

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**EFEITO DE SUPLEMENTOS MINERAIS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS NA  
QUALIDADE DO SÊMEN E NA ATIVIDADE ADRENOCORTICAL EM  
SUÍNOS SUBMETIDOS A ESTRESSE TÉRMICO**

**DAIANE DONIN SPESSATTO**

CURITIBA

2007

**DAIANE DONIN SPESSATTO**

**EFEITO DE SUPLEMENTOS MINERAIS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS NA  
QUALIDADE DO SÊMEN E NA ATIVIDADE ADRENOCORTICAL EM  
SUÍNOS SUBMETIDOS A ESTRESSE TÉRMICO**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, pelo Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração: Patologia Animal, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Nei Moreira

CURITIBA

2007

SPESSATTO, Daiane Donin

Efeito de suplementos minerais orgânicos e inorgânicos na qualidade do sêmen e na atividade adrenocortical em suínos submetidos a estresse térmico. Curitiba, UFPR, Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2007.

105 p.

Dissertação : Mestrado em Ciências Veterinárias

Orientador: Prof. Nei Moreira, Dr.

--- Estresse, calor, sêmen, suínos, minerais orgânicos, cortisol, reprodução.

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “EFEITO DE SUPLEMENTOS MINERAIS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS NA QUALIDADE DO SÊMEN E NA ATIVIDADE ADRENOCORTICAL EM SUÍNOS SUBMETIDOS A ESTRESSE TÉRMICO” apresentada pela Mestranda DAIANE DONIN SPESSATTO, declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03–CEPE/UFPR, que considerou a candidata aprovada para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Patologia Veterinária.

Curitiba, 31 de agosto de 2007.

Prof. Dr. Nei Moreira  
Presidente/Orientador

Prof. Dr. Geraldo Camilo Alberton  
Membro

Prof. Dr. Eraldo Lourenso Zanella  
Membro

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade que me deu em aprimorar os dons por Ele concedidos a mim, e sempre me iluminou, conduziu e confortou, para que eu pudesse superar as dificuldades e obstáculos encontrados durante a caminhada.

Ao meu esposo, Júlio César Spessatto, que carinhosa e pacientemente me fez acreditar que tudo seria possível e me abriu as portas para que eu continuasse nessa busca, pois sem ele, certamente, essa etapa não seria concluída.

Ao meu pai, Danilo Antônio Donin, pelo apoio e incentivo, sem medir esforços para me auxiliar em todos os momentos que necessitei de seu auxílio, fazendo-o com muito amor.

À minha mãe, Lenir Güllich Donin, que me deixou um ensinamento maravilhoso, de que as únicas coisas que nunca serão perdidas na vida são o amor e o conhecimento.

A todos os meus mestres, que com muita sabedoria, me apresentaram os conhecimentos e me auxiliaram na busca de informações, despertando em mim o senso crítico perante as situações, em especial à Professora Dra. Simone Benghi Pinto, que sempre me estimulou e me apoiou.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Nei Moreira, pelos ensinamentos, dedicação, paciência e orientação, e pelo exemplo de profissional que é para mim.

À Cooperativa C-Vale por disponibilizar os animais da Unidade de Disseminação de Genes para a realização do experimento.

À Companhia Zootécnica Tortuga pelo apoio científico e financeiro.

Ao médico veterinário Oswaldo Costa Júnior, por acreditar no projeto, estimular a sua realização e me auxiliar em todos os momentos que o busquei.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Luciana Kazue Otutumi, pelo auxílio na realização da análise estatística.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Jovanir Inês Muller, pelos ensinamentos durante a graduação e pelo auxílio na realização da análise estatística.

Ao colega Médico Veterinário Rogério Heinemann, pelo auxílio na realização dos exames laboratoriais do sêmen.

Ao Prof. Dr. Cláudio Alvarenga de Oliveira, por permitir a realização das dosagens hormonais no Laboratório de Dosagens Hormonais da USP.

À Priscila Viau, responsável pelo Laboratório de Dosagens Hormonais da USP, por me mostrar os meios para conseguir realizar as análises hormonais e pelo auxílio para realização das mesmas no LDH.

À Érika van Tol, acadêmica de Medicina Veterinária da USP, pelo auxílio na realização das dosagens hormonais e pela competência.

Aos funcionários da Unidade Produtora de Leitões, que sempre me receberam carinhosamente e auxiliaram no que foi necessário.

Aos funcionários da fábrica de ração da C-Vale, pelo auxílio e apoio.

Ao médico veterinário Fernandes Dotto, pela confiança e permissão para a realização do experimento na Cooperativa C-Vale.

Ao médico veterinário Carlos Alessandro Guideli, pelo auxílio na etapa inicial de formulação das rações e pelas dicas importantes para tornar o trabalho mais interessante e viável.

Às minhas irmãs, Patrícia Güllich Donin e Danilene Güllich Donin Berticelli, por todo apoio e compreensão durante esse período.

Aos meus amigos André Zanin e Cândice Zanin, que nos vários momentos de descrença, me fizeram acreditar que eu conseguiria concluir esta etapa, me enchendo de confiança e sabedoria.

Aos meus amigos, colegas de trabalho e alunos, que pacientemente me suportaram nos períodos de cansaço e exaustão, sempre me apoiaram e incentivaram e me substituíram nos momentos de ausência.

*Dedico a Deus todo o trabalho realizado durante esse período e a meus familiares, em especial à minha filha **Júlia Donin Spessatto**, que superou os meus momentos de ausência e isolamento, e com muito amor e carinho sempre esteve comigo, e a meu esposo **Júlio César Spessatto**, pela compreensão, superação e amor demonstrados durante esse período.*

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>x</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>xi</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS</b>	<b>xiii</b>
<b>RESUMO</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xv</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>4</b>
<b>2.1 HIPÓTESES:</b>	<b>4</b>
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>5</b>
<b>3.1 ANATOMO-FISIOLOGIA REPRODUTIVA DO MACHO SUÍNO</b>	<b>5</b>
<b>3.2 COLETA E ANÁLISE DE SÊMEN DE SUÍNOS</b>	<b>9</b>
<b>3.3 FISIOPATOLOGIA DO ESTRESSE</b>	<b>16</b>
3.3.1 Estresse pelo calor	20
3.3.2 Estresse térmico e eficiência reprodutiva	23
<b>3.4 NUTRIÇÃO E SUA INFLUÊNCIA NA REPRODUÇÃO DE MACHOS SUÍNOS</b>	<b>27</b>
3.4.1 Minerais orgânicos	30
<b>3.5 REQUERIMