion de la cerda**. Zaragoza: Acriba, 1979. 181 p.

LEE, C.N. Environmental stress effects on bovine reproduction. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.** v.9, n.2, p.263-273, 1993.

LIVERA, G.; ROUILLER-FABRE, V.; PAIRAULT, C.; LEVACHER, C.O.; HABERT, R. Regulation and perturbation of testicular functions by vitamina A. **Reproduction.** v.124, p.173-180, 2002.

MASON, K. E. Differences in testis injury and repair after vitamin A-deficiency. vitamin E-deficiency and inanition. **American Journal Anatomy**, v.52, p.153-239, 1933.

MAZZARI, G.; du MESNIL du BUISSON, F.; ORVANT, R. Action de la température et de la lumière sur la spermatogènèse, la production et le puvior fècondant du sperme de verrat. In: **6th Cong. Intern. Reprod. Insem. Artif**. Paris, v.1, p.305-308, 1968

Mc DOWELL, L.R. Vitamin A. In: _____ **Vitamins in animal and human nutrition**.2. ed. Iowa: Academic Press, 2000, p.15-90.

Mc NITT, J.I.; FIRST, N.L. Effects of 72 hour heat stress on semen quality in boars. **International Journal of Biometeorology**. v.14, n.4, p.373-380, 1970.

MEDEIROS, R.M.T.; PAULINO, C.A. Vitaminas. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIAK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, p.541-554.

MIES FILHO, A **Reprodução dos animais domésticos e inseminação artificial**. Porto Alegre: Sulina. v.5, 1987, 380p.

MORALES, C.; GRISWOLD, D. Retinol-induced synchronization in semineferous tubules of the rat. **Endocrinology.** v.21, p.432-434, 1987.

MORETTI, A.S.; BORELLI, V.; TONIOLLO, H.G. Vascularização arterial do testículo de suínos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.29, n.1, p.345-352, 1992.

National Research Council (NRC) **Nutrient Requirements of Swine**. 10th revised edition. 189p. National Academy of Sciences, Washington DC., 1998.

PALLUDAN, B. II The influence of vitamin A on reproduction in sows. Danish-USSR Symposium. **Vitamins & Trace Minerals in Animal Nutrition.** Proceedings Moscow. Russia. 1975.

RILLO, M.R. **Reproducción e inseminación artificial porcina**. Aedos, p.72-73, 1982.

ROMERO, C. A.; FALCETO, M. V. Controle da Reprodução do Cachaço. **Suis**, n.6, p.10-18, 2005.

RUSSEL, L.D.; GRISWOLD, M.D. **The Sertoli cell**. Cache Rivers Press: 1993. p.801.

SETCHELL, B.P. Spermatogenesis and spermatozoa. In: AUSTIN, C.R.; SHORT, R.V. **Reproduction in Mammals:** germ cells and fertilization. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. p.63-101.

SETCHELL, B.P. Male Reprodutive Organs and Semen. In: CUPPS, P.T. **Reproduction in Domestic Animals,** 4. ed. San Diego: Academic Press, 1991. p.221-249.

SHARPE, R.M. Regulation of spermatogenesis. In:_____ **The Physiology of Reproduction**. 2.ed. New York: Raven Press, p.1363-1418, 1994.

STABENFELDT, G.H.; EDQVIST, L.E. Processos Reprodutivos no Macho In*:* SWANSON, J.M.; REECE, W.O. (Ed.). **Dukes – Fisiologia dos Animais Domésticos.** 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.603-614.

STONE, B.A. Heat induced infertility of boars: the inter-relationship between depressed sperm output and fertility and an estimation of the critical air temperature above which sperm output is impaired. **Animal Reproduction Science**, v.4, p.283-299, 1982.

THIBAULT, C.; COUROT, M.; MARTINET, L.; MAULEON, P.; du MESNIL du BUISSON, F.; ORTAVANT, R.O.O.; PELLETIER, J. E.; SIGNORET, J.P. Regulation of breeding season and estrous cycles by light and external stimuli in some mammals. **Journal of Animal Science**.v 25, p.119-124, 1966.

UNNI, E.; RAO, M. R. S.; GANGUL, Y. J. Histological an ultrastructural studies on the effect of vitamin A depletion and subseqüent repletion whit vitamin A on germ cells and Sertolli cells in rat testis. **Indian Journal of Experimental Biology,** v.21, n.4, p.180-192, 1983.

VAN GROELAND, G.L. Alojamiento de verracos para IA. **ANAPORC.** v.128, p.57-59, 1993.

VERNET, N.; DENNEFELD, C.; ROCHETTE-EGLY, C.; OULAD-ABDELGHANI, M.; CHAMBON, P.; GHYSELINCK, N. B.; MARK, M. Retinoic acid metabolism and signaling pathways in the adult and developing mouse testis. **Endocrinology,** v.147, n.1, p.96-110, 2006,.

WETTEWMANN, R.P.; WELLS, M.E.; OMTVEDT, I.T.; POPE, C.E. e TURMAN, E.J. Influence of elevated ambient temperature on reproductive performance of boars. **Journal of Animal Science.** v.42, p.664-668, 1976.

WETTEMANN, R.P.; WELLS, M.E.; JOHNSON, R.K. Reproductive characteristics of boars during and after exposure to increased ambient temperature. **Journal of Animal Science.** v.49, p.1501-1505, 1979.

WETTEMANN, R.P.; BAZER, F.W. Influence of environmental temperature on prolificacy of pigs. **Journal of Reproduction and Fertility**, Supplement 33, p.199-208, 1985.

WILLIANS, S. Fisiologia y endocrinologia en el verraco. In: **VII SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM SUÍNOS,** Foz do Iguaçú, Paraná, p.10-18, 2000.

WOLBACH. S. B.; HOWE. P. R. Tissues changes following deprivation of fat-soluble A vitamin. **Journal Experimental Medicine**, v.42, p.753, 1925.

CAPÍTULO III – AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA A NOS PARÂMETROS SEMINAIS EM REPRODUTORES SUÍNOS

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da suplementação de vitamina A na dieta de machos reprodutores sobre os parâmetros seminais: volume, motilidade e vigor espermático, pH, concentração espermática, número total de espermatozóides, percentual de espermatozóides vivos e anormalidades morfológicas, no período de 1 ano (junho/2004 a junho/2005). O estudo foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Suínos, da FMVZ Campus – USP, Pirassununga-SP, utilizando 10 machos reprodutores híbridos com aproximadamente 327 dias de idade e peso em torno de 166 Kg. Os animais foram distribuídos em dois tratamentos, controle com nível de 10.000 UI de vitamina A/Kg de ração/dia,e , vitamina A com nível de 16.000 UI de vitamina A/Kg de ração/dia sendo arraçoados com 2,5 Kg de ração ao dia. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com medidas repetidas no tempo. Os dados foram analisados utilizando o programa estatístico Statistical Analysis System (SAS) e as probabilidades de interações com o tempo foram determinadas pelo teste de Greenhouse-Geisser Epsilon, considerando-se o nível de significância de 5%. Não verificou-se efeito significativo de tratamento para nenhum dos parâmetros e, nem de interação com o tempo. Averiguou-se efeito significativo para o tempo nos parâmetros pH, concentração espermática, número total de espermatozóides, percentual de espermatozóides vivos e anormalidades morfológicas, não sendo constatado efeito, apenas uma tendência para a motilidade e o vigor espermático. Embora não tenha sido possível detectar diferenças entre os tratamentos, a vitamina A influenciou positivamente o aumento médio da motilidade e o percentual de espermatozóides vivos, bem como a diminuição do percentual de anormalidades morfológicas, comprovando seu efeito na formação da célula espermática. Os achados evidenciaram efeito que deve ser estendido na qualidade da célula espermática, dada sua ação

dirigida à espermatogênese, especificamente atuando em determinados estágios da formação da célula.

Palavras chaves: Vitamina A. Sêmen. Suíno. Nutrição

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of vitamin A feed supplementation on the following boars semen parameters: volume, motility, vigor, seminal pH, spermatic concentration, total number of spermatozoa, percentage of living sperm cells and morphologic abnormalities, in an 1 year period (june/2004 until july/2005). The study was carried out at the Laboratory of Research in Swines, FMVZ- USP, Pirassununga-SP, in which 10 hybrid boars with approximately 327 days of age and 166 Kg of live weight. The animals were distributed in two treatments: control, fed daily with a level of 10,000 UI/Vitamin A/Kg; and vitamin A feed supplementation, in which the amount of daily vitamin A intake was 16,000 UI/Vitamin A/Kg. The feeding regime was 2.5 Kg of ration by animal by day. Experimental design was completely randomized, with repeated in time measures. Statistical analyses were performed by the statistical program Statistical Analysis System (SAS), and the probabilities of interactions with time had been determined by the test of Greenhouse-Geisser Epsilon; values were considered to be statistically significant when $p < 0.05$. In relation to the effects of the vitamin A on supplementation in one year period there was no statistically significant treatment effect for none of the parameters verified, and also there was no interaction in time and at treatment. The effect of time has been evaluated for such parameters: seminal pH, spermatic concentration, total number of spermatozoa, percentage of living sperm cells and morphologic abnormalities, not being evidenced effect at all for none of them, only a trend towards motility and vigor. Although it has not possible to detect differences between both treatments, vitamin A positively influenced the average increase of motility and the percentage of living sperm cells, as well as the reduction of the percentage of morphologic abnormalities, proving the effect of the vitamin A upon formation of sperm cells. Those

findings could be applied in order to improve the sperm cells quality, for the vitamin A action towards spermatogenesis.

Key words: Vitamin A. Semen. Swine. Nutrition.

1 INTRODUÇÃO

Na suinocultura moderna intensifica-se a averiguação dos parâmetros reprodutivos relacionados aos fatores que podem interferir direta ou indiretamente na eficiência reprodutiva do plantel. Nessa evolução, o papel do reprodutor e influências no rebanho, tem merecido maior atenção nos estudos, com pouco destaque na interação da nutrição nos parâmetros reprodutivos e, consequentemente na qualidade do sêmen, apesar de contribuir com 50% do material genético do plantel (SOBESTIANSKY et al., 1998). Esta interação pode trazer benefícios, quanto a idade à puberdade, a libido, ao vigor sexual, no desenvolvimento e a manutenção das glândulas endócrinas (CLOSE & COLE, 2001).

Levando em consideração a ração utilizada para os reprodutores, verifica-se que os premixes e núcleos comercializados no mercado nacional normalmente disponibilizam quantidades variadas de vitamina A, acontecendo em determinadas situações níveis inferiores às necessidades básicas.

Segundo König (1979), a manutenção da alimentação em níveis adequados oferecidas ao macho reprodutor tem influência marcante na quantidade e qualidade espermática, com reflexos na vida útil do reprodutor. No complexo vitamínico oferecido ao animal à vitamina A é encontrada em diferentes formas (retinóides, ácido retinóico e retinil), sendo necessária para o crescimento normal da maioria das células e, sobretudo, para o crescimento e a proliferação normal dos diferentes tipos de células epiteliais, e, podendo sua ausência provocar a estratificação e queratinização do epitélio (BERTECHINI et al., 1997).

Estudos vários reportam-se aos efeitos da suplementação de vitamina A em ratos, mostrando resultados positivos relacionados à espermatogênese, na melhora da formação da célula espermática (APPLING; CHYTIL, 1981; FLOWERS, 1997; KIM; WANG, 1993).

Como a vitamina A atua na síntese de hormônios esteroidais a partir do colesterol orgânico nas gônadas, placenta e adrenais, os casos de deficiência, levam a alterações histológicas dos órgãos reprodutivos de machos e fêmeas, tornando as glândulas atróficas. Mesmo se ocorrer fecundação, o feto poderá ser reabsorvido ou nascer defeituoso ou ainda morto (BERTECHINI, 1997).

A deficiência de retinol, em ratos, mesmo na suplementação de acido retinóico, dá origem a atrofia nos túbulos seminíferos, demonstrando que o ácido retinóico é incapaz de dar suporte para o processo reprodutivo (DOWLING; WALD, 1960), mesmo na manutenção constante de produção da testosterona, concluindo-se que o ácido retinóico mantém a esteroidogênese, mas não a espermatogênese. (APPLING; CHYTIL, 1981).

Os retinóides atuam diretamente no desenvolvimento embrionário, regulando a diferenciação, proliferação celular e na transcrição de alguns genes (CHIOCCA et al., 1988; BEDO et al., 1989).

Segundo Livera (2002), a ação das vitaminas, especificamente a vitamina A atua protegendo o epitélio germinativo de machos, e na estabilização da integridade das membranas celulares. Rillo (1982), reforça, essa ação, complementando que a vitamina E e D agem em conexão com a vitamina A. As ações interativas direcionam para complexas reações metabólicas com seus efeitos na célula espermática. Vários outros fatores também interferem na espermatogênese e que de mesma forma, agem direta ou indiretamente. As variações climáticas, por exemplo, desempenham papel relevante, do mesmo modo que o nutricional.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da suplementação de vitamina A na dieta de cachaços em relação aos parâmetros seminais ao longo do ano (Junho/04 a Junho/05).

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 LOCAL

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Suínos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo - FMVZ/USP, Campus Pirassununga-SP.

Os animais foram alojados individualmente em baias, providas de bebedouros tipo chupeta, comedouros individuais e lâmina d'água, cuja metragem por animal correspondeu a 9,76m^2.

2.2 ANIMAIS

Foram utilizados 10 machos adultos híbridos com aproximadamente 1 ano de idade (327 dias) e 166 Kg, provenientes de uma granja comercial. Os animais foram escolhidos levando em consideração a procedência, o grau de parentesco, a idade e o peso, com o intuito de homogeneizar o lote.

2.3 TRATAMENTOS

Os animais foram distribuídos em dois tratamentos, tratamento 1, controle (T1), onde foi oferecida ração basal específica para machos reprodutores com 25.000 UI de vitamina A/animal/dia e tratamento 2, suplementado com vitamina A (T2), semelhante ao T1, porém suplementada com 40.000 UI de vitamina A/animal/dia.

2.4 MANEJO

2.4.1 **Manejo nutricional**

A ração oferecida aos animais obedeceu à composição apresentada na tabela 1. O consumo estabelecido foi de 2,4 a 3,0 kg /dia, conforme esquema de oferecimento especificado na tabela 2.

O período experimental foi de julho de 2004 a julho de 2005, quando completou um total de 53 colheitas por animal. A ração do tratamento suplementado, tratamento T2 teve um acréscimo de 16.000 UI de vitamina A/kg, de modo a adequar o oferecimento de 2,5 kg/macho/dia, para totalizar as 40.000 UI de vitamina A /animal/ dia preconizada.

Tabela 1 - Composição da ração e níveis de minerais e vitaminas utilizadas no experimento

(Continua)

	Rações/Grupo Animais	
Ingrediente	**Controle**	**Vitamina A**
Milho	600,5	600,5
Farelo de Trigo	180	180
Farelo de Soja	162	162
Óleo Degomado de Soja	20	20
Fosfato Bicálcico Serrana 23	13	13
Cálcario 37%	12,148	12,148
Sal Comum	5	5
DL-Metionina	3,17	3,17
Cloreto de Colina 60%	1	1

Tabela 1 - Composição da ração e níveis de minerais e vitaminas utilizadas no experimento

(Continua)

	Rações/Grupo Animais	
Ingrediente	**Controle**	**Vitamina A**
Rovimix Suínos Reprodução	1	1
Roligomix Suínos	1	1
L-Lisina	0,17	0,17
L-Treonina	1	1
Mycosorb	1	1
Rovimix A 750	0	0,01333
Total	1000	1000
Suplemento Vitamínico		
Vitamina A	10.000	**20.000**
Vitamina D3	2.000	2.000
Vitamina E	50.000	50.000
Vitamina K3	2.000	2.000
Vitamina B1(Tiamina)	2.000	2.000
Vitamina B2(Riboflavina)	6.000	6.000
Vitamina B6(Piridoxina)	3.000	3.000
Vitamina B12	30.000	30.000
Niacina(Vitamina PP)	30.000	30.000
Pantotenato de Cálcio	10.000	10.000
Biotina (Vitamina H)	0,2000	0,2000
Ácido Fólico	3.000	3.000
Colina	18.271	18.271
Suplemento Mineral		
Cálcio	0,8000	0,8000
Fósforo Total	0,7297	0,7297
Fósforo Disponível	0,4000	0,4000
Sódio	0,2158	0,2158
Potássio	0,7426	0,7426
Magnésio	0,2095	0,2095
Cloro	0,3539	0,3539
Ferro	3.112,819	3.112,819
Cobre	100	100
Zinco	1.000	1.000
Manganês	400	400
Cobalto	1.000	1.000
Iodo	1.500	1.500
Selênio	0,300	0,300

Tabela 1 - Composição da ração e níveis de minerais e vitaminas utilizadas no experimento (Conclusão)

	Rações/Grupo Animais	
Ingrediente	**Controle**	**Vitamina A**
Nutriente		
Umidade	107142	107142
Proteína	15.000	15.000
Extrato Etéreo	51734	51734
Matéria Mineral	44236	44236
Fibra Bruta	41965	41965
Fibra Detergente	163378	163378
Cálcio	0,800	0,800
Fósforo total (%)	0,7297	0,7297
Fósforo disponível	0,4000	0,4000
Proteína Bruta		
Energia Digestível		
Energia Metabolizável	3.150	3.150
Lisina Total	0,7305	0,7305

Tabela 2 - Recomendação de consumo diário de ração para o reprodutor (kg/dia)*

Peso Vivo do Macho (kg)	Dieta Simples Macho (EM= 3150 Kcal)	Dieta Gestação (EM= 2900 Kcal/kg)
100	2,40	2,50
150	2,40	2,50
200	2,65	2,75
300	2,90	3,00
350	3,10	3,20

(*) EM= Energia Metabolizável

2.5 ANÁLISE DE SÊMEN

Os machos passaram por exames andrológicos mensais, como complemento da homogeneização dos animais, no qual foi mensurado o tamanho dos testículos total e

individual, direito, esquerdo, as medidas no sentido longitudinal e transversal total e individual e o comprimento da cauda do epidídimo, sendo também registradas as alterações verificadas. Todas as mensurações foram regularmente feitas até o final da experimentação.

Os animais após o condicionamento para a colheita de sêmen, foram submetidos a um total de cinqüenta e três (53) colheitas durante o período experimental sem incluir o nivelamento. A freqüência de colheita adotada foi a cada sete (07) dias, objetivando um total de 530 amostras no período total do experimento.

As colheitas foram realizadas, pela manhã, na sala de colheita, com prévia higienização do prepúcio do macho e empregando-se o método da mão enluvada (KING e MACPHETERSON, 1973). Utilizou-se becker previamente aquecidos a 35 °C, adaptados com papel filtro para o acondicionamento do sêmen, e separação da fração gelatinosa da fração líquida do ejaculado. Este frasco foi protegido por um recipiente isotérmico.

Imediatamente após a colheitas, o sêmen foi analisado considerando-se os parâmetros volume, motilidade e vigor espermático, pH, concentração espermática por mL, número total de células espermáticas no ejaculado, percentual de espermatozóides vivos e mortos e anormalidades morfológicas.

O volume do ejaculado foi mensurado no próprio frasco coletor. Para obtenção do pH do sêmen utilizou-se o pHgâmetro de bancada. A motilidade e o vigor espermático foram avaliados a partir do sêmen recém adquirido, com auxílio de microscópio ótico comum, no aumento de 10 x.

Para a análise da concentração espermática foi utilizado a câmera de Neubauer, na diluição 1:100.

A avaliação do percentual de espermatozóides vivos e mortos foi feita pela técnica de coloração Eosina-Nigrosina, no qual utilizou-se o esfregaço (MIES FILHO, 1987).

As anormalidades espermáticas foram preparadas em solução de formol salina, na qual se adicionou gotas de sêmen até a turvação da solução. Fez-se a homogeneização, preparo da amostra sem corante, para avaliação das anormalidades morfológicas, em microscópio de interferência diferencial, com aumento de 1000 x, numa contagem diferencial de 300 células, avaliando-se acrossoma, cabeça, colo, peça intermediária, cauda, presença de gota e notificando o numero total de anormalidades Scheid (1993).

2.6 AVALIAÇÃO DA TEMPERATURA

Com o intuito de avaliar o efeito da suplementação de vitamina A na dieta de cachaços e, este sobre a formação da célula espermática, especificamente em relação à qualidade dessa formação, pensou-se em analisar juntamente com a temperatura, pois já é conhecida sua influência negativa quanto a esse quesito. E para isso mediu-se diariamente a temperatura do galpão com termômetro de máximo e mínimo, e a umidade relativa do ar pela estação metereológica presente no local do estudo.

A variação encontrada para temperatura média do galpão foi de 16 a 26 ºC e em relação à umidade relativa do ar verificou-se variação de 51 a 84%. Percebeu-se que não era tão simples averiguar essa relação e, então se buscou testes estatísticos mais específicos, junto ao Instituto de Matemática e Estatística (IME) especificamente no Centro de Estatística Aplicada (CEA).

A figura 1 demonstra o comportamento da temperatura o galpão e da umidade relativa do ar durante o período experimental distribuído por mês, de modo a facilitar a observação e o entendimento da variação das mesmas.

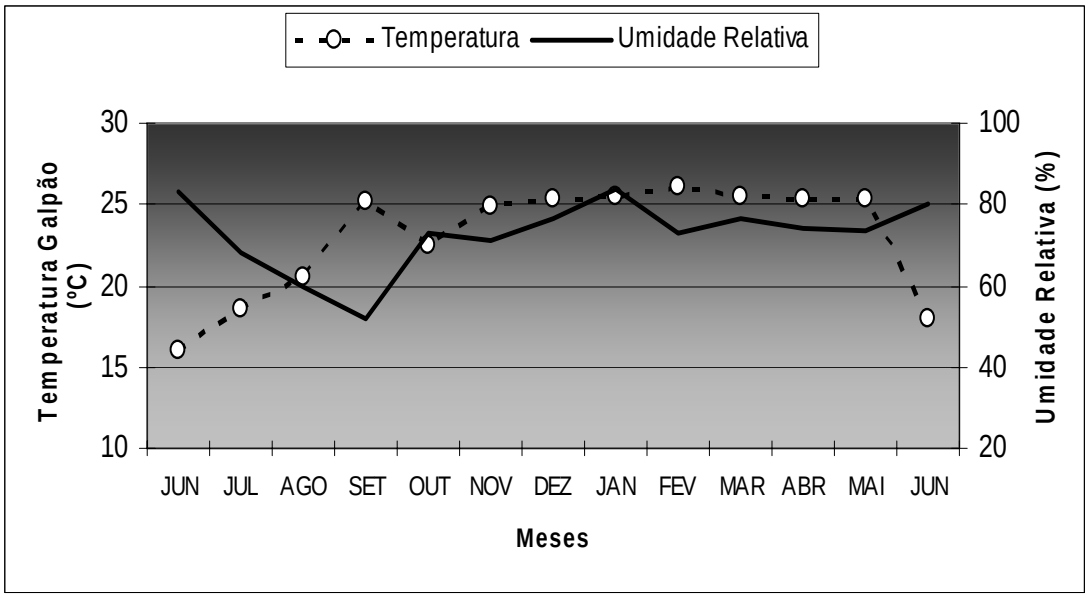

Figura 1 – Valores médios de temperatura do galpão (ºC) e umidade relativa do ar (%) agrupados por mês

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com medidas repetidas no tempo, referentes aos diversos momentos de amostragem. Os dados obtidos dos procedimentos experimentais foram analisados utilizando o programa estatístico Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 1996), com prévia verificação da normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE). As probabilidades de interações com o tempo foram determinadas pelo teste de Greenhouse-Geisser Epsilon, utilizando-se o comando REPEATED gerado pelo procedimento GLM (PROC GLM do SAS). As análises por tempo somente foram realizadas quando as interações entre tempo e tratamentos foram significativas. Em todas as análises estatísticas, o nível de significância considerado foi 5%.

As variáveis analisadas foram: volume, motilidade e vigor espermático, pH, concentração espermática por mL, número total de células espermáticas no ejaculado,

percentual de espermatozóides vivos e mortos e anormalidades morfológicas. O nível de significância considerado foi de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao parâmetro volume do ejaculado não foi observado diferença significativa para os tratamentos ou para a interação tempo e tratamento (0,5903), porém houve diferença em relação ao tempo, expresso em semanas. Verificou-se que o tratamento controle manteve um maior volume em quase todo o período experimental, sendo observado na média das 53 semanas valores de 305,53 mL vs 285,98 mL para o tratamento controle e suplementado com vitamina A, respectivamente (Tabela 3). Este resultado está de acordo com os achados de Abrahão (2006), que também verificou essa diferença entre os tratamentos, utilizando os mesmos níveis de vitamina A, durante um menor período de avaliação.

Com o passar dos meses houve um aumento gradativo do volume do ejaculado para ambos os tratamentos, o que pode ser devido à própria evolução dos cachaços. Evolução esta, no desenvolvimento que pode estar relacionada, à variação individual. É importante acrescentar que a amostra foi homogeneizada levando em consideração a raça, idade, peso, cruzamento (irmãos e meio-irmãos), ao início do condicionamento e período de colheita propriamente dito, mas não em relação à qualidade do sêmen. Esse aumento no volume verificado no presente estudo, pode ser devido ao aumento no líquido seminal devido à própria variação individual do animal. Como era esperada, a vitamina A não exerceu influência positiva sobre o volume, uma vez que, sua ação está mais direcionada ao crescimento e proliferação das células do que estimulando as vesículas seminais.

A literatura demonstra essa evidência destacando através dos estudos de Kim e Wang (1993) e Flowers (1997), que a vitamina A age em determinados estágios da formação da célula espermática. O retinol, após sua transformação em ácido retinóico pelas células testiculares, participa da espermatogênese, promovendo a diferenciação espermática, a adesão

das células germinativas às células de Sertoli, e liberação de espermatozóides no lúmen do túbulo seminífero, após sua transformação em ácido retinóico nas células testiculares (VERNET et al., 2006).

Os valores médios e desvios-padrão apresentados na figura 2 foram agrupados por mês de modo a facilitar sua visualização e conseqüente compreensão, uma vez que, os valores médios e desvios-padrão por semana são apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades do volume do ejaculado, distribuídos nas 53 semanas

(Continua)

	TRATAMENTO		**PROBABILIDADE**
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
0	247,00 ± 52,27	278,00 ± 94,00	0,5405
1	246,00 ± 72,06	243,00 ± 50,82	0,9528
2	302,00 ± 65,63	249,00 ± 72,06	0,2956
3	268,00 ± 35,11	264,00 ± 69,23	0,9370
4	277,00 ± 13,51	250,00 ± 93,00	0,5940
5	245,00 ± 40,77	254,00 ± 105,00	0,8589
6	290,00 ± 41,53	278,00 ± 70,00	0,8127
7	269,00 ± 51,00	242,00 ± 99,48	0,5940
8	252,00 ± 57,73	237,00 ± 68,24	0,7671
9	198,00 ± 38,83	187,00 ± 38,34	0,8280
10	258,00 ± 41,62	235,00 ± 81,00	0,6497
11	246,00 ± 52,00	219,00 ± 80,00	0,6008
12	256,00 ± 69,10	239,00 ± 77,01	0,7371
13	274,00 ± 48,27	258,20 ± 75,50	0,7550
14	281,00 ± 77,81	264,00 ± 123,41	0,7371
15	215,00 ± 23,18	194,00 ± 58,57	0,6784
16	259,00 ± 30,00	257,00 ± 83,00	0,9685
17	285,00 ± 41,83	228,00 ± 79,10	0,2607
18	263,00 ± 49,07	253,00 ± 79,10	0,8435
19	288,00 ± 47,64	244,00 ± 92,00	0,3851
20	286,00 ± 40,22	255,00 ± 72,02	0,5405
21	287,00 ± 79,65	244,00 ± 92,42	0,3960
22	258,00 ± 58,59	255,00 ± 75,41	0,9528
23	320,00 ± 53,73	288,00 ± 92,00	0,5275
24	268,00 ± 85,00	272,00 ± 91,55	0,9370
25	322,00 ± 93,40	283,00 ± 108,32	0,4414
26	321,00 ± 41,00	281,00 ± 100,02	0,4297
27	295,00 ± 43,16	266,00 ± 70,50	0,5669
28	318,00 ± 50,82	256,00 ± 117,00	0,2212
29	251,00 ± 54,82	259,00 ± 73,00	0,9685

Tabela 3 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades do volume do ejaculado, distribuídos nas 53 semanas

(Conclusão)

	TRATAMENTO		PROBABILIDADE
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
30	331,00 ± 60,00	280,00 ± 86,00	0,3141
31	280,00 ± 77,86	298,00 ± 62,00	0,7223
32	305,00 ± 46,37	307,00 ± 121,00	0,9685
33	319,00 ± 92,23	306,00 ± 150,00	0,7974
34	322,00 ± 53,10	270,00 ± 94,00	0,3048
35	308,00 ± 33,47	320,00 ± 119,00	0,8127
36	297,00 ± 81,00	298,40 ± 130,00	0,9779
37	307,00 ± 87,93	335,00 ± 82,00	0,5858
38	289,00 ± 90,30	336,00 ± 101,45	0,3536
39	299,00 ± 80,88	321,00 ± 108,00	0,6640
40	317,00 ± 63,50	332,00 ± 108,00	0,7671
41	398,00 ± 88,64	374,00 ± 128,00	0,6356
42	432,00 ± 74,00	405,00 ± 116,00	0,5940
43	358,00 ± 87,30	335,00 ± 123,00	0,6497
44	372,00 ± 48,00	356,00 ± 109,30	0,7520
45	383,00 ± 75,22	370,00 ± 90,14	0,7974
46	388,00 ± 110,03	384,00 ± 148,04	0,9370
47	365,00 ± 84,04	324,00 ± 49,00	0,4183
48	368,00 ± 51,55	309,00 ± 32,00	0,2443
49	388,00 ± 51,20	355,00 ± 93,34	0,5147
50	412,00 ± 50,00	366,00 ± 96,50	0,3639
51	436,00 ± 40,22	328,00 ± 101,00	0,0334
52	364,00 ± 51,00	322,50 ± 119,00	0,4399
MÉDIA	305,53 ± 77,37	285,98 ± 97,72	

Tempo*Tratamento = Greenhouse-Geisser Epsilon = 0,5903

Esse resultado foi contrário ao verificado por Rillo (1982), que relatou haver um efeito positivo da vitamina A sobre o volume do ejaculado, não sendo observada na literatura utilizada concordância com o achado do presente estudo.

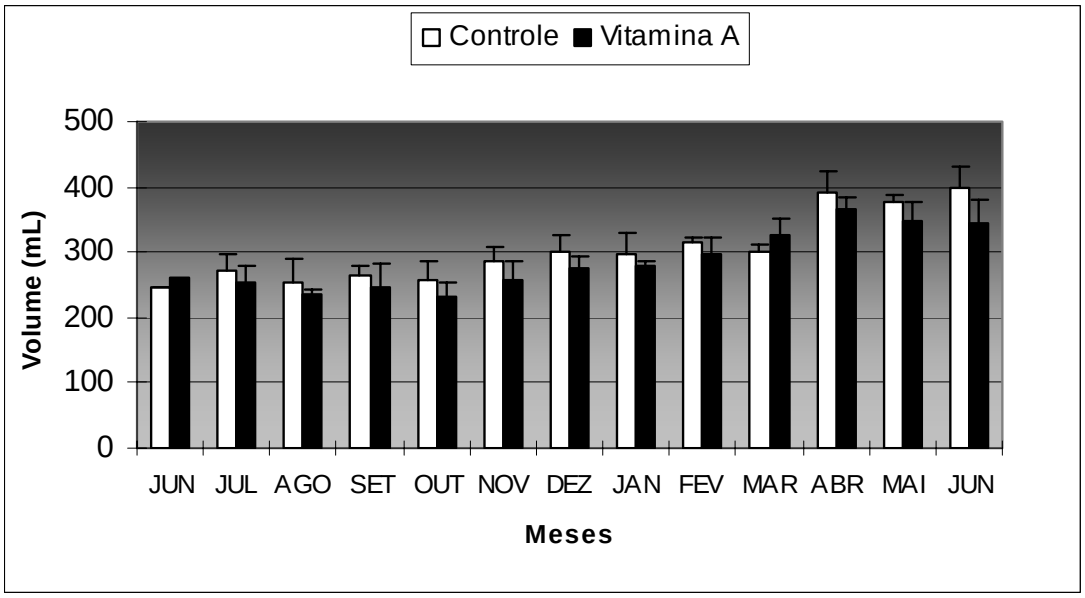

Figura 2 - Valores médios e desvios-padrão do volume do ejaculado em mL agrupados por mês

O parâmetro motilidade não evidenciou diferença significativa entre os tratamentos, em relação ao tempo ou a interação tempo e tratamento (0,2666), mostrando apenas uma tendência à significância para o fator tempo. Não foram constatadas grandes diferenças entre os valores médios percentuais de motilidade espermática nos tratamentos, sendo encontrados valores médios para o período experimental de 67% vs 79% para o tratamento controle e suplementado com vitamina A, respectivamente (Tabela 4).

Este resultado discorda dos achados por Rillo (1982), Aikama et al. (2003) e Abrahão (2006), que verificaram efeito significativo da vitamina A em relação à motilidade.

Utilizando-se o acetato de retinol em camundongos que haviam recebido tratamento prévio com bisfenol A (substância de ação estrogência), observaram aumento da motilidade espermática e diminuição de anormalidades espermáticas (RILLO, 1982; AIKAMA et al., 2003).

Ao se trabalhar com níveis de vitamina A muito distintos a diferença torna-se facilmente detectada como nos trabalhos citados acima, exceto o realizado por Abrahão (2006), que utilizou os mesmos níveis de suplementação por um curto período de tempo (25

semanas). Se forem observados os valores médios percentuais de motilidade no período experimental averiguado por Abrahão (2006), nota-se que também não houve muita diferença (73% vs 83% para o tratamento controle em comparação a vitamina A, respectivamente), porém ao se ampliar essa mesma observação para o período de 1 ano (53 semanas), esse efeito acaba sendo mascarado, e portanto, parece não ser semelhante, mas na realidade manteve-se a mesma proporção em relação aos tratamentos (Figura 3). Apesar da não diferença significativa observou-se na média valor superior da motilidade para o tratamento suplementado com vitamina A.

Segundo Abdulkareem et al. (2004), um dos motivos pelo qual a vitamina A pode comprometer a motilidade é pelo aumento nas anormalidades espermáticas, principalmente em cauda e peça intermediária.

Como foi verificado que esse parâmetro apresentava muita variabilidade entre os tratamentos, buscou-se outros testes estatísticos mais específicos que pudessem melhor estudar essa característica, esse resultado é apresentado no capítulo IV.

Tabela 4 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades da motilidade espermática, distribuídos nas 53 semanas

(Continua)

	TRATAMENTO		**PROBABILIDADE**
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
0	91,25 ± 2,50	85,00 ± 7,10	0,0878
1	90,00 ± 4,10	90,00 ± 6,12	1
2	84,00 ± 2,50	83,00 ± 7,00	0,8374
3	86,25 ± 2,50	83,00 ± 4,50	0,3740
4	90,00 ± 0,0	87,00 ± 4,50	0,4119
5	89,00 ± 2,5	87,00 ± 3,00	0,6321
6	90,00 ± 0,0	85,00 ± 5,00	0,1718
7	87,50 ± 3,00	81,00 ± 7,40	0,0759
8	84,00 ± 2,50	81,00 ± 4,20	0,4519
9	82,50 ± 3,00	82,00 ± 3,00	0,8912
10	82,50 ± 3,00	78,00 ± 4,50	0,2186
11	81,25 ± 5,00	79,00 ± 2,24	0,5382
12	80,00 ± 0,0	79,00 ± 5,50	0,7844
13	80,00 ± 0,0	81,00 ± 2,24	0,7844

Tabela 4 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades da motilidade espermática, distribuídos nas 53 semanas

(Conclusão)

	TRATAMENTO		PROBABILIDADE
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
14	81,25 ± 2,50	82,00 ± 3,00	0,8374
15	75,00 ± 4,10	71,00 ± 12,45	0,2741
16	79,00 ± 2,50	79,00 ± 5,50	0,9455
17	80,00 ± 4,10	79,00 ± 2,24	0,7844
18	80,00 ± 4,10	79,00 ± 5,50	0,7844
19	80,00 ± 0,0	79,00 ± 5,50	0,7844
20	76,25 ± 7,50	77,00 ± 7,00	0,8374
21	76,25 ± 5,00	74,00 ± 6,52	0,5382
22	80,00 ± 4,10	76,00 ± 4,20	0,2741
23	81,25 ± 2,50	81,00 ± 2,24	0,9455
24	81,25 ± 2,50	78,00 ± 3,00	0,3740
25	80,00 ± 0,0	79,00 ± 2,24	0,7844
26	77,50 ± 3,00	79,00 ± 2,24	0,6815
27	77,50 ± 3,00	80,00 ± 0,0	0,4940
28	75,00 ± 7,10	78,00 ± 3,00	0,4119
29	76,25 ± 5,00	79,00 ± 2,24	0,4519
30	75,00 ± 4,10	77,00 ± 3,00	0,5842
31	77,50 ± 5,00	77,00 ± 4,50	0,8912
32	75,00 ± 4,10	77,00 ± 4,50	0,5842
33	75,00 ± 4,10	77,00 ± 4,50	0,5842
34	76,25 ± 5,00	77,00 ± 4,50	0,8374
35	77,50 ± 3,00	79,00 ± 2,24	0,6815
36	77,50 ± 3,00	78,00 ± 3,00	0,8912
37	74,00 ± 5,00	77,00 ± 4,50	0,3740
38	76,25 ± 2,50	78,00 ± 3,00	0,6321
39	74,00 ± 9,50	79,00 ± 2,24	0,1514
40	77,50 ± 5,00	79,00 ± 2,24	0,6815
41	72,50 ± 3,00	76,00 ± 6,51	0,3385
42	75,00 ± 4,10	77,00 ± 4,50	0,5842
43	76,25 ± 2,50	77,00 ± 4,50	0,8374
44	74,00 ± 6,30	76,00 ± 4,20	0,5382
45	76,25 ± 5,00	78,00 ± 4,50	0,6321
46	72,50 ± 9,00	77,00 ± 4,50	0,2186
47	74,00 ± 6,30	77,00 ± 4,50	0,3740
48	72,50 ± 9,00	78,00 ± 4,50	0,1329
49	70,00 ± 7,10	78,00 ± 4,50	0,0291
50	70,00 ± 0,0	76,00 ± 5,50	0,1012
51	67,50 ± 5,00	73,00 ± 6,00	0,1329
52	62,00 ± 29,30	77,50 ± 5,00	0,0001
MÉDIA	67,00 ± 24,41	79,00 ± 5,40	

Tempo*Tratamento = Greenhouse-Geisser Epsilon = 0,2666

Optou-se demonstrar os resultados de motilidade, na figura 3, distribuídos por mês ao invés de semanas, pois desta maneira o gráfico ficou mais claro e de fácil entendimento.

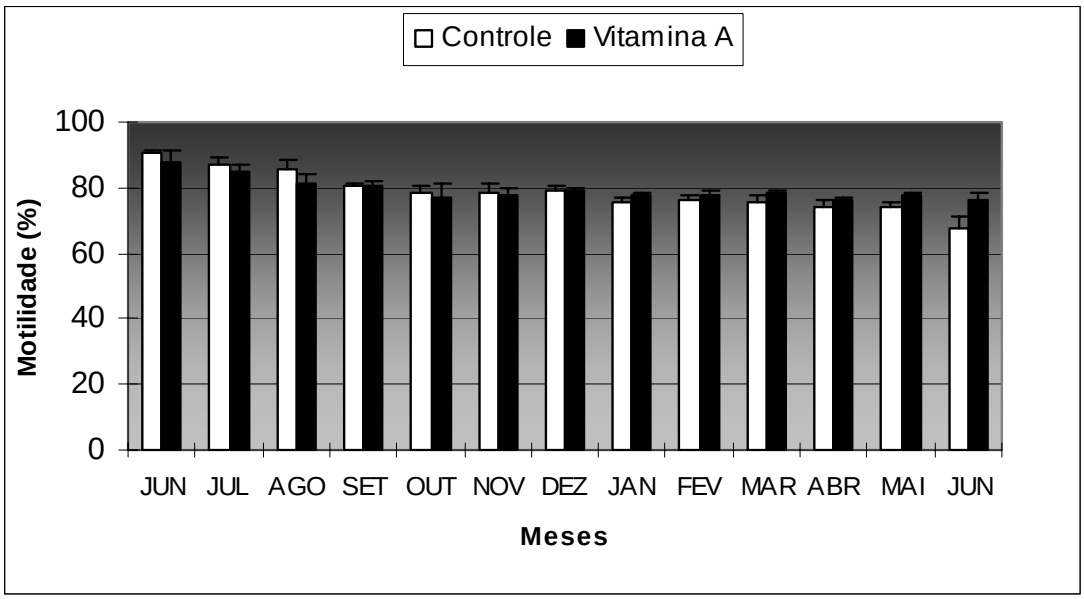

Figura 3 – Valores médios e desvios–padrão da motilidade espermática (%) agrupados por mês

Em relação ao vigor espermático não foi observado efeito significativo entre os tratamentos, para o tempo ou a interação tempo e tratamento (0,5022), demonstrado na tabela 5, havendo apenas uma tendência à significância em relação ao tempo.

Os valores médios do tratamento com suplementação de vitamina A apresentaram-se superiores quando comparado ao tratamento controle durante todo o período experimental. Os valores médios do período foram 3,3 vs 3,8 para o tratamento controle e suplementado com vitamina A, respectivamente.

Tabela 5 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades do vigor espermático, distribuídos nas 53 semanas

(Continua)

	TRATAMENTO		**PROBABILIDADE**
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
0	3,6 ± 0,90	4,0 ± 0,0	0,4624
1	3,4 ± 1,34	4,0 ± 0,0	0,2705
2	3,4 ± 1,34	4,0 ± 0,0	0,2705

Tabela 5 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades do vigor espermático, distribuídos nas 53 semanas

(Continua)

	TRATAMENTO		PROBABILIDADE
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
3	3,4 ± 1,34	4,0 ± 0,0	0,2705
4	3,4 ± 1,34	4,0 ± 0,0	0,2705
5	3,4 ± 1,34	3,8 ± 0,45	0,4624
6	3,6 ± 0,90	3,8 ± 0,45	0,7132
7	4,0 ± 0,0	4,0 ± 0,0	1
8	4,0 ± 0,0	4,0 ± 0,0	1
9	4,0 ± 0,0	4,0 ± 0,0	1
10	3,8 ± 0,45	4,0 ± 0,0	0,7132
11	3,6 ± 0,90	4,0 ± 0,0	0,4624
12	3,8 ± 0,45	4,0 ± 0,0	0,7132
13	3,6 ± 0,90	4,0 ± 0,0	0,4624
14	3,6 ± 0,90	4,0 ± 0,0	0,4624
15	3,0 ± 1,22	3,4 ± 0,55	0,4624
16	3,4 ± 1,34	4,0 ± 0,0	0,2705
17	3,8 ± 0,45	3,8 ± 0,45	1
18	3,4 ± 0,90	3,6 ± 0,55	0,7132
19	3,4 ± 0,90	3,8 ± 0,45	0,4624
20	3,4 ± 1,34	3,8 ± 0,45	0,4624
21	3,6 ± 0,90	3,8 ± 0,45	0,7132
22	3,2 ± 1,30	3,8 ± 0,45	0,2705
23	3,4 ± 1,34	4,0 ± 0,0	0,2705
24	3,4 ± 1,34	4,0 ± 0,0	0,2705
25	3,4 ± 1,34	4,0 ± 0,0	0,2705
26	3,2 ± 1,30	4,0 ± 0,0	0,1420
27	3,2 ± 1,30	4,0 ± 0,0	0,1420
28	3,2 ± 1,30	4,0 ± 0,0	0,1420
29	3,2 ± 1,30	4,0 ± 0,0	0,1420
30	3,0 ± 1,23	3,8 ± 0,45	0,1420
31	3,2 ± 1,30	3,8 ± 0,45	0,2705
32	3,2 ± 1,30	3,6 ± 0,55	0,4624
33	2,8 ± 1,09	3,4 ± 0,55	0,2705
34	3,0 ± 1,22	3,8 ± 0,45	0,1420
35	3,2 ± 1,30	3,8 ± 0,45	0,2705
36	3,0 ± 1,22	3,8 ± 0,45	0,1420
37	3,0 ± 1,22	3,6 ± 0,55	0,2705
38	3,2 ± 1,30	3,8 ± 0,45	0,2705
39	2,8 ± 1,30	3,6 ± 0,55	0,1420
40	2,8 ± 1,30	3,6 ± 0,55	0,1420
41	2,8 ± 1,09	3,8 ± 0,45	0,0666
42	3,0 ± 1,22	3,8 ± 0,45	0,1420
43	3,2 ± 1,30	3,8 ± 0,45	0,4624
44	3,0 ± 1,22	3,8 ± 0,45	0,1420
45	3,2 ± 1,30	3,8 ± 0,45	0,2705

Tabela 5 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades do vigor espermático, distribuídos nas 53 semanas

(Conclusão)

	TRATAMENTO		PROBABILIDADE
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
46	3,2 ± 1,30	3,6 ± 0,55	0,4624
47	3,2 ± 1,30	3,8 ± 0,45	0,2705
48	3,2 ± 1,30	3,8 ± 0,45	0,2705
49	3,2 ± 1,30	4,0 ± 0,0	0,1420
50	3,0 ± 1,22	3,8 ± 0,45	0,1420
51	3,0 ± 1,22	3,6 ± 0,55	0,2705
52	2,8 ± 1,09	3,75 ± 0,50	0,1003
MÉDIA	3,3 ± 1,08	3,84 ± 0,37	

Tempo*Tratamento = Greenhouse-Geisser Epsilon = 0,5022

Ao se avaliar o vigor espermático, pouco se conseguiu responder através desta análise estatística, optando-se por análises mais específicas que conseguissem averiguar o comportamento do vigor de acordo com os tratamentos. Este resultado encontra-se no capítulo IV.

Foi demonstrado através da figura 4 a variável vigor espermático distribuída por mês de modo a facilitar sua compreensão.

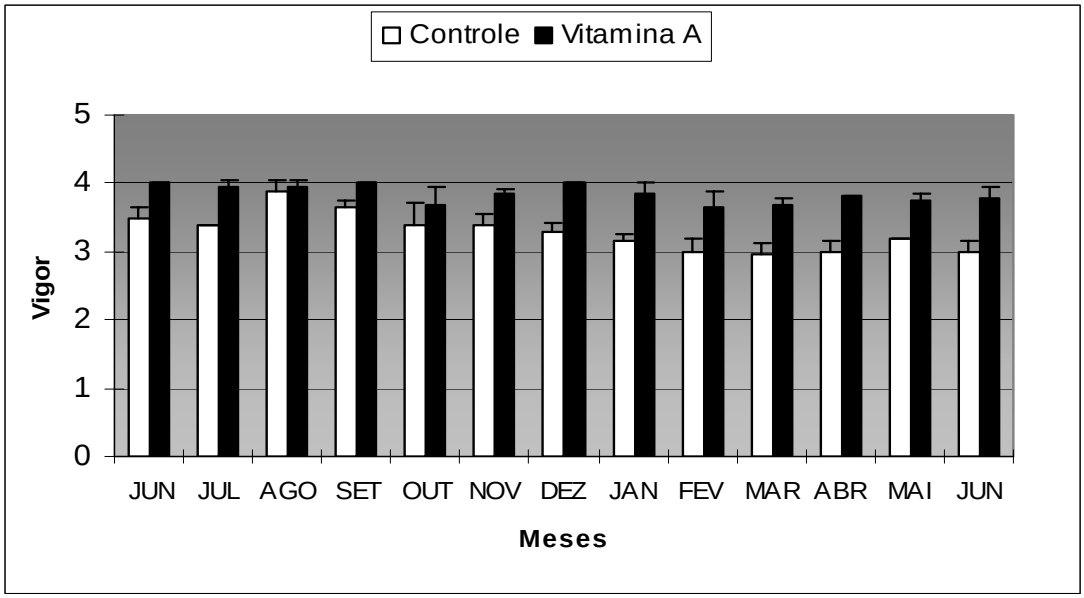

Figura 4 – Valores médios e desvios-padrão do vigor espermático agrupados por mês

Um outro parâmetro, o pH, de mesma forma que os demais não se verificou diferença significativa para os tratamentos, para o tempo ou para interação tempo e tratamento, detectando apenas efeito para o tempo, expresso em semanas (Tabela 6). Foram constatados para ambos os tratamentos que não houve grandes diferenças no que diz respeito aos valores médios deste parâmetro (6,85 vs 6,78 para o tratamento controle em comparação a vitamina A, respectivamente), sendo verificado os maiores valores, para ambos os tratamentos, nos meses de novembro a janeiro (Figura 5).

Tabela 6 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidade do pH, distribuídos nas 53 semanas

(Continua)

	TRATAMENTO		**PROBABILIDADE**
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
0	7,09 ± 0,10	7,09 ± 0,13	1
1	7,24 ± 0,13	7,16 ± 0,11	0,6245
2	7,21 ± 0,09	7,23 ± 0,08	0,9257
3	7,17 ± 0,10	7,18 ± 0,13	0,9443
4	7,30 ± 0,10	7,32 ± 0,09	0,8980
5	7,10 ± 0,30	7,20 ± 0,11	0,5919
6	7,10 ± 0,26	7,20 ± 0,08	0,5839
7	5,85 ± 0,30	5,73 ± 0,46	0,4992
8	7,10 ± 0,23	6,84 ± 0,41	0,1363
9	7,13 ± 0,27	7,06 ± 0,10	0,6495
10	6,91 ± 0,40	6,75 ± 0,20	0,3574
11	6,74 ± 0,11	6,70 ± 0,14	0,8067
12	6,55 ± 0,10	6,61 ± 0,15	0,7354
13	6,68 ± 0,06	6,65 ± 0,07	0,8980
14	6,69 ± 0,90	6,71 ± 0,04	0,8888
15	6,80 ± 0,08	6,80 ± 0,10	0,9721
16	6,89 ± 0,10	6,81 ± 0,14	0,6663
17	7,32 ± 0,11	7,21 ± 0,24	0,4918
18	7,67 ± 0,08	7,53 ± 0,21	0,4351
19	7,92 ± 0,12	7,92 ± 0,06	0,9907
20	8,05 ± 0,30	8,04 ± 0,43	0,9165
21	8,11 ± 0,20	8,04 ± 0,38	0,6834
22	7,89 ± 0,22	7,75 ± 0,20	0,4489
23	7,40 ± 0,20	7,30 ± 0,18	0,5602
24	7,30 ± 0,20	7,33 ± 0,18	0,8429
25	7,30 ± 0,15	7,24 ± 0,19	0,7266

Tabela 6 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidade do pH, distribuídos nas 53 semanas

(Conclusão)

	TRATAMENTO		PROBABILIDADE
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
26	7,40 ± 0,14	7,34 ± 0,21	0,7977
27	7,40 ± 0,19	7,52 ± 0,45	0,4016
28	7,34 ± 0,20	7,35 ± 0,19	0,9443
29	7,65 ± 0,26	7,84 ± 0,62	0,2736
30	7,90 ± 0,60	7,99 ± 0,72	0,4845
31	9,66 ± 0,37	9,40 ± 0,83	0,1135
32	7,00 ± 0,50	6,36 ± 0,73	0,0002
33	6,72 ± 0,41	6,51 ± 0,30	0,2086
34	7,25 ± 0,70	6,68 ± 0,60	0,0010
35	6,16 ± 0,19	6,10 ± 0,13	0,6834
36	5,99 ± 0,12	5,97 ± 0,14	0,9257
37	5,90 ± 0,11	5,94 ± 0,10	0,8429
38	6,04 ± 0,07	5,99 ± 0,17	0,7619
39	5,89 ± 0,13	5,78 ± 0,17	0,5523
40	6,10 ± 0,15	6,07 ± 0,15	0,8521
41	6,01 ± 0,28	6,04 ± 0,26	0,8796
42	6,12 ± 0,20	5,98 ± 0,27	0,4082
43	5,83 ± 0,12	5,79 ± 0,19	0,7977
44	5,58 ± 0,14	5,51 ± 0,24	0,6579
45	5,72 ± 0,13	5,67 ± 0,13	0,7619
46	5,64 ± 0,33	5,70 ± 0,24	0,8067
47	5,70 ± 0,37	5,80 ± 0,13	0,5919
48	6,04 ± 0,08	5,71 ± 0,42	0,0611
49	6,02 ± 0,14	5,97 ± 0,12	0,7887
50	6,11 ± 0,14	5,94 ± 0,18	0,3221
51	6,86 ± 0,14	6,87 ± 0,11	0,9628
52	6,42 ± 0,16	6,38 ± 0,06	0,8282
MÉDIA	6,85 ± 0,83	6,78 ± 0,85	

Tempo*Tratamento = Greenhouse-Geisser Epsilon = 0,5097

Os valores obtidos para ambos os tratamentos encontram-se dentro da variação considerada normal para o sêmen de reprodutores suínos (7,2 a 7,8) (GARNER; HAFEZ, 1995).

O pH foi apresentado na figura 5 agrupado por mês com o intuito de facilitar a visualização do seu comportamento no decorrer do período experimental.

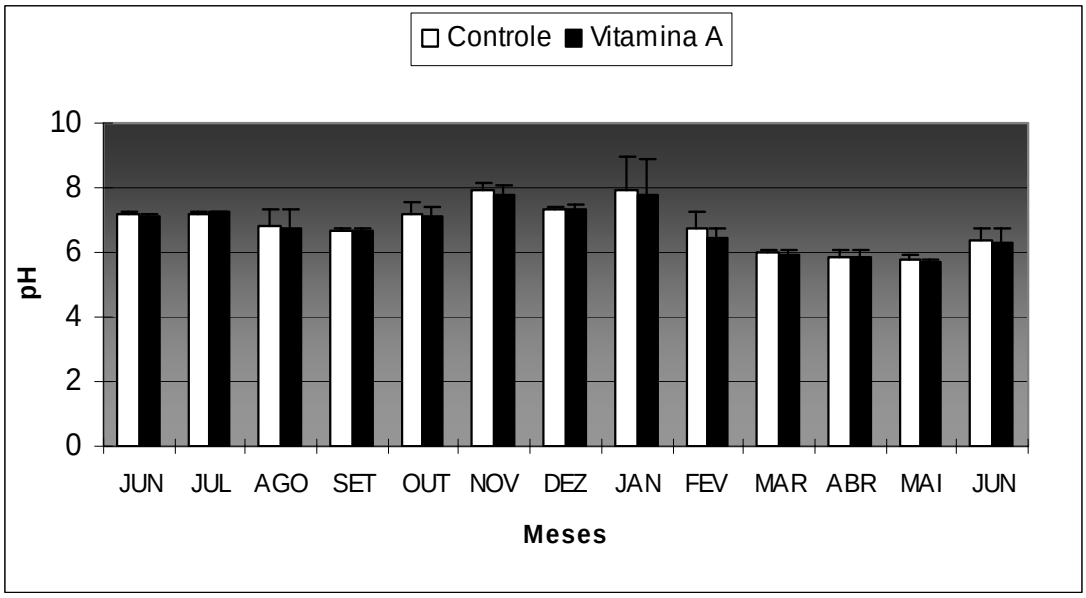

Figura 5 - Valores médios e desvios-padrão do pH agrupados por mês

Com relação ao parâmetro concentração espermática (10^6/mL) não foi observada diferença significativa entre os tratamentos e nem interação tempo e tratamento (0,4831), porém houve efeito significativo do tempo. Foram observados valores médios durante o período experimental de 324,03 x 10^6 vs 342,05 x 10^6 espermatozóides/mL para o tratamento controle comparado ao suplementado com vitamina A, respectivamente (Tabela 7). Esses valores encontrados estão dentro da variação considerada normal para este parâmetro (200 a 400 x 10^6 espermatozóides/mL) (GARNER; HAFEZ, 1995).

Tabela 7 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidade da concentração espermática distribuídos nas 53 semanas

(Continua)

	TRATAMENTO		PROBABILIDADE
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
0	291,50 ± 101,51	146,50 ± 110,15	0,0242
1	178,00 ± 144,57	279,00 ± 169,80	0,1159
2	206,00 ± 118,01	196,50 ± 153,50	0,8823
3	156,50 ± 82,38	156,00 ± 155,30	0,9938
4	277,50 ± 249,24	212,00 ± 133,30	0,3076
5	161,50 ± 100,26	269,50 ± 157,04	0,0928
6	196,00 ± 147,16	141,00 ± 72,04	0,3915

Tabela 7 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidade da concentração espermática distribuídos nas 53 semanas

(Continua)

	TRATAMENTO		PROBABILIDADE
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
7	205,25 ± 89,10	257,50 ± 59,70	0,4156
8	177,00 ± 85,35	340,00 ± 281,34	0,0114
9	333,80 ± 131,65	370,40 ± 48,96	0,5683
10	359,25 ± 90,11	372,00 ± 118,00	0,8425
11	289,25 ± 96,42	322,25 ± 110,90	0,6070
12	265,00 ± 96,74	267,00 ± 121,94	0,9751
13	325,00 ± 127,88	341,84 ± 114,40	0,7929
14	283,40 ± 120,60	303,50 ± 127,87	0,7541
15	171,50 ± 22,83	329,50 ± 123,56	0,0141
16	411,01 ± 24,95	408,00 ± 34,16	0,9626
17	406,75 ± 31,91	407,50 ± 16,20	0,9907
18	342,20 ± 73,60	403,50 ± 23,29	0,3396
19	410,00 ± 33,68	392,50 ± 13,35	0,7850
20	396,50 ± 55,75	365,50 ± 48,75	0,6290
21	410,90 ± 47,30	402,00 ± 25,94	0,8897
22	390,54 ± 61,78	419,82 ± 37,25	0,6481
23	365,00 ± 104,09	400,50 ± 34,66	0,5801
24	334,54 ± 111,62	375,60 ± 84,98	0,5225
25	407,50 ± 21,65	385,40 ± 110,76	0,7305
26	343,02 ± 139,83	339,50 ± 88,13	0,9562
27	304,00 ± 141,04	389,80 ± 48,60	0,1815
28	329,50 ± 120,15	319,30 ± 147,75	0,8736
29	383,00 ± 46,82	367,02 ± 59,77	0,8033
30	333,66 ± 91,61	379,40 ± 48,37	0,4760
31	301,50 ± 123,38	373,80 ± 57,51	0,2601
32	281,44 ± 162,15	322,40 ± 149,04	0,5233
33	368,00 ± 47,64	368,30 ± 100,28	0,9963
34	373,20 ± 79,53	362,50 ± 112,85	0,8675
35	371,00 ± 112,42	361,41 ± 61,24	0,8812
36	321,52 ± 126,62	429,12 ± 20,19	0,0940
37	386,50 ± 58,57	391,66 ± 34,59	0,9359
38	356,50 ± 104,43	386,84 ± 33,66	0,6363
39	353,40 ± 91,40	330,50 ± 133,65	0,7211
40	320,40 ± 126,03	388,20 ± 27,21	0,2909
41	292,80 ± 101,34	351,60 ± 133,75	0,3596
42	182,60 ± 158,80	255,80 ± 133,45	0,2542
43	343,00 ± 94,05	379,00 ± 62,60	0,5748
44	349,00 ± 154,73	381,00 ± 92,60	0,6180
45	341,40 ± 149,24	394,80 ± 28,35	0,4054
46	416,80 ± 33,53	372,00 ± 36,97	0,4851
47	393,80 ± 30,31	417,20 ± 29,32	0,7153
48	358,40 ± 70,52	407,20 ± 26,50	0,4470
49	363,20 ± 146,46	410,00 ± 24,43	0,4658

Tabela 7 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidade da concentração espermática distribuídos nas 53 semanas

(Conclusão)

	TRATAMENTO		PROBABILIDADE
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
50	411,00 ± 36,89	376,60 ± 19,56	0,5919
51	369,40 ± 24,88	396,00 ± 31,46	0,6784
52	340,60 ± 78,73	413,75 ± 26,31	0,2827
MÉDIA	324,03 ± 117,83	343,05 ± 115,40	

Tempo*Tratamento = Greenhouse-Geisser Epsilon = 0,4831

Estudos relacionados à deficiência de vitamina A, em ratos, mostraram que a vitamina A bloqueia o estágio de espermatogônia, sendo o processo restabelecido após suplementação de retinóide (UNNI et al., 1983; LIVERA et al., 2002).

Vale ressaltar, que na análise estatística utilizada não foi possível mostrar diferença entre os tratamentos, porém houve uma diferença numérica de 94 x 10^6 espermatozóides/mL a mais para o tratamento vitamina A em relação ao controle. Essa diferença também foi encontrada por Abrahão (2006) a favor do tratamento vitamina A representada por 68 x 10^6 espermatozóides/mL.

Na maioria das semanas o tratamento vitamina A apresentou valores médios superiores quando comparado ao controle, sendo obtido o valor máximo no mês de junho de 2005 (399 x 10^6 espermatozóides/mL) para o tratamento vitamina A, e no controle (305 x 10^6 espermatozóides/mL) no mês de novembro de 2004, após queda da temperatura no mês anterior (Figura 6). Segundo Abrahão et a.l. (2003), existe uma relação inversamente proporcional entre a temperatura e a concentração espermática, então buscou-se testes estatísticos mais específicos para verificar se a suplementação com vitamina A realmente influenciou positivamente a formação da célula espermática, sendo apresentado no capítulo IV.

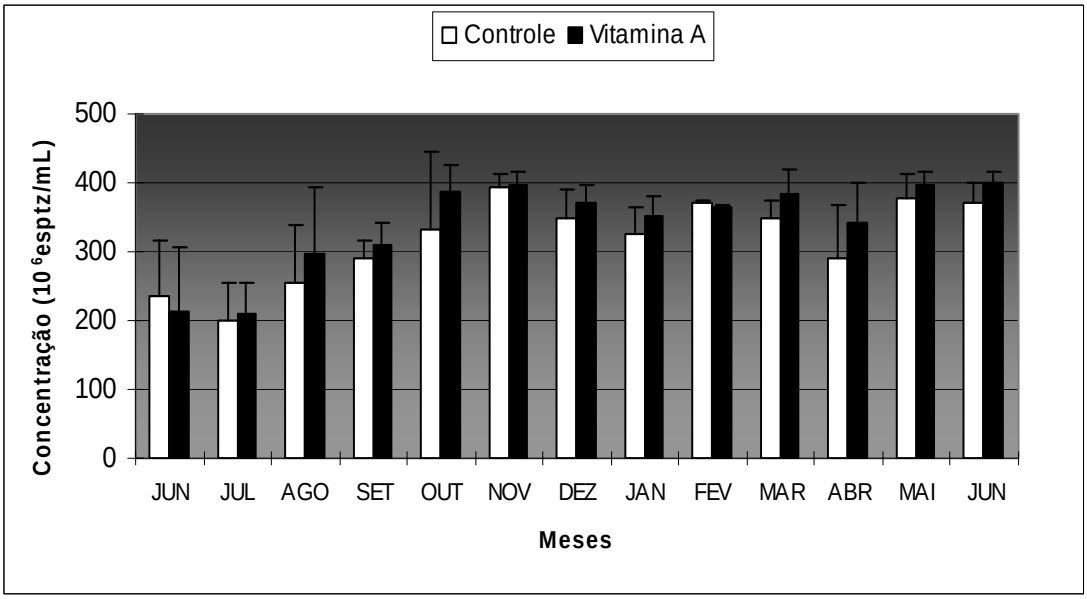

Figura 6 – Valores médios e desvios-padrão da concentração espermática em 10^6 espermatozóides/mL agrupados por mês

O número total de espermatozóides no ejaculado não diferiu entre os tratamentos (0,3603), e nem houve interação tempo e tratamento, apenas o tempo mostrou-se significativo. Na realidade, não houve diferenças gritantes entre os tratamentos durante as semanas, embora o tratamento vitamina A tenha se mostrado melhor em 27 das 53 semanas (Tabela 8).

Ressalta-se, no estudo que embora os valores médios da concentração espermática tenha sido maiores para o tratamento vitamina A, os valores médios do volume mostraram-se maiores para o tratamento controle, levando a valores médios de número total de espermatozóides maiores para o controle em comparação ao tratamento vitamina A (102 x 10^9 vs 99 x 10^9 espermatozóides, respectivamente).

Tabela 8 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidade do número total de espermatozóides no ejaculado distribuídos nas 53 semanas

(Continua)

	TRATAMENTO		PROBABILIDADE
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
0	67,27 ± 22,24	202,32 ± 223,39	0,0001
1	103,97 ± 73,11	95,51 ± 52,37	0,7484
2	48,82 ± 25,08	119,1 ± 44,88	0,0079
3	74,40 ± 70,74	40,42 ± 39,69	0,1979
4	54,14 ± 29,44	58,84 ± 37,11	0,8585
5	34,81 ± 15,83	64,47 ± 34,94	0,2610
6	70,99 ± 35,64	37,50 ± 19,13	0,2044
7	53,30 ± 16,62	62,46 ± 26,73	0,7275
8	43,97 ± 24,22	66,08 ± 34,05	0,4018
9	63,23 ± 23,37	68,83 ± 15,89	0,8318
10	92,14 ± 26,80	82,30 ± 28,93	0,7089
11	68,41 ± 18,60	69,52 ± 28,73	0,9664
12	67,10 ± 31,26	57,88 ± 13,72	0,7265
13	107,34 ± 63,80	86,66 ± 40,60	0,4329
14	78,80 ± 39,46	67,97 ± 16,08	0,6815
15	36,52 ± 1,90	59,21 ± 15,60	0,3897
16	106,42 ± 14,00	106,13 ± 42,21	0,9913
17	116,60 ± 25,02	93,40 ± 33,70	0,3785
18	91,00 ± 29,12	102,60 ± 35,41	0,6599
19	118,91± 26,80	96,41 ± 39,16	0,3937
20	112,20 ± 13,85	91,00 ± 17,14	0,4193
21	116,32 ± 27,04	97,40 ± 37,30	0,4727
22	103,00 ± 36,70	109,12 ± 40,00	0,8163
23	116,43 ± 39,00	113,65 ± 31,60	0,9160
24	84,64 ± 18,16	98,70 ± 36,00	0,5943
25	114,80 ± 41,00	120,55 ± 44,42	0,8272
26	88,15 ± 39,36	106,45 ± 16,22	0,4878
27	75,36 ± 34,15	115,14 ± 23,30	0,1319
28	100,62 ± 32,00	77,83 ± 33,80	0,3876
29	99,66 ± 22,47	92,54 ± 16,92	0,7869
30	106,77 ± 16,17	103,31 ± 17,70	0,8953
31	85,09 ± 40,75	109,42 ± 17,10	0,3563
32	81,24 ± 40,72	87,63 ± 27,82	0,8086
33	119,60 ± 45,51	102,70 ± 26,31	0,5213
34	120,20 ± 32,44	90,35 ± 19,61	0,2580
35	113,81 ± 37,13	109,85 ± 16,34	0,8804
36	97,17 ± 50,00	129,00 ± 58,80	0,2283
37	117,65 ± 36,32	130,23 ± 27,80	0,6332
38	97,20 ± 28,06	127,32 ± 26,12	0,2536
39	103,06 ± 33,93	96,91 ± 38,91	0,8155
40	97,30 ± 37,22	127,64 ± 36,30	0,2501
41	111,10 ± 33,00	120,20 ± 41,54	0,7307
42	81,50 ± 76,73	92,17 ± 30,44	0,6851

Tabela 8 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidade do número total de espermatozóides no ejaculado distribuídos nas 53 semanas

(Conclusão)

	TRATAMENTO		PROBABILIDADE
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
43	120,00 ± 39,00	121,60 ± 22,17	0,9482
44	133,70 ± 64,80	130,01 ± 33,60	0,8920
45	133,00 ± 71,20	145,03 ± 30,54	0,6458
46	162,03 ± 50,14	139,22 ± 38,51	0,3871
47	145,00 ± 39,00	134,60 ± 17,67	0,6965
48	132,34 ± 33,20	126,30 ± 19,61	0,8177
49	140,33 ± 60,00	144,52 ± 34,08	0,8738
50	170,50 ± 33,03	136,60 ± 29,13	0,1992
51	160,54 ± 12,20	128,16 ± 31,72	0,2198
52	123,04 ± 30,50	135,65 ± 59,70	0,6520
MÉDIA	102,07 ± 45,50	99,50 ± 51,00	

Tempo*Tratamento = Greenhouse-Geisser Epsilon = 0,3603

Esse resultado obtido foi semelhante ao encontrado por Abrahão (2006), pelo fato de não evidenciar efeito significativo de tratamento, porém mostrou-se contrário em relação ao efeito da suplementação de vitamina A, pois nos resultados de Abrahão (2006) o tratamento vitamina A apresentou valores médios superiores ao controle, diferentemente do resultado obtido no presente estudo.

Se forem observados os valores médios do número total de espermatozóides no ejaculado (10^9) no período experimental, o resultado averiguado por Abrahão (2006), foi de 114 x 10^9 vs 122 x 10^9 de espermatozóides para o tratamento controle comparado ao suplementado com vitamina A, sendo verificado no presente estudo valores de 102 x 10^9 vs 99,50 x 10^9 espermatozóides para o tratamento controle em comparação a vitamina A, respectivamente. Essa diferença a favor do tratamento controle pode ser devido ao maior valor médio do volume, cerca de 100 mL a mais, no tratamento controle, já que não houve diferença em relação a concentração espermática para os tratamentos.

Podemos observar pela figura 7 que o comportamento deste parâmetro foi muito semelhante para ambos os tratamentos, ao se agrupar por mês. Optou-se por essa forma de apresentação dos dados, uma vez que na tabela 8 os valores já estão especificados por semana.

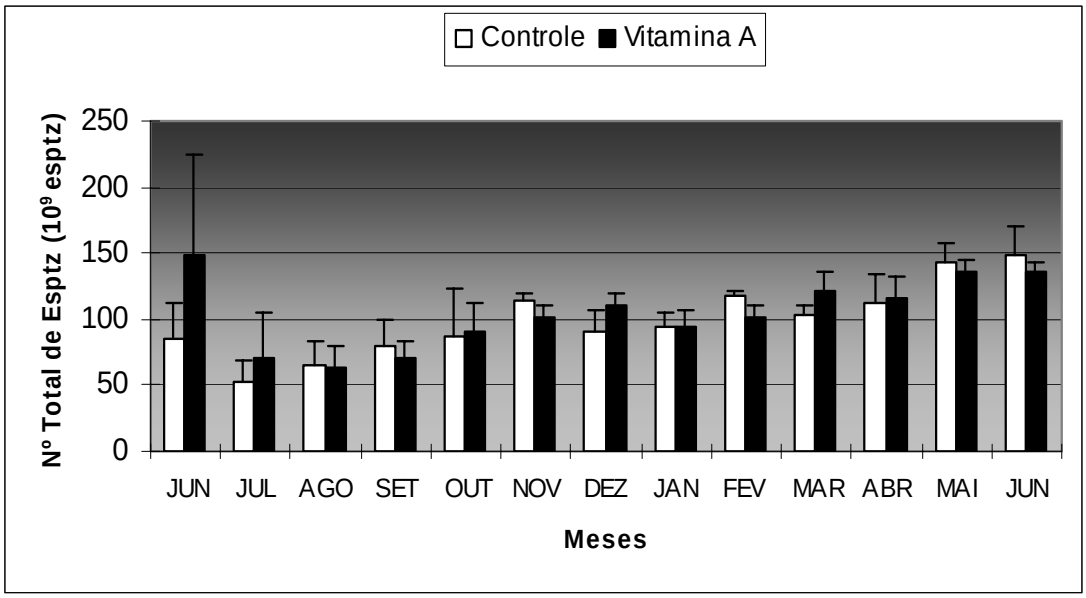

Figura 7 – Valores médios e desvios-padrão do número total de espermatozóides no ejaculado (10^9) agrupados por mês

Se fossemos calcular o número de doses inseminantes por tratamento, consideraríamos os valores médios do número total de espermatozóides no ejaculado (102 x 10^9 espermatozóides vs 99,50 x 10^9 espermatozóides para o controle e vitamina A, respectivamente) e os valores médios de motilidade espermática (67,0 % vs 79,0 % para o controle e vitamina A, respectivamente), durante todo o período experimental. Considerando a concentração da dose inseminante de 3 x 10^9 espermatozóides, obteríamos 2327 doses para o controle e 2607 para vitamina A. Por semana teríamos em média 45 doses no controle e 52 na vitamina A, o que corresponde a 7 doses inseminantes a mais para o tratamento vitamina A, utilizando 5 reprodutores. Caso fosse extrapolado esse aumento no número de doses inseminante para uma central de inseminação que atende 3500 matrizes, precisaríamos de 35 cachaços numa relação 1:100 (1 reprodutor para 100 fêmeas). A cada grupo de 5 animais, 7

doses inseminantes a mais seriam produzidas, então para os 35 reprodutores teríamos 49 doses inseminantes a mais por semana. Considerando que o valor comercial de cada dose inseminante custe em torno de R$ 6,00 (seis reais), o lucro aparente obtido para essas 49 doses a mais seria de R$ 294,00 (duzentos e noventa e quatro reais) por semana. Ao ano esse valor seria o equivalente a R$ 15.288,00 (quinze mil duzentos e oitenta e oito reais). Desse valor deveria ser descontado os custos extras com aumento no número de bisnagas de sêmen, no diluente e antibiótico, na água deionizada e na suplementação de vitamina A na ração. O diferencial de 7 doses a mais equivale a uma redução em 29% de alojamento de machos. Para cada 100 machos haveria uma redução de 29 machos, induzindo ao menor custo com instalações, manutenção, além de reduzir no custo com a alimentação e com a mão-de-obra. Uma outra associação a ser considerada é que com o aumento do número de doses há uma maior disseminação do material genético, levando ao aumento em 2,4 fêmeas inseminadas a mais por semana. O fato de haver diminuição do número de animais, propicia um efeito na produtividade geral do plantel. Do ponto de vista financeiro, verificou-se que a suplementação de 40.000 UI de vitamina A/animal/dia, é viável economicamente, sendo já preconizado em determinadas indústrias que produzem núcleos de suplementos vitamínicos e minerais.

Em relação ao percentual de espermatozóides vivos e mortos, utilizando os corantes eosina-nigrosina, não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos, e também não houve interação tempo e tratamento (0,7517), apenas significância em relação ao tempo (Tabela 9). Na maioria das semanas o percentual de espermatozóides vivos foi maior para o tratamento vitamina A em comparação ao controle.

Tabela 9 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidade do percentual de espermatozóides vivos (eosina-nigrosina) distribuídos nas 53 semanas

(Continua)

	TRATAMENTO		PROBABILIDADE
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
0	82,00 ± 3,00	80,00 ± 14,00	0,6819
1	87,50 ± 6,24	82,00 ± 9,22	0,2480
2	92,00 ± 2,50	89,00 ± 6,00	0,5633
3	90,00 ± 3,00	84,40 ± 7,05	0,2395
4	72,25 ± 33,00	82,00 ± 10,02	0,0410
5	85,50 ± 8,22	82,20 ± 9,34	0,4880
6	90,25 ± 6,30	88,00 ± 7,55	0,6066
7	78,25 ± 28,30	90,00 ± 5,32	0,0175
8	81,25 ± 29,00	88,00 ± 8,45	0,1565
9	93,00 ± 8,12	96,40 ± 1,00	0,4749
10	96,25 ± 3,00	97,00 ± 2,00	0,8747
11	89,50 ± 12,30	97,20 ± 1,00	0,1061
12	97,00 ± 1,50	96,20 ± 1,30	0,9080
13	98,00 ± 0,0	97,00 ± 1,00	0,8335
14	98,25 ± 1,00	98,00 ± 2,34	0,9581
15	95,25 ± 5,00	90,40 ± 9,00	0,3083
16	97,25 ± 1,50	98,00 ± 0,54	0,9413
17	94,25 ± 2,00	94,40 ± 4,00	0,9748
18	91,00 ± 8,14	94,20 ± 3,30	0,4684
19	91,50 ± 4,12	82,20 ± 12,00	0,0512
20	95,50 ± 2,52	97,20 ± 2,00	0,7208
21	90,25 ± 13,10	91,20 ± 11,34	0,8417
22	97,00 ± 1,15	95,50 ± 2,00	0,7685
23	97,00 ± 0,50	95,20 ± 5,35	0,7446
24	96,25 ± 2,00	97,20 ± 1,00	0,8417
25	95,00 ± 3,00	97,00 ± 1,22	0,6742
26	97,00 ± 2,00	97,00 ± 2,00	0,9916
27	95,25 ± 4,00	97,00 ± 2,30	0,7766
28	90,00 ± 6,00	93,20 ± 4,00	0,5013
29	93,00 ± 4,50	95,00 ± 4,00	0,6974
30	94,25 ± 1,00	96,00 ± 1,34	0,7766
31	81,50 ± 6,45	89,20 ± 6,55	0,1061
32	86,00 ± 5,35	89,00 ± 9,00	0,5284
33	91,50 ± 5,25	89,40 ± 4,15	0,6589
34	95,00 ± 2,44	94,20 ± 6,00	0,8664
35	91,25 ± 6,00	93,40 ± 5,12	0,6513
36	94,00 ± 5,20	93,20 ± 5,00	0,9080
37	92,25 ± 4,30	94,00 ± 3,24	0,7130
38	88,50 ± 7,50	93,20 ± 3,11	0,3234
39	91,00 ± 4,54	92,00 ± 6,23	0,8996
40	91,50 ± 6,14	92,00 ± 4,15	0,9832
41	92,25 ± 7,00	91,00 ± 5,20	0,7927
42	92,00 ± 6,40	93,00 ± 9,42	0,8253

Tabela 9 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidade do percentual de espermatozóides vivos (eosina-nigrosina) distribuídos nas 53 semanas

(Conclusão)

	TRATAMENTO		PROBABILIDADE
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
43	93,25 ± 3,40	94,00 ± 4,00	0,9413
44	96,00 ± 3,00	96,00 ± 3,00	0,9916
45	94,00 ± 4,54	95,40 ± 2,20	0,7685
46	95,00 ± 3,00	94,00 ± 3,42	0,8417
47	95,50 ± 3,11	96,00 ± 2,30	0,9832
48	96,00 ± 2,20	95,00 ± 6,20	0,8335
49	96,00 ± 2,10	97,00 ± 1,34	0,8582
50	96,00 ± 2,20	95,00 ± 5,00	0,8335
51	97,00 ± 1,00	97,00 ± 2,30	0,9916
52	93,40 ± 5,54	95,00 ± 1,41	0,7366

Tempo*Tratamento = Greenhouse-Geisser Epsilon = 0,7517

Foram poucas as diferenças entre os tratamentos, o parâmetro percentual de espermatozóides vivos sofreu oscilações de maneira semelhante durante o período experimental (Figura 8). E, com o intuito de averiguar o efeito da vitamina A sobre a formação das células espermáticas, em cachaços submetidos a variações de temperatura conforme a variação natural das estações do ano, realizou-se testes estatísticos específicos para tal finalidade, e os mesmos estão descritos no capítulo IV.

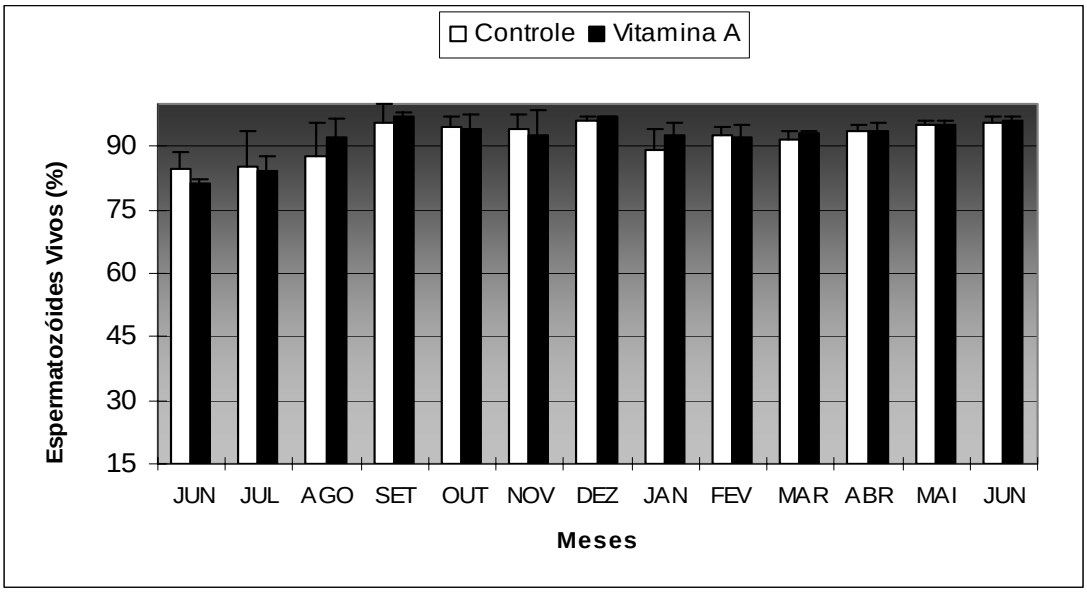

Figura 8 - Valores médios e desvios-padrão do percentual de espermatozóides vivos (eosina-nigrosina) no ejaculado agrupados por mês

O parâmetro anormalidades morfológicas não mostrou diferença estatística entre os tratamentos, e nem interação tempo e tratamento (0,5903), porém foi significativo em relação ao tempo, expresso em semanas (Tabela 10). Na maioria dos meses, cerca de 9 de 13, o tratamento vitamina A mostrou valores inferiores ao controle, o que de certa forma era o esperado já que a vitamina A age na integridade do epitélio (Figura 9).

O resultado do presente estudo foi semelhante ao encontrado por Abrahão (2006), que também verificou menores percentuais de anormalidades espermáticas para o tratamento com vitamina A, porém não detectou-se efeito significativo de tratamento. Apesar do tempo maior de observação 53 semanas vs 25 semanas do trabalho de Abrahão (2006), obteve-se diferença significativa para os tratamentos, os percentuais de anormalidades foram menores para o tratamento com vitamina A em comparação ao controle.

Averiguações mais específicas são importantes para confirmar o efeito da vitamina A relacionado a melhor formação da célula espermática e por consequência menor percentual de anormalidades e, sua relação com a temperatura ambiente.

Tabela 10 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades das anormalidades morfológicas distribuídos nas 53 semanas

(Continua)

	TRATAMENTO		**PROBABILIDADE**
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
0	8,00 ± 7,30	6,50 ± 6,55	0,8626
1	8,20 ± 9,00	9,10 ± 10,00	0,9114
2	7,30 ± 9,20	14,10 ± 17,00	0,4007
3	7,00 ± 6,20	11,20 ± 16,30	0,6037
4	6,00 ± 3,60	9,00 ± 13,31	0,7016
5	4,40 ± 2,43	10,00 ± 15,52	0,5085
6	2,30 ± 1,20	7,15 ± 11,00	0,5489
7	3,30 ± 2,50	5,00 ± 5,40	0,8335
8	5,20 ± 3,03	9,20 ± 15,55	0,6210
9	4,00 ± 1,44	8,00 ± 7,30	0,6298
10	7,00 ± 3,40	7,30 ± 7,00	0,9409
11	8,00 ± 6,00	7,00 ± 6,40	0,9016
12	8,15 ± 5,14	11,40 ± 12,00	0,6879
13	8,00 ± 5,44	4,00 ± 2,00	0,6474

Tabela 10 – Valores médios, desvios-padrão e probabilidades das anormalidades morfológicas distribuídos nas 53 semanas

(Conclusão)

	TRATAMENTO		PROBABILIDADE
SEMANAS	**CONTROLE**	**VITAMINA A**	
14	9,00 ± 4,55	12,10 ± 9,53	0,6833
15	8,00 ± 5,55	10,00 ± 5,21	0,8143
16	22,10 ± 8,20	9,20 ± 3,40	0,1113
17	17,20 ± 15,00	18,00 ± 13,14	0,9458
18	19,00 ± 7,72	19,00 ± 9,55	1
19	10,00 ± 8,00	12,00 ± 9,00	0,7667
20	26,40 ± 17,00	23,00 ± 19,00	0,6386
21	48,50 ± 12,30	44,10 ± 20,14	0,5865
22	57,00 ± 15,00	44,50 ± 22,00	0,1228
23	50,30 ± 5,55	49,50 ± 12,50	0,9212
24	53,20 ± 14,50	46,10 ± 11,10	0,3803
25	45,50 ± 18,50	49,00 ± 12,00	0,7016
26	56,00 ± 12,00	45,00 ± 8,00	0,1743
27	57,00 ± 17,00	40,30 ± 11,33	0,0431
28	57,00 ± 17,33	45,30 ± 13,00	0,1629
29	63,00 ± 13,00	43,00 ± 5,03	0,0133
30	55,10 ± 18,00	51,50 ± 11,00	0,6563
31	58,50 ± 11,00	47,10 ± 11,15	0,1592
32	55,00 ± 10,21	46,30 ± 8,44	0,3052
33	55,20 ± 15,42	51,00 ± 7,53	0,5781
34	51,40 ± 15,30	56,15 ± 9,00	0,5571
35	49,00 ± 15,41	51,52 ± 6,50	0,7550
36	53,15 ± 20,00	50,00 ± 8,20	0,6698
37	60,00 ± 17,44	45,24 ± 13,00	0,0744
38	56,30 ± 14,00	49,20 ± 12,00	0,3803
39	51,20 ± 19,00	57,00 ± 9,10	0,5045
40	52,10 ± 18,00	50,00 ± 11,30	0,7573
41	52,10 ± 20,21	51,10 ± 19,00	0,9016
42	51,40 ± 24,43	53,40 ± 18,00	0,8047
43	58,00 ± 22,15	48,00 ± 8,00	0,2168
44	51,00 ± 18,50	51,00 ± 5,15	0,9901
45	58,00 ± 16,02	40,00 ± 17,30	0,0282
46	68,20 ± 13,00	54,00 ± 17,20	0,0716
47	69,50 ± 17,00	61,40 ± 15,00	0,3169
48	53,00 ± 23,00	45,00 ± 14,50	0,3477
49	51,00 ± 21,00	50,00 ± 11,42	0,8821
50	49,30 ± 5,25	56,00 ± 15,40	0,4077
51	52,00 ± 10,00	46,00 ± 10,00	0,4509
51	52,00 ± 10,00	46,00 ± 10,00	0,4509
52	55,00 ± 17,25	51,00 ± 9,00	0,6886
MÉDIA	37,00 ± 26,00	34,00 ± 22,20	

Tempo*Tratamento = Greenhouse-Geisser Epsilon = 0,5903

Este resultado foi semelhante aos achados de Wemheuer et al. (1996) que evidenciaram maiores anormalidades morfológicas nos espermatozóides de animais com deficiência de vitamina A na dieta, que no presente estudo não houve deficiência e sim nível inferior de suplementação, mas mesmo esse nível inferior (tratamento controle) era superior ao recomendado pelo NRC (1998). Segundo Abdulkareen et al. (2004), a deficiência de vitamina A em borregos causa principalmente defeitos de cabeça (gigantes, afiladas e piriformes), na peça intermediária (espiralada).

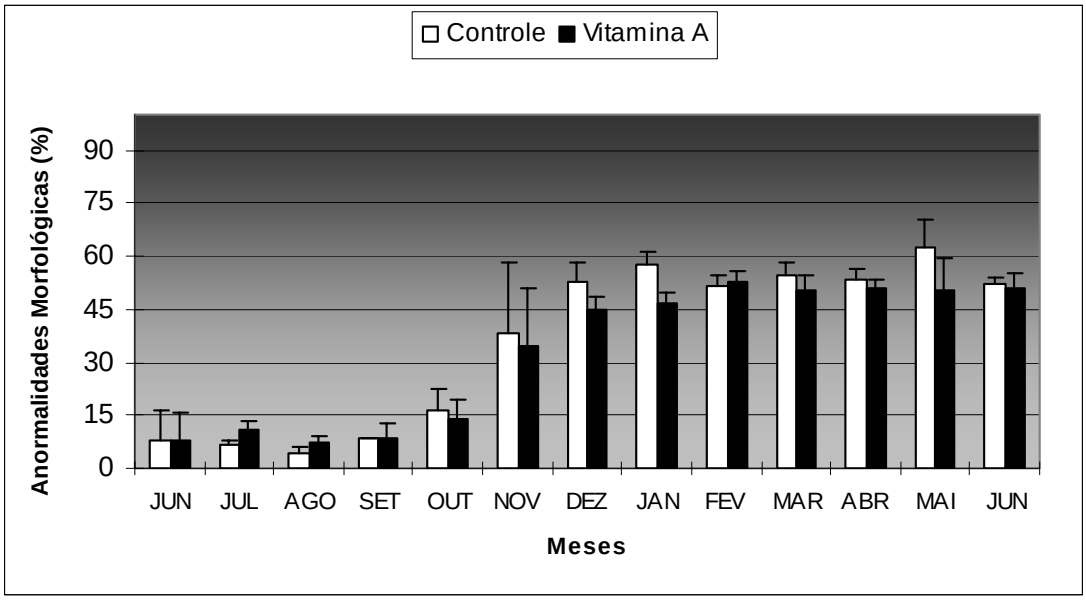

Figura 9 – Valores médios e desvios-padrão das anormalidades morfológicas agrupados por mês

4 CONCLUSÃO

A suplementação de vitamina A na dieta de cachaços não alterou o volume, a motilidade e o vigor espermático, o pH, a concentração, o número total de espermatozóides, o percentual de espermatozóides vivos e as anormalidades morfológicas, mas influenciou positivamente no aumento médio da motilidade e do percentual de espermatozóides vivos, bem como na diminuição do percentual de anormalidades morfológicas, comprovando o efeito da vitamina A exercido principalmente na formação da célula espermática.

O estudo despertou para novas averiguações ligadas à determinados estágios da formação da célula espermática dentro do processo de espermatogênese.

REFERÊNCIAS

ABDULKAREEM, T. A.; AL-HBOBY, A. H.; AL-MJAMEEI, S. M.; HOBI, A. A. Sperm abnormalities associated with vitamin a deficiency in rams. **Small Ruminant Research,** v.57, n.1, p.67-71, 2004.

ABRAHÃO, AAF.; VIANNA, W.L.; MORETTI, A S. Efeito da sazonalidade sobre a concentração e características morfológicas espermáticas em reprodutores suínos. In: **XI CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS**, 2003, Goiânia, 2003. 483p. p.225-226

ABRAHÃO, A.A.F. **Vitamina A na nutrição de cachaços: I - Fatores relacionados ao condicionamento de machos reprodutores suínos para a colheita de sêmen. II - Análise qualitativa e quantitativa do sêmen de cachaços submetidos à suplementação de vitamina A na dieta**. 2006. 124 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

AIKAWA, H.; KOYAMA, S.; MATSUDA, M.; NAKAHASHI, K.; AKAZOME, Y.; MORI, T. Relief effect of vitamin A on the decreased motility of sperm and the increased incidence of malformed sperm in mice exposed neonatally to bisphenol A. **Cell and Tissue Reseach**, v. 15, n.1, p.119-124, 2004.

APPLING, D. R.; CHYTIL, F. Evidence of a role for retinoic acid (vitamin A-acid) in the maintenance of testosterone production in male rats. **Endocrinology,** v.108, p.2120-2124, 1981

BEDO, G.; SANTISTEBAN, P.; ARANDA. A. Retinoic acid regulates growth hormone gene expression. **Nature**, v.339, p.231-234, 1989.

BERTECHINI, A. G**. Nutrição de monogástricos.** Lavras: FAEPE/UFLA, 1997, 255 p.

CHIOCCA, E. A.; DAVIES, P. J. A.; STEIN, J. P. The molecular basis of retinoic acid action. Transcriptional regulation of tissues transglutaminase gene expression in macrophages. **Journal of Biological. Chemistry**, v.263, p.11584-11589, 1988.

CLOSE, W. H.; COLE, D. J. A. **Nutrition of sows and boars**. Loughborough: Nottingham University Press, 377p., 2001

DOWLING, J. E.; WALD, G. The role of vitamin A acid**. Vitamin & Hormones**, v.18, p.515-541, 1960.

FLOWERS, W. L. Management of the boars for efficient semen production. **Journal Reproduction and. Fertility**, v.52, p.68-78, 1997.

GARNER, D.L.; HAFEZ, E.S.E. Espermatozóides. In*:* **Reprodução Animal.** HAFEZ, E.R. (Ed.) 6. ed. São Paulo: Manole, 1995, p.187-211.

KIM, K. H.; WANG, Z. O. Action of vitamin a on the testis: role of the Sertolli cell. In: RUSSELL, L. D.; GRISWOLD, M. D. **The sertolli cell**. Florida: Cache River Press. p.515-535, 1993.

KING. G. J.; MACPHERSON. J. W. A comparison of two methods for boar sêmen collection. **Journal of Animal Science**. v.36, n.4, p.563-565, 1973.

KÖNIG, I. **Inseminacion de la cerda**. Espanha: Acribia, 1979.181p.

LIVERA, G.; ROUILLER-FABRE, V.; PAIRAULT, C.; LEVACHER, C.; HABERT, R. Regulation and pertubation of testicular functions by vitamin A. **Reproduction,** v.124. p 173-180, 2002.

MIES FILHO, A **Reprodução dos animais domésticos e inseminação artificial**. Porto Alegre: Sulina. v.5, p.380, 1987.

National Research Council (NRC) **Nutrient Requirements of Swine**. 10th revised edition. 189p. National Academy of Sciences, Washington DC., 1998

RILLO, M. R**. Reproduccion e inseminacion artificial porcina.** Espanha: Aedos, 1982. p.72-73.

SAS INSTITUTE (CARY NC), SAS **User's guide: Statistical Analysis System, release 6.12** – 1999.

SCHEID, I. R. **Manual de inseminação artificial de suínos: procedimentos e métodos no laboratório.** Concórdia: EMBRAPA-CNAS, 48p., 1993.

SOBESTIANSKY, J. et al. **Suinocultura intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho**. Brasília: EMBRAPA, 1998.

UNNI, E.; RAO, M. R. S.; GANGUL, Y. J. Histological an ultrastructural studies on the effect of vitamin A depletion and subseqüent repletion whit vitamin A on germ cells and Sertolli cells in rat testis. **Indian Journal of Experimental Biology,** v.21, n.4, p.180-192, 1983.

VERNET, N.; DENNEFELD, C.; ROCHETTE-EGLY, C.; OULAD-ABDELGHANI, M.; CHAMBON, P.; GHYSELINCK, N. B.; MARK, M. Retinoic acid metabolism and signaling pathways in the adult and developing mouse testis. **Endocrinology.** v.147, n.1, p.96-110, 2006.

WEMHEUER, W.; STEIBRINK, J.; FUHRMANN, H.; SCHIMIDT, F. W.; SALLMAN. H. P**.** The effect of vitamin A and beta-carotene on the vitamin E status, ejaculation parameters and health of boars used for insemination**. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v.103, p.431-437. 1996**.**

CAPÍTULO IV – AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE DOS PARÂMETROS SEMINAIS NA INTERAÇÃO VITAMINA A, TEMPO E AMBIENTE EM REPRODUTORES SUÍNOS

RESUMO

Essa ação abrangeu a avaliação dos parâmetros seminais: volume, motilidade e vigor espermático, pH, concentração espermática, número total de espermatozóides, percentual de espermatozóides vivos e anormalidades morfológicas, em reprodutores suínos submetidos à suplementação de vitamina A, e a variabilidade da ação da vitamina em si, entre os animais, bem como a ação da temperatura no dia e 7 dias anteriores e estações do ano. O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Suínos da FMVZ, Campus - USP, Pirassununga, utilizando-se 10 machos reprodutores híbridos, distribuídos em dois tratamentos, controle com nível de 25.000 UI de vitamina A/animal/dia e suplementado com nível de 40.000 UI de vitamina A/animal/dia. O delineamento foi inteiramente casualisado, com medidas repetidas no tempo. A análise estatística foi realizada através de técnicas de processos estocásticos, modelos lineares mistos e inferência Bayesiana, sendo considerado o nível de significância de 5%. Não foi detectado efeito de tratamento para nenhum dos parâmetros analisados. Verificou-se efeito de estação do ano e temperatura para as variáveis percentual de espermatozóides vivos, pH e anormalidades morfológicas. Para o parâmetro volume foi constatado efeito das estações outono e verão em comparação ao inverno e efeito da temperatura do mesmo dia. Para o parâmetro motilidade foi constatado efeito entre todas as estações do ano e temperatura de 7 dias atrás, mas não da temperatura do mesmo dia. Nos parâmetros concentração espermática e número total de espermatozóides observaram-se efeito entre todas as estações do ano, mas não foi encontrado efeito da temperatura do mesmo dia e nem da temperatura de 7 dias atrás. Detectou-se e quantificou-se o efeito de estação do ano para todos os parâmetros, o que confirma os efeitos da sazonalidade sobre a qualidade do sêmen. Apesar de descritivamente ter sido observado o efeito da suplementação da vitamina

A, essas tendências não puderam ser confirmadas inferencialmente, já que em nenhum dos modelos foi possível detectar o efeito de tratamento. Isso não indica que não exista o efeito de tratamento, mas somente que com essa variabilidade não foi possível detectá-lo.

Palavras chaves: Vitamina A. Célula espermática. Sazonalidade. Temperatura. Suíno.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the variability between treatments and the animals, as well as the action of the temperature of the day and of 7 days ago, and of the stations of the year, in reproductive males submitted the suplementation of vitamin A in the diet towards the following parameters: volume, motility, vigor, seminal pH, spermatic concentration, total number of spermatozoa, percentage of living sperm cells and morphologic abnormalities, The study was carried out at the Laboratory of Research in Swines, FMVZ- USP, Pirassununga-SP, in which 10 hybrid boars with approximately 327 days of age and 166 kg of live weight. The animals were distributed in two treatments: control, fed daily with a level of 10,000 UI/Vitamin A/kg; and vitamin, in which the amount of daily vitamin A intake was 16,000 UI/Vitamin A/kg. The feeding regime was 2.5 kg of ration by animal by day. Experimental design was completely randomized, with repeated in time measures. The statistics analysis was carried through techniques of random processes, mixing linear models and Bayesiana inference, values were considered to be statistically significant when $P < 0.05$. Effect of treatment for none of the analyzed parameters was not detected. One verified effect of station of the year and temperature for the variable percentage of living sperm cells, pH and morphologic abnormalities. For the parameter volume it was evidenced effect of the stations autumn and summer in comparison to the winter and effect of the temperature of the same day. For the parameter motility effect was evidenced enters all the stations of the year and temperature of 7 days ago, but not of the temperature of the same day. And, for the parameters spermatic concentration and total number of spermatozoa effect was observed enters all the stations of the year, but effect of the temperature of the same day and nor of the temperature of 7 was not found a few days ago. It was detected and one quantified the effect

of station of the year for all the parameters, what it confirms the previous knowledge of the researchers that the seasonality has effect in the quality of the semen. Although descriptive to have been observed the effect of the suplementation vitamin A, these trends could not inference have been confirmed, since in none of the models it was possible to detect the treatment effect. This does not indicate that the treatment effect does not exist, but only that with this variability was not possible to detect it.

Key words: Vitamin A. Spermatic cell. Seasonality. Temperature. Swine

1 INTRODUÇÃO

A constância da averiguação, abrangendo períodos mais extensos de observação da influência principalmente dos fatores relacionados a estação do ano devem fazer parte dos estudos que aprofundam-se na ação da vitamina A na formação da célula espermática.

A não obediência à exigência leva a diversas modificações que podem ser observadas relacionadas a qualidade do sêmen, principalmente às relacionadas a baixa concentração e alta incidência de anormalidades morfológicas, o que vem despertar o interesse para averiguações mais aprofundadas, com vistas a melhoria da qualidade do sêmen, diminuindo os prejuízos causados ao criador.

Estudos vários reportam-se aos efeitos da suplementação de vitamina A em ratos, e mostram resultados positivos relacionados à espermatogênese, melhorando a formação da célula espermática (APPLING; CHYTIL, 1981; FLOWERS, 1997; KIM; WANG, 1993).

Como a vitamina A atua na síntese de hormônios esteroidais a partir do colesterol orgânico nas gônadas, placenta e adrenais, para os casos de deficiência, há ocorrência de alterações histológicas dos órgãos reprodutivos de machos e fêmeas, tornando as glândulas atróficas e mesmo quando ocorrer à fecundação, o feto poderá ser reabsorvido ou nascer defeituoso ou ainda morto (BERTECHINI, 1997).

A deficiência de retinol, em ratos mesmo na suplementação de acido retinóico, dá origem a atrofia nos túbulos seminíferos, demonstrando que o ácido retinóico é incapaz de dar suporte para o processo reprodutivo Mesmo na manutenção constante de produção da testosterona estudos concluíram que o ácido retinóico mantém a esteroidogênese, mas não a espermatogênese. (DOWLING; WALD, 1960; APPLING; CHYTIL,1981).

O ácido retinóico, por sua vez, atua no crescimento, transformação e diferenciação celular, enquanto que o retinol apresenta importante função nas atividades reprodutivas (GILMAN et al., 1991).

Desse modo, a sazonalidade influencia a reprodução através de fatores como a luminosidade, a temperatura, a nutrição e suas interações (COLENBRANDER et al., 1990). As condições climáticas adversas podem afetar tanto a fertilidade de cachaços como de porcas, como demonstrado em experimentos que averiguaram os efeitos da temperatura elevada (SURIYASOMBOON et al., 2004), sendo evidenciados principalmente degeneração testicular e baixas taxas de concepção, respectivamente (STONE, 1982).

Define-se zona de termoneutralidade como a zona que vai desde a temperatura crítica baixa (LCT) até a temperatura mais alta (UCT) e na qual a taxa metabólica é mínima e é dependente da espécie, idade do animal, isolamento corpóreo, estado nutricional e condições ambientais tais como, a velocidade e a umidade do ar (CORCUERA et al., 2002).

O efeito da exposição do macho reprodutor a temperaturas elevadas se faz presente na espermatogênese de forma imediata, severa e consistente, diferentemente da ação de outros fatores como a nutrição (CHRISTENSON et al., 1972; WETTEMANN; BAZER, 1985).

Esta ação tem sido bem evidenciada nos meses quentes do ano (verão), provocando a redução no desempenho reprodutivo dos cachaços (THIBAULT et al., 1966), que de certa forma redunda na queda da qualidade do sêmen (Mc NITT; FIRST, 1970; WETTEMANN et al., 1976). Esta redução durante o estresse térmico vem associada à redução da taxa de prenhez e aumento da mortalidade embrionária (CHRISTENSON et al., 1972; WETTEMANN et al., 1976). Ocorre também a diminuição do número de espermatozóides totais do ejaculado, tendendo a aumentar o porcentual de alterações espermáticas, sendo mais encontrada como anormalidade a cauda dobrada (ABRAHÃO et al., 2003).

Segundo Wettemann et al. (1979), a exposição dos machos a temperaturas elevadas (31 e 34.5 °C por 6 semanas) não influenciou a habilidade do ejaculado ou o volume do sêmen, mas a porcentagem de espermatozóides móveis diminuiu e o número de espermatozóide com acrossoma lesado aumentou. A porcentagem de espermatozóides móveis não retornou ao normal até 5 semanas após o termino do estresse térmico.

A influência, portanto, do estresse térmico sobre a qualidade seminal é um processo gradual (WETTEMANN et al., 1979), havendo um retardo de 2 semanas desde o início do estresse térmico até a redução da motilidade (Mc NITT; FIRST, 1970; WETTEMANN et al., 1979). Sugere-se que os espermatozóides do epidídimo são mais resistentes ao estresse térmico do que aqueles presentes no testículo, ou que a função epididimária é alterada depois de vários dias de estresse (WETTEMANN; BAZER, 1985).

As ações da vitamina A, frente aos efeitos do estresse térmico, destaca a necessidade da averiguação conjunta, com vistas à identificação do nível de estabilidade para a formação da célula espermática. Esse aspecto de averiguação se estende as análises estatísticas mais específicas dada à sutileza da variabilidade dos parâmetros, os quais possam retratar em conjunto a estabilidade de formação e qualidade da célula (APPLING; CHYTIL,1981; KIM; WANG, 1993; FLOWERS, 1997).

O fato da análise conjunta e no decorrer de um tempo longo, abrangendo as estações do ano, se prendeu aos questionamentos surgidos, desde a estabilização numérica descritiva da produção, quanto ao volume do ejaculado, e outros parâmetros já no período de condicionamento para a colheita do sêmen surgindo sempre à dúvida quanto à manutenção da menor variabilidade aparente demonstrada quando da suplementação de vitamina A, posteriormente aplicada (Abrahão, 2006), e a evolução das características das variáveis.

O objetivo do estudo foi avaliar os parâmetros seminais: volume, motilidade e vigor espermático, pH, concentração espermática, número total de espermatozóides, percentual de

espermatozóides vivos e anormalidades morfológicas, em reprodutores suínos submetidos à suplementação de vitamina A, e a variabilidade da ação da vitamina em si, entre os animais, bem como a ação da temperatura no dia e 7 dias anteriores e estações do ano.

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 LOCAL E ANIMAIS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Suínos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo - FMVZ/USP, Campus Pirassununga-SP.

Os 10 cachaços adultos híbridos com aproximadamente 1 ano de idade (327 dias) e 166 Kg de peso vivo, foram alojados individualmente em baias, providas de bebedouros tipo chupeta, comedouros individuais e lâmina d'água, cuja metragem por animal correspondeu a 9,76m^2. Os animais foram escolhidos levando em consideração a procedência, o fato de serem irmãos e meio-irmãos, a idade e o peso, com o intuito de homogeneizar o lote.

2.2 TRATAMENTOS

Os animais foram distribuídos em dois tratamentos, tratamento 1, controle (T1), onde foi oferecida ração basal específica para machos reprodutores com 25.000 UI de vitamina A/animal/dia e tratamento 2, suplementado com vitamina A (T2), semelhante ao T1, porém suplementada com 40.000 UI de vitamina A/animal/dia.

A ração oferecida aos animais obedeceu ao consumo estabelecido de 2,4 a 3,0 kg /dia. O período experimental foi de julho de 2004 a julho de 2005, quando completou um total de

53 colheitas por animal. A ração do tratamento suplementado, tratamento T2, teve um acréscimo de 16.000 UI de vitamina A/kg, de modo a adequar o oferecimento de 2,5 kg/macho/dia, para totalizar as 40.000 UI de vitamina A /animal/ dia preconizada.

2.3 ANÁLISE DE SÊMEN

Os animais após o condicionamento para a colheita de sêmen, foram submetidos a um total de cinqüenta e três (53) colheitas durante o período experimental sem incluir o nivelamento. A freqüência de colheita adotada foi a cada sete (07) dias, objetivando um total de 530 amostras no período total do experimento.

As colheitas foram realizadas, pela manhã, na sala de colheita, com prévia higienização do prepúcio do macho e empregando-se o método da mão enluvada (KING e MACPHETERSON, 1973).

Imediatamente após a colheitas, o sêmen foi analisado considerando-se os parâmetros volume, motilidade e vigor espermático, pH, concentração espermática por mL, número total de células espermáticas no ejaculado, percentual de espermatozóides vivos e mortos e anormalidades morfológicas, conforme descrito no capítulo III.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com medidas repetidas no tempo. A análise estatística foi realizada através de técnicas de processos estocásticos,

modelos lineares mistos e inferência Bayesiana para análise das variáveis, volume, motilidade e vigor espermático, pH, concentração espermática por mL, número total de células espermáticas no ejaculado, percentual de espermatozóides vivos e mortos e anormalidades morfológicas. O nível de significância considerado foi de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foi realizada a análise descritiva dos dados volume, motilidade, pH, concentração espermática, número total de células espermáticas no ejaculado, percentual de espermatozóides vivos e mortos e anormalidades morfológicas, com o intuito de observar o comportamento das variáveis ao longo das estações, verificando as tendências e comparando os dois tratamentos (controle e vitamina A).

A seguir averiguou-se a análise inferencial, no qual foi feito, para as variáveis contínuas volume, motilidade, pH, concentração espermática, número total de células espermáticas no ejaculado, percentual de espermatozóides vivos e mortos e anormalidades morfológicas, o ajuste de modelos lineares mistos, seguindo a abordagem proposta por Verbeke e Molenberghs (2000). Baseados na análise descritiva das estruturas de correlação dentro de cada animal, optou-se pelo uso de um modelo com efeito aleatório de animal, com estrutura de correlação autoregressiva de ordem 1. O ajuste dos modelos foi feito no programa estatístico R, através do pacote nlme.

Em todos os modelos colocou-se como variáveis explicativas a temperatura do dia,a temperatura de uma semana antes, o tratamento e a estação do ano.

Para o volume não foi observado diferenças entre os animais, individualmente, nem de seus valores médios entre os tratamentos, apresentando apenas um leve crescimento com o tempo, que pode ser explicado pela evolução dos animais (Figura 1).

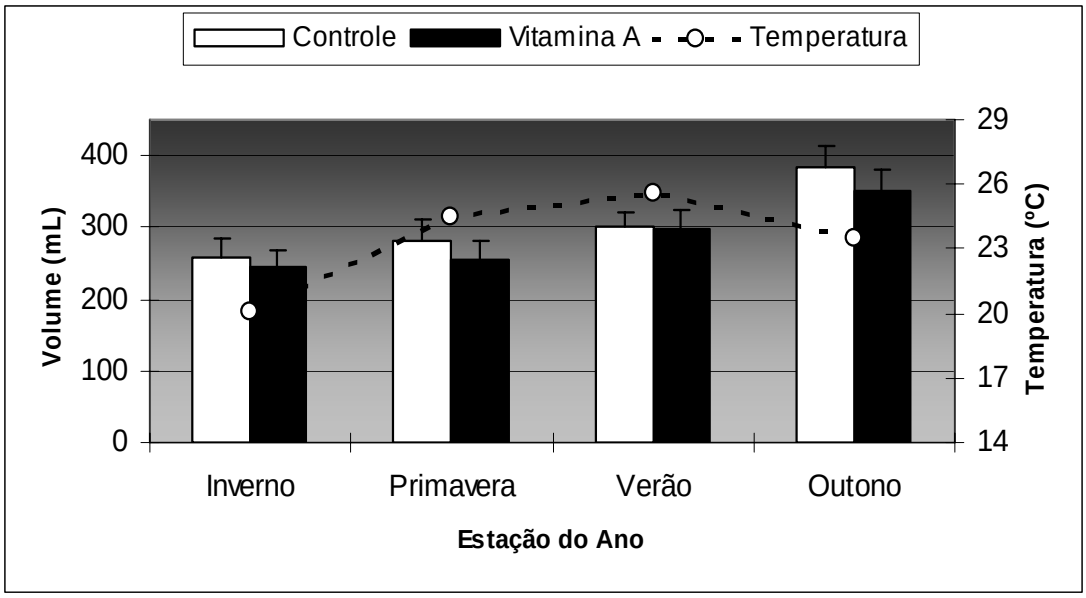

Figura 1 – Valores médios e desvios-padrão do volume e da temperatura do galpão nas 4 estações do ano

Observando os dados da tabela 1 detectou-se efeito significativo da estação do ano, com um nível de significância de 5%. Nesse mesmo nível, o efeito da temperatura do dia foi marginalmente significante (8%). Os intervalos de confiança de 95% para os efeitos de estação indicam que em relação ao inverno, as estações outono e verão apresentaram um volume maior de ejaculado, não podendo ser concluído que houve diferença nas estações inverno e primavera. As estimativas intervalares indicam ainda que no outono esse valor foi maior que todas as demais estações. Não se detectou efeito significativo de tratamento.

O valor obtido para o coeficiente associado ao tratamento vitamina (-19,49), indicou que nessa amostra o volume observado para animais no tratamento com suplemento de vitamina foi ajustado como –19,49 unidades menor. Como o coeficiente da temperatura de mesmo dia foi estimado em (1,45) pode-se concluir que quanto maior a temperatura, maior a média do volume e, que, para a temperatura de 7 dias sendo negativo (-0,46) pode-se concluir que quanto maior a temperatura, menor o volume.

Os resultados obtidos em relação à temperatura no mesmo dia foram semelhantes aos achados por Wettemann et al. (1979), no qual os machos foram expostos a temperaturas elevadas (31 e 34.5 °C por 6 semanas) e não houve influência negativa no volume do sêmen. No presente estudo, a maior temperatura média do galpão foi de 26 ºC e durou 4 semanas, não sendo considerada como temperatura elevada a ponto de haver reflexos negativos para o volume. Esse achado também foi comprovado por Christenson et al. (1972), que relataram redução na qualidade do sêmen após exposição por 3 dias a temperaturas elevadas (acima de 30 ºC).

Como a diferença não foi significativa, a conclusão a respeito do efeito de tratamento não pode ser imediatamente estendida para a população, mas não deixou de alertar que a hipótese levantada quanto ao efeito da vitamina A, na maior estabilidade nos parâmetros aponta para a averiguação mais detalhada de exames da própria célula conjunta com metodologias experimentais mais aperfeiçoadas.

Tabela 1 - Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável volume.

Fatores	**Estimativa**	**IC (95%)**	**p-valor**
Tratamento: Vitamina -Controle	-19,50	[-110,17;71,17]	0,633
Estação: Outono -Inverno	107,74	[91,63;123,85]	< 0,001
Estação: Primavera -Inverno	14,76	[-2,30;31,82]	0,090
Estação: Verão -Inverno	43,07	[24,50;61,64]	< 0,001
Temperatura: mesmo dia	1,45	[-0,13;3,04]	0,072
Temperatura: 7 dias atrás	-0,46	[-2,05;1,12]	0,565

Para a variável motilidade observou-se que um dos animais possuía um percentual de motilidade muito menor que os demais. Notou-se que o desvio-padrão para o tratamento controle era muito maior que para o tratamento com vitamina A. Após a retirada do cachaço, identificado pelo número 351, verificou-se que a diferença entre os desvios dos tratamentos desapareceram, de forma que era esse que estava acarretando a diferença observada, conservando-se ainda uma variação dada as características da metodologia experimental

relacionada aos níveis de vitamina A oferecidos para o tratamento controle e suplementado com esta vitamina.

Nota-se que não há diferenças aparentes na média da motilidade entre os tratamentos, sendo perceptível uma queda na motilidade com o passar das estações (Figura 2)

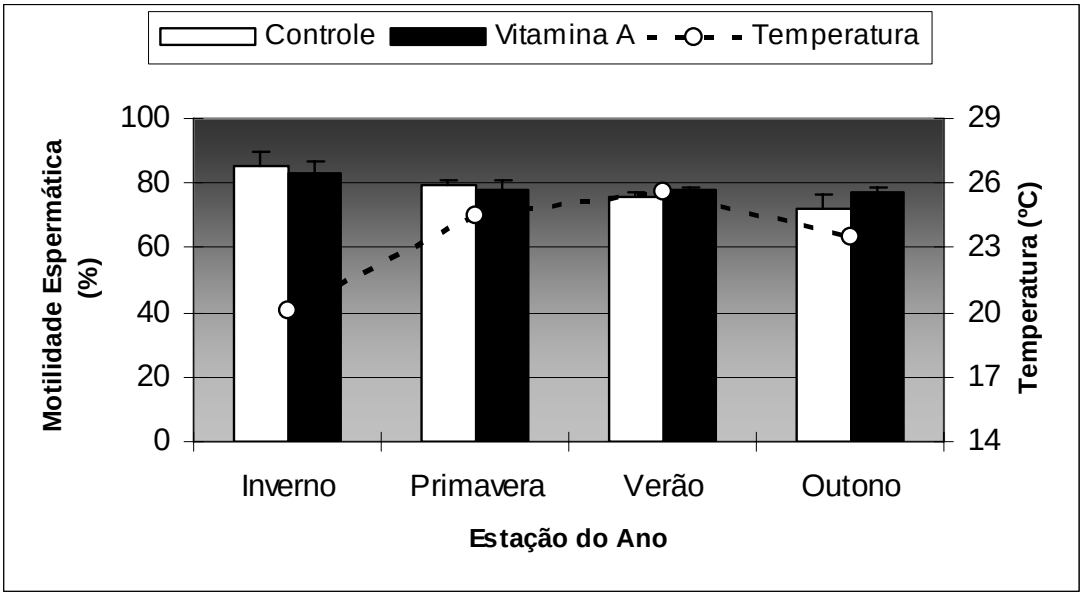

Figura 2 – Valores médios e desvios-padrão da motilidade espermática e da temperatura do galpão nas 4 estações do ano

Em concordância com a análise descritiva, detectou-se o efeito da temperatura de 7 dias anteriores à colheita na motilidade (nível descritivo 0,002) (Tabela 2). Também detectou-se o efeito de estação do ano (nível descritivo < 0,001). Como o coeficiente da temperatura de 7 dias foi estimado como negativo (-0,2) se pode concluir que quanto maior a temperatura, menor a média da motilidade. Wettemann et al. (1979), verificaram uma diminuição na porcentagem de espermatozóides móveis após o estresse térmico e esta não retornou ao normal até 5 semanas após o término.

Em particular, um acréscimo de 10 graus Celsius na temperatura de uma semana antes implica em uma redução de 2% da motilidade. Com relação as estações, vemos que há um

decaimento da motilidade conforme se passa do inverno para a primavera, daí para o verão e para o outono, o que confirma novamente as tendências observadas descritivamente.

Os efeitos de temperatura para o mesmo dia e tratamento não foram significativos a 5%, mas o coeficiente estimado para vitamina (0,44) indica que para essa amostra o tratamento com vitamina A tem um efeito positivo na motilidade. Entretanto o resultado não pode ser generalizado para a população. Esse achado também foi relatado por Rillo (1982), na qual a vitamina A junto com o complexo B e vitamina C estimulam a libido e o vigor sexual, além de favorecerem a motilidade, volume e porcentagem de espermatozóides vivos no ejaculado.

Tabela 2 – Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável motilidade espermática

Fatores	**Estimativa**	**IC (95%)**	**p-valor**
Tratamento: Vitamina -Controle	0,45	[-3,32;4,22]	0,787
Estação: Outono -Inverno	-7,74	[-9,39;-6,09]	< 0,001
Estação: Primavera -Inverno	-3,95	[-5,64;-2,26]	< 0,001
Estação: Verão -Inverno	-5,45	[-7,29;-3,62]	< 0,001
Temperatura: mesmo dia	-0,10	[-0,23;0,03]	0,137
Temperatura: 7 dias atrás	-0,20	[-0,33;-0,07]	0,003

Para a análise da variável vigor, primeiramente foi realizado uma análise semelhante as demais variáveis, mas não obteve-se nenhuma conclusão satisfatória (Figura 3).

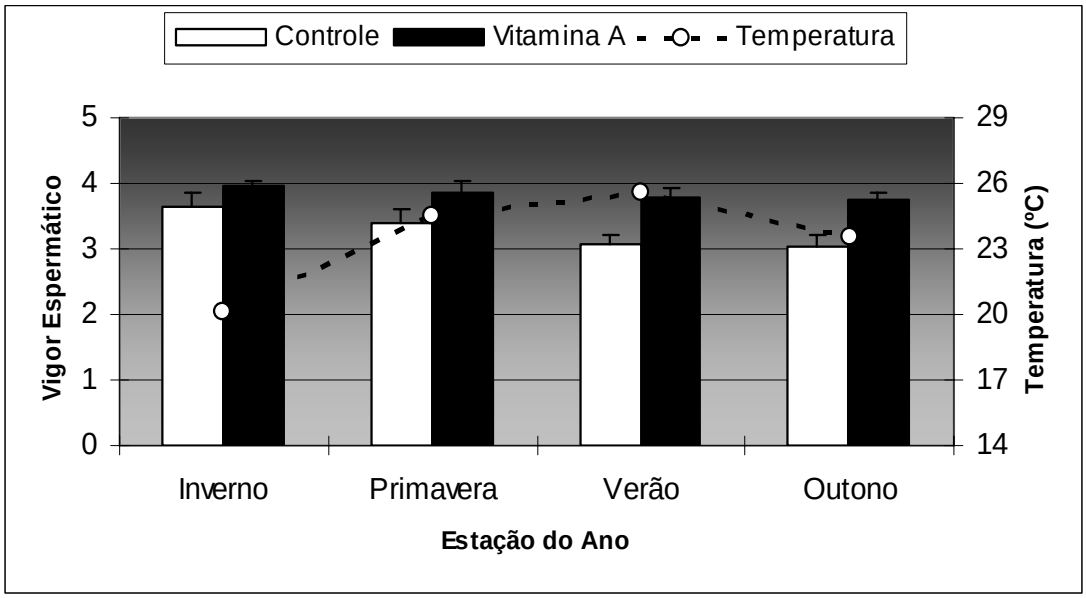

Figura 3 - Valores médios e desvios-padrão do vigor espermático nas 4 estações do ano

Na média do pH, verificou-se que havia um padrão de transição entre os valores de vigor 3 e 4, para cada animal. A partir dessa observação considerou-se a possibilidade de utilizar cadeias de Markov (ROSS, 2002) para estudar o comportamento do vigor de acordo com os tratamentos.

A idéia inserida da modelagem por cadeias de Markov é que a probabilidade de um cachaço de um determinado tratamento passar de um valor de vigor em uma determinada semana para outro valor de vigor (ou permanecer no mesmo valor de vigor) uma semana depois, depende somente do vigor de um número fixo de semanas anteriores.

Em particular, considerou-se que essa dependência se estende somente até uma semana atrás; ou seja, o vigor de um dado animal na semana que vem, depende somente do vigor que ele teve nessa semana.

A partir dessa suposição, estimamos uma matriz de transição de probabilidades, que representa as probabilidades de um dado animal que está com um dado vigor (3 ou 4) na

semana atual, passar para outro nível de vigor (3,4) na próxima semana. Na Figura 4 temos essas estimativas, para o tratamento controle e para o tratamento vitamina A.

Interpretando os valores estimados, temos que se um animal foi submetido ao tratamento controle, e estava com vigor 3 nessa semana, a probabilidade dele passar para o vigor 4 na semana seguinte é de 33%. Um outro animal que foi submetido ao tratamento vitamina A, e nessa semana tem vigor 3, tem uma probabilidade de passar para o vigor 4 na semana seguinte de 42%. Isso indica que, pelo menos para o conjunto de 10 animais estudados, a utilização do suplemento de vitamina A na ração aumenta a capacidade de recuperação do vigor dos animais de uma semana para a outra.

Observando agora a última casela superior (4,4), temos que um cachaço que recebeu o suplemento com vitamina A e estava com vigor 4 nessa semana, tem probabilidade estimada de 92% de permanecer com esse valor na semana seguinte. Para cachaço no tratamento controle, essa probabilidade é de 90%. Nota-se que para esses 10 animais, se o animal já está com vigor alto, o tratamento não parece ter tanto efeito.

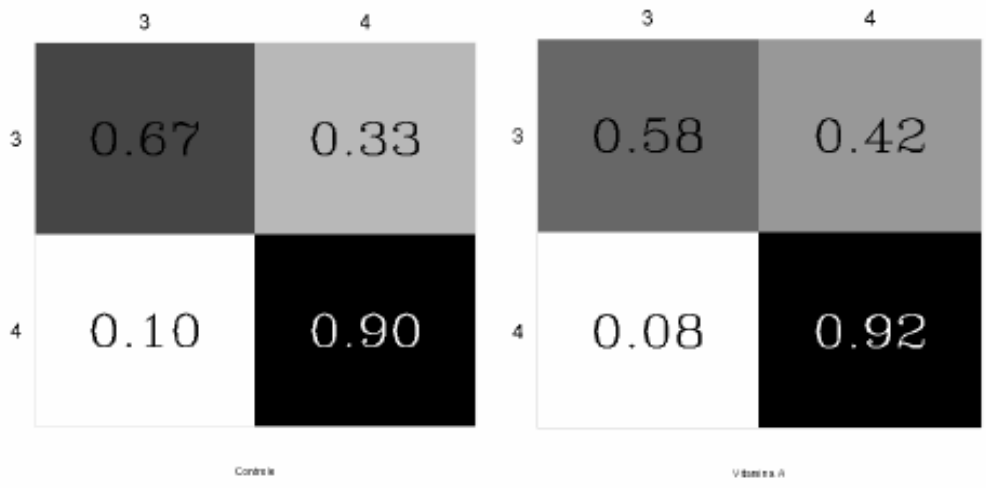

Figura 4 – Probabilidades de transição entre os diferentes estados de vigor espermático, estimadas conjuntamente para todo o conjunto de 10 animais

Estes dados esclarecem de certo modo a dúvida anterior sobre os efeitos da vitamina A na estabilização da formação da célula, e mostra indicativo positivo de resposta quanto a ação da vitamina A para essa característica, comprovando a estabilidade.

Em relação ao pH notou-se que o desvio-padrão de cada tratamento para a estação verão foi maior que para as demais estações. Verificou-se que tanto a variabilidade entre os animais dentro de cada tratamento por semana é maior no verão, como esse padrão também se repete quando consideramos a variabilidade de cada animal dentro de cada estação (Figura 5).

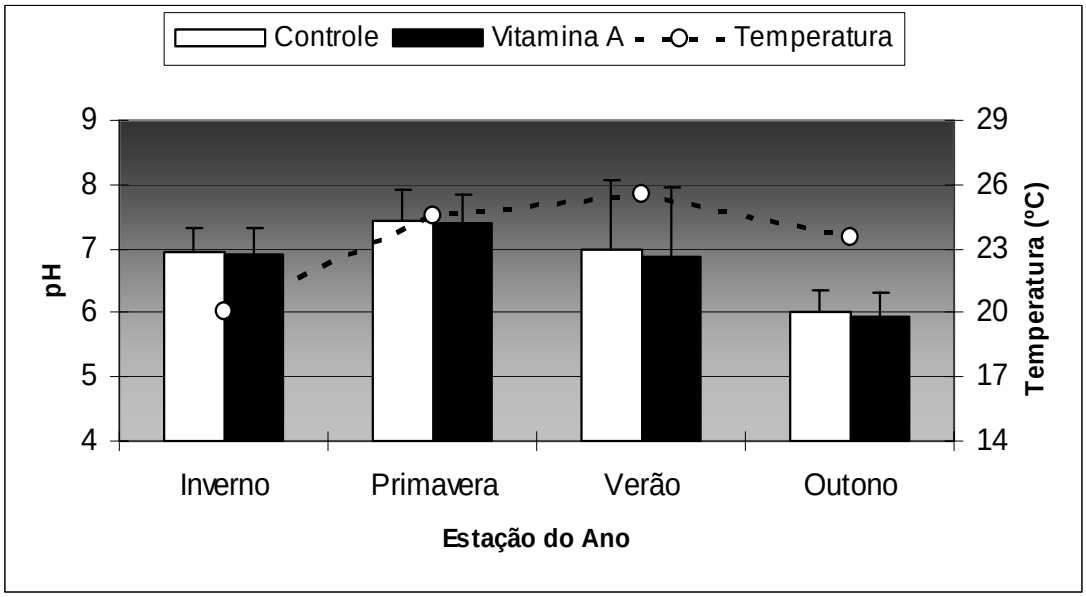

Figura 5 - Valores meios e desvios-padrão do pH nas 4 estações do ano

Averiguou-se efeito significativo tanto da temperatura do dia da colheita, como da temperatura de 7 dias anteriores a colheita, como da estação do ano, na média do pH.

Observando a tabela 3, vemos que a temperatura de 7 dias anteriores teve um efeito negativo na média do pH, e que a temperatura do dia tem um efeito positivo. Quanto às estações do ano, identifica-se que em relação ao inverno, a primavera apresentou média de resposta maior, enquanto no outono o pH médio foi menor. Não foi detectado efeito de tratamento, confirmando as tendências observadas na análise descritiva.

Tabela 3 - Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável pH.

Fatores	**Estimativa**	**IC (95%)**	**p-valor**
Tratamento: Vitamina -Controle	-0,04	[-0,25;0,17]	0,653
Estação: Outono -Inverno	-0,86	[-1,09;-0,63]	< 0,001
Estação: Primavera -Inverno	0,42	[0,18;0,66]	0,001
Estação: Verão -Inverno	0,12	[-0,13;0,38]	0,345
Temperatura: mesmo dia	0,02	[0,00;0,04]	0,034
Temperatura: 7 dias atrás	-0,03	[-0,05;-0,01]	< 0,001

Para concentração espermática não foi observada diferença significativa entre os tratamentos ao longo das 4 estações (Figura 6). Talvez um dos motivos pelo qual não demonstrou-se diferença marcante entre os tratamentos seja devido aos níveis de vitamina A na dieta dos cachaços, pois as diferenças entre os tratamentos suplementado e controle eram pequenas e, portanto, superiores inclusive às recomendações comumente utilizados na maioria das criações..

A diferença é expressa mais facilmente quando há suplementação de animais com deficiência, o que foi bem evidenciado por Dowling e Wald (1960) que suplementaram com ácido retinóico, ratos deficientes em retinol e notaram que houve um processo de atrofia nos túbulos seminíferos, demonstrando que o ácido retinóico é incapaz de dar suporte para o processo reprodutivo. Porém, Appling e Chytil (1981) verificaram que os animais mantiveram constante o nível de produção de testosterona, levando os autores a concluir que o ácido retinóico poderia manter a esteroidogênese, mas não a espermatogênese. E que a suplementação de retinóide era capaz de restabelecer a espermatogênese, ocorrendo concomitantemente em todos os túbulos seminíferos (MORALES; GRISWOLD, 1987; LIVERA et al., 2002).

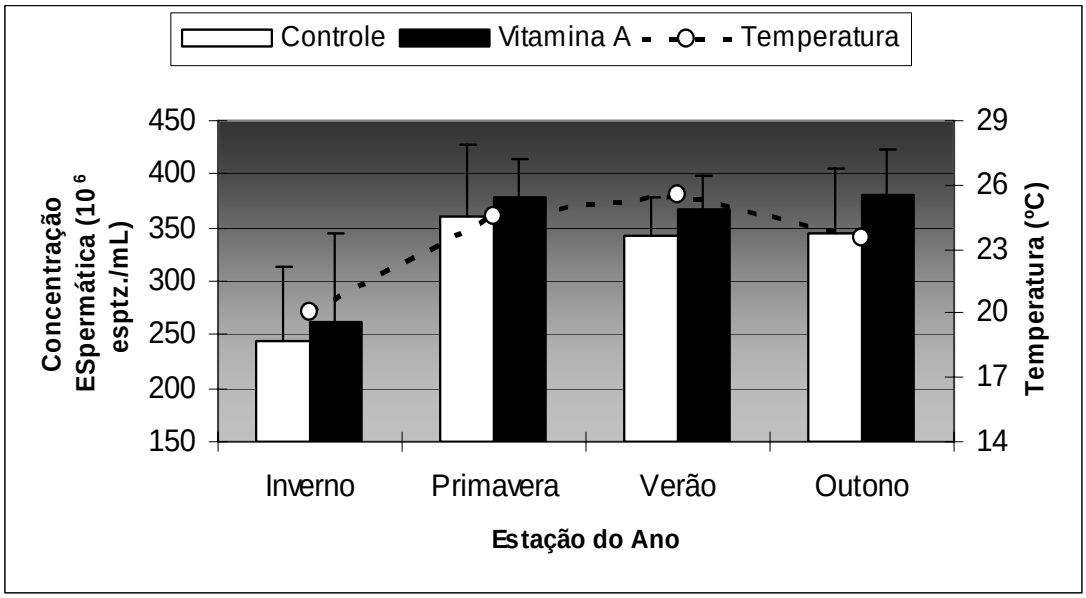

Figura 6 – Valores médios, desvios-padrão da concentração espermática nas 4 estações do ano

O modelo linear misto foi ajustado, mas devido à magnitude de variação dos resíduos e os valores ajustados, optou-se pela transformação logarítmica da variável resposta. Detectou-se efeito significativo na média do logaritmo somente de estação do ano, não sendo possível detectar efeito de temperatura ou tratamento. Pelas estimativas indicadas na tabela 4, vemos que, em relação ao inverno, nas três outras estações a variável resposta tem uma concentração espermática maior. Como não foi verificado temperaturas elevadas no período experimental, a ponto de causar estresse térmico, era esperado não haver influência da mesma sobre a concentração espermática.

Abrahão et al. (2003) encontraram diminuição do número de espermatozóides totais do ejaculado, tendendo a aumentar o percentual de anormalidades morfológicas, sendo mais encontrada como anormalidade a cauda dobrada, em períodos de elevada temperatura, acima de 30 ºC.

Tabela 4 – Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável concentração espermática (transformação logarítmica)

Fatores	**Estimativa**	**IC (95%)**	**p-valor**
Tratamento: Vitamina -Controle	0,17	[-0,38;0,73]	0,487
Estação: Outono -Inverno	0,84	[0,66;1,01]	< 0,001
Estação: Primavera -Inverno	0,80	[0,62;0,99]	< 0,001
Estação: Verão -Inverno	0,78	[0,58;0,98]	< 0,001
Temperatura: mesmo dia	0,00	[-0,01;0,02]	0,786
Temperatura: 7 dias atrás	-0,01	[-0,02;0,01]	0,386

Os resultados para o número total de espermatozóides no ejaculado foram semelhantes ao encontrado para a concentração espermática, apenas notou-se uma maior variabilidade no outono para o tratamento controle em comparação a vitamina A (Figura 7).

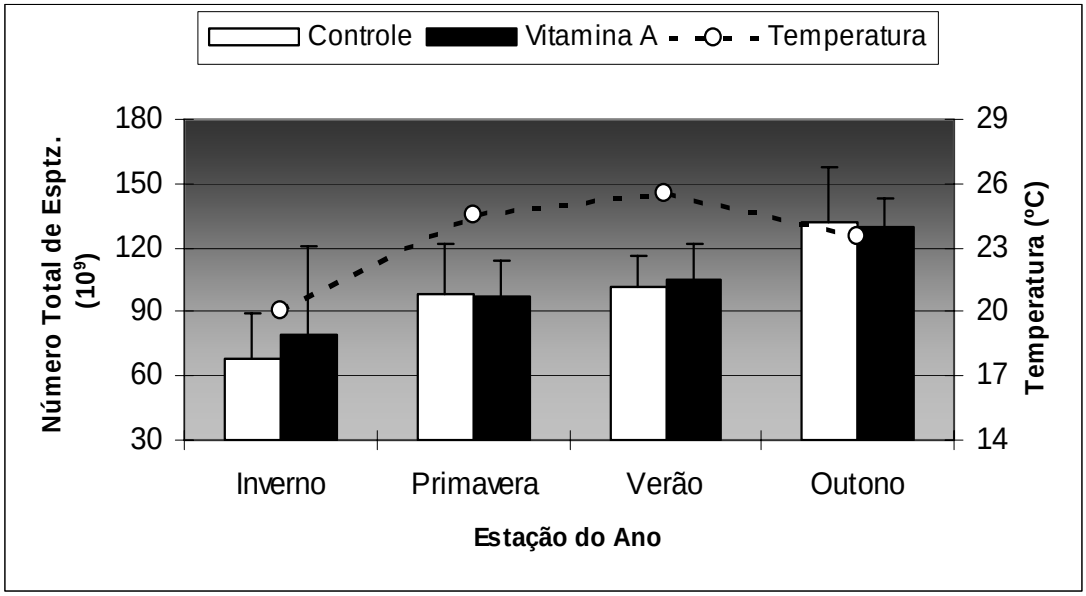

Figura 7 - Valores médios, desvios-padrão do número total de espermatozóides no ejaculado nas 4 estações do ano

Foram obtidos resultados similares para o número total de espermatozóides no ejaculado. Não se detectou efeito significativo da temperatura nem do tratamento, somente das estações do ano. Novamente a média do logaritmo da concentração foi maior na primavera, verão e outono em relação ao inverno. Entre si, as estações primavera, verão e

outono não apresentaram diferenças significativas (Tabela 5). Ocorrem também a diminuição do número de espermatozóides totais do ejaculado, tendendo a aumentar o porcentual de alterações espermáticas, sendo mais encontrada como anormalidade a cauda dobrada (ABRAHÃO et al., 2003).

Tabela 5 - Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável número total de espermatozóides no ejaculado (transformação logarítmica)

Fatores	**Estimativa**	**IC (95%)**	**p-valor**
Tratamento: Vitamina -Controle	0,09	[-0,27;0,45]	0,582
Estação: Outono -Inverno	1,21	[1,04;1,38]	< 0,001
Estação: Primavera -Inverno	0,88	[0,69;1,06]	< 0,001
Estação: Verão -Inverno	0,95	[0,75;1,15]	< 0,001
Temperatura: mesmo dia	0,01	[-0,01;0,02]	0,373
Temperatura: 7 dias atrás	-0,01	[-0,03;0,01]	0,218

Para avaliar esta variável, percentual de espermatozóides vivos, também foi retirado o animal 351, pois o mesmo influenciou excessivamente os resultados. Foi observado que novamente esse animal apresentava valores discrepantes. Após a retirada notou-se que o percentual de espermatozóides vivos não apresentou diferenças entre os tratamentos (Figura 8). Como a unidade desta variável é uma porcentagem, considerou-se a transformação logito, reajustando o modelo inicialmente proposto.

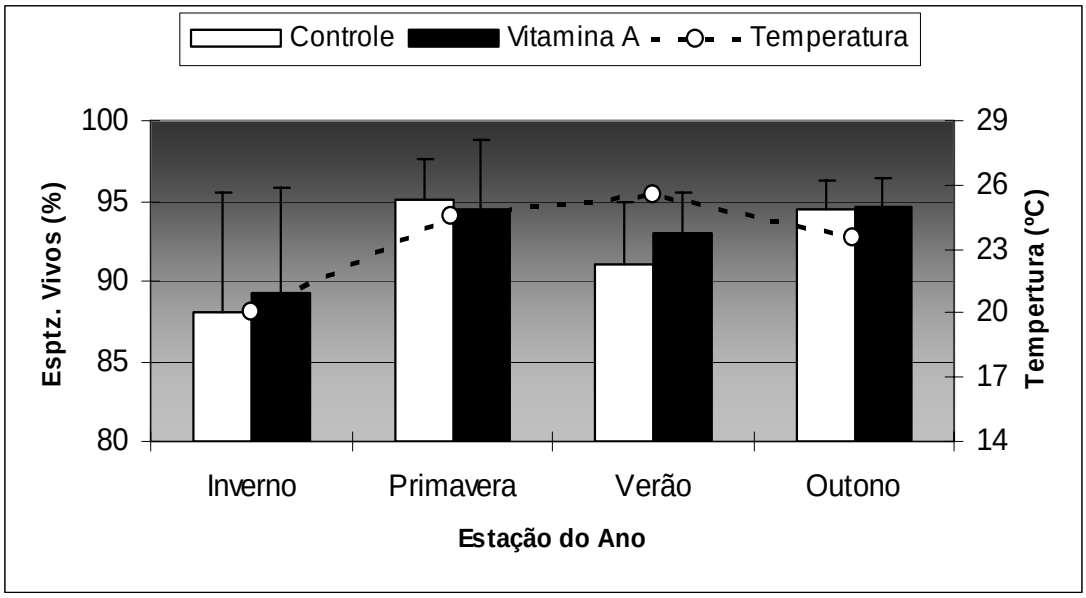

Figura 8 - Valores médios, desvios-padrão do percentual de espermatozóides vivos (eosina-nigrosina) nas 4 estações do ano

Na tabela 6 foram demonstradas as estimativas e níveis descritivos para o percentual de espermatozóides vivos. Detectou-se o efeito de estação, da temperatura do dia e de 7 dias anteriores. Os três efeitos foram altamente significativos, e estão de acordo com o que foi observado na análise descritiva. Em particular, notou-se que quanto maior a temperatura do dia e de 7 dias anteriores, menor a porcentagem de percentual de espermatozóides vivos. O efeito da temperatura do dia e de 7 dias anteriores foi bem parecido (aproximadamente -0,03), indicando que ambas a temperatura do dia e de 7 dias anteriores foram importantes na previsão da média de percentual de espermatozóides vivos, com magnitude de efeito equivalente. Quanto às estações, tanto outono quanto primavera apresentaram valores médios maiores de percentual de espermatozóides vivos em relação a estação inverno. Para o tratamento não foi observada diferença significativa.

Tabela 6 - Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável percentual de espermatozóides vivos (eosina-nigrosina) (transformação logito)

Fatores	**Estimativa**	**IC (95%)**	**p-valor**
Tratamento: Vitamina -Controle	0,33	[-0,34;1,00]	0,288
Estação: Outono -Inverno	0,37	[0,08;0,67]	0,014
Estação: Primavera -Inverno	0,48	[0,17;0,79]	0,002
Estação: Verão -Inverno	-0,02	[-0,35;0,32]	0,920
Temperatura: mesmo dia	-0,03	[0,01;0,06]	0,007
Temperatura: 7 dias atrás	-0,03	[0,01;0,06]	0,007

Em relação às anormalidades morfológicas, não foi possível encontrar diferenças entre os tratamentos. Pela figura 9, o tratamento controle parece apresentar valores médios maiores de anormalidades morfológicas do que o tratamento com suplementação de vitamina A, a partir da vigésima terceira semana, sendo assim, menor na média do percentual de espermatozóides anormais para o tratamento vitamina A a partir desse período, não parecendo haver diferenças anteriores a esse período. Foi observado que a variância do tratamento controle parece aumentar com o tempo, começando inicialmente menor que a do tratamento vitamina A e passando a ser maior a partir do meio da primavera.

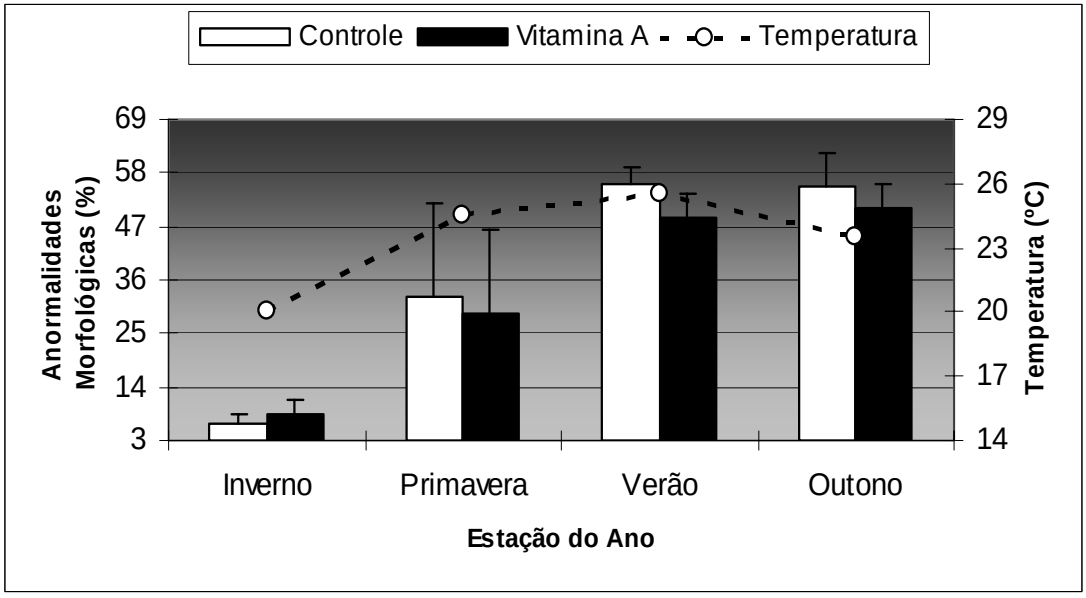

Figura 9 – Valores médios e desvios-padrão das anormalidades morfológicas nas 4 estações do ano

Na tabela 7 foram apresentados os contrastes de interesse estimados a partir desse modelo. Verificou-se efeito significativo de estações do ano e da temperatura do dia, e de 7 dias anteriores. As anormalidades morfológicas foram maiores nas estações após o inverno, e, quanto maior a temperatura do dia, e de 7 dias anteriores, maior a porcentagem de anormalidades. Não se detectou efeito de tratamento a 5%, mas em caráter descritivo, o coeficiente negativo da comparação 'Vitamina A – Controle', indica que pelo menos nessa amostra, o percentual de patologia foi menor para o tratamento que recebeu o suplemento de Vitamina A do que para o tratamento controle. Esse resultado é concordantecom os encontrados por Abrahão (2006) que também obteve um menor percentual de anormalidades morfológicas após a suplementação de vitamina A na dieta de cachaços.

Tabela 7 - Efeitos estimados para o modelo misto ajustado para a variável anormalidades morfológicas

Fatores	**Estimativa**	**IC (95%)**	**p-valor**
Tratamento: Vitamina - Controle	-3,46	[-9,31;-3,46]	0,339
Estação: Outono - Inverno	40,08	[33,89;46,28]	< 0,001
Estação: Primavera - Inverno	18,23	[12,32;24,14]	< 0,001
Estação: Verão - Inverno	34,72	[28,20;41,24]	< 0,001
Temperatura: mesmo dia	0,38	[0,01;0,77]	0,047
Temperatura: 7 dias atrás	0,44	[0,07;0,83]	0,020

Essa verificação se reveste de importância, no contexto global da análises feitas nos parâmetros, reforçando a idéia inicialmente colocada de que a vitamina A, tendo função primordial nos estágios de formação da célula espermática atua portanto de forma sutil, mostrando até em condição de pouca diferenças nos níveis aplicados, seu papel estabilizante na formação celular que reflete na menor variabilidade em determinados parâmetros seminais e particularmente nas anormalidades morfológicas.

4 CONCLUSÃO

Detectou-se e quantificou-se o efeito de estação do ano para todas as variáveis contínuas, o que confirma os resultados prévios de que a sazonalidade tem efeito na qualidade do sêmen. Também foi possível detectar e estimar o efeito da temperatura do dia da colheita, e de 7 dias antes da colheita, para algumas das variáveis consideradas, como a motilidade e o percentual de espermatozóides vivos. Em especial para a motilidade, já que é conhecido do ponto de vista fisiológico de que há o efeito de temperaturas altas na motilidade e na qualidade do sêmen. Apesar de descritivamente ter sido observado o efeito da suplementação da vitamina A, essas tendências não puderam ser confirmadas inferencialmente, já que em nenhum dos modelos foi possível detectar o efeito de tratamento. Isso não indica que não exista o efeito de tratamento, mas somente que com essa variabilidade e tamanho amostral, não foi possível detectá-lo.

Somente o aumento da amostragem, não é fator determinante e sua inserção no modelo experimental de determinadas análises prévias, além da homogeneização aplicado no estudo referente a avaliação prévia do sêmen, afim de estabelecer classes homogêneas dentro dos tratamentos. Foi proposto que para se detectar inferencialmente essas diferenças seria necessário no mínimo 40 cachaços por tratamento, mas sabe-se que com essa quantidade de animais não seria possível homogeneizar a amostra da mesma forma como foi feito no presente estudo.

Para a variável vigor, foi possível observar que para esses 10 animais, o suplemento de vitamina A na ração aumentou a capacidade de recuperação do vigor de uma semana para a outra, ao mesmo tempo em que não causou melhoras quando o vigor já era alto. Entretanto isso não pôde ser generalizado para a população, pois na análise inferencial não foi possível detectar diferenças significativas. Se houvesse uma replicação do estudo com as mesmas

condições e um número maior de observações (40 animais), sendo obtidos os mesmos padrões de comportamento observados nessa amostra, é possível que uma diferença significativa fosse observada.

É importante considerar que mesmo não sendo inferido diferenças significativas as tendências sim, aliado aos níveis de vitamina A empregados nos dois tratamentos e ainda os níveis usados a campo nas criações, o estudo demonstra a importância da vitamina A na manutenção da estabilidade da formação da célula espermática, necessitando o aprimoramento da averiguação em novas pesquisas.

REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, AAF.; VIANNA, W.L.; MORETTI, A S. Efeito da sazonalidade sobre a concentração e características morfológicas espermáticas em reprodutores suínos. In: **XI CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS**, 2003, Goiânia, 2003. 483p. p.225-226

ABRAHÃO, A.A.F. **Vitamina A na nutrição de cachaços: I - Fatores relacionados ao condicionamento de machos reprodutores suínos para a colheita de sêmen. II - Análise qualitativa e quantitativa do sêmen de cachaços submetidos à suplementação de vitamina A na dieta**. 2006. 124 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

APPLING, D. R.; CHYTIL, F. Evidence of a role for retinoic acid (vitamin A-acid) in the maintenance of testosterone production in male rats. **Endocrinology,** v.108, p.2120-2124, 1981.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: FAEPE/UFLA, 1997, 255 p.

CHRISTENSON, R.K.;TEAGUE, H.S.; GRIFO JR., A.P.; ROLLER, W.L. The effect of high environmental temperature on the boar. **Ohio Swine Research and Information Report. Research Summary.** v.61, 1972.

COLENBRANDER, B.; KEMPT, B. Factors influencing semen quality in pigs. **Journal of Reproduction and Fertility**, Supplement 40, p.105-115, 1990.

CORCUERA, B.D.; HÉRNANDEZ-GIL, R.; DE ALBA ROMERO, C.; MARTÍN RILLO, S. Relationship of enviroment temperature and boar facilities with seminal quality. **Livestock Production Science** v.74, p.55-62, 2002.

DOWLING, J. E.; WALD, G. The role of vitamin A acid**. Vitamin & Hormones**, v.18, 1960, p.515-541.

FLOWERS, W. L. Management of the boars for efficient semen production. **Journal Reproduction and. Fertility**, Supplement 52, p.68-78, 1997.

GILMAN, A. G.; RALLT, W.; NIES, A. S.; TAYLOR, P. (Ed.). Goodman; Gilman**. As bases farmacológicas da terapêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p.1033-1039.

KIM, K. H.; WANG, Z. O. Action of vitamin a on the testis: role of the Sertolli cell. In: RUSSELL, L. D.; GRISWOLD, M. D. **The sertolli cell**. Florida: Cache River Press. 1993. p.515-535.

KING. G. J.; MACPHERSON. J. W. A comparison of two methods for boar sêmen collection. **Journal of Animal Science**. v.36, n.4, p.563-565, 1973.

LIVERA, G.; ROUILLER-FABRE, V.; PAIRAULT, C.; LEVACHER, C.O; HABERT, R. Regulation and perturbation of testicular functions by vitamin A. **Reproduction**, v.124, p.173-180, 2002.

Mc NITT, J.I.; FIRST, N.L. Effects of 72 hour heat stress on semen quality in boars. **International Journal of Biometeorology**. v.14, n.4, p.373-380, 1970.

MORALES, C.; GRISWOLD, D. Retinol-induced synchronization in semineferous tubules of the rat. **Endocrinology** v.121, p.432-434, 1987.

RILLO, M. R**. Reproduccion e inseminacion artificial porcina.** Espanha: Aedos, 1982. p.72-73.

ROSS, M.S. Introduction to Probability Models. 8.ed. New York: Academic Press. 775p., 2002.

STONE, B.A. Heat induced infertility of boars: the inter-relationship between depressed sperm output and fertility and an estimation of the critical air temperature above which sperm output is impaired. **Animal Reproduction Science**, v.4, p.283-299, 1982.

SURIYASOMBOON, A.; LUNDEHEIM, N.; KUNAVONGKRIT, A.; EINARSSON, S. Effect of temperature and humidity on sperm production in Duroc under different housing systems in Thailand. **Livestock Production Science**, v.89, p.19-31, 2004.

THIBAULT, C.; COUROT, M.; MARTINET, L.; MAULEON, P.; du MESNIL du BUISSON, F.; ORTAVANT, R.O.O.; PELLETIER, J. E.; SIGNORET, J.P. Regulation of breeding season and estrous cycles by light and external stimuli in some mammals. **Journal of Animal Science**.v.25, p.119-124, 1966.

VERBEKE, V. AND MOLENBERGHS Linear Mixed Models for Longitudinal Data. New York Springer. 568p., 2000.

WETTEWMANN, R.P.; WELLS, M.E.; OMTVEDT, I.T.; POPE, C.E. e TURMAN, E.J. Influence of elevated ambient temperature on reproductive performance of boars. **Journal of Animal Science** v.42, p.664-668, 1976.

WETTEMANN, R.P.; WELLS, M.E.; JOHNSON, R.K. Reproductive characteristics of boars during and after exposure to increased ambient temperature. **Journal of Animal Science**. v.49, p.1501-1505, 1979.

WETTEMAN, R.P.; BAZER, F.W. Influence of environmental temperature on prolificacy of pigs. **Journal of Reproduction and Fertility**, Supplement 33, p.199-208, 1985

CAPÍTULO V

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na avaliação da qualidade da formação da célula espermática encontrou-se resposta positiva quanto à suplementação de vitamina A na dieta de machos reprodutores, no nível de 25.000 UI de vitamina A/animal/dia em comparação ao nível de 40.000 UI de vitamina A/animal/dia e ainda frente as variações de temperatura nas diferentes estações do ano. A suplementação empregada sugere que mesmo que não tenha havido diferenças acentuadas entre os tratamentos, a vitamina A tem função primordial e específica na formação das células espermáticas.

A metodologia experimental empregada no estudo, conferiu, diante da literatura consultada, u ineditismo dada as análises utilizadas para detectar a influência de um nutriente, no caso, a vitamina A em parâmetros que sofrem influência do ambiente.

A suspeita inicial sobre a variabilidade diminuída dos parâmetros seminais estudados, utilizando-se modelo de análise específico, não foi totalmente confirmada através da amostra utilizada. Mesmo que esta tenha sido adaptada ao modelo de homogeneização imposto, poderia ser acrescentado na distribuição dos tratamentos a mesma característica de qualidade do sêmen de cada animal, facilitando as futuras pesquisas que procurem estudar a relação nutrição e reprodução em reprodutores suínos.

O estudo contribui, nos níveis de suplementação de vitamina A utilizados, para sua aplicação nos sistemas de produção de suínos, principalmente os que se utilizam da inseminação artificial corrigindo os níveis preconizados nos programas nutricionais empregados para reprodutores em serviço de colheita de sêmen.

As características que mais contribuíram para os comentários positivos relacionados a ação da vitamina A, foram, percentual de anormalidades morfológicas, percentual de espermatozóides vivos e o número total de espermatozóides no ejaculado.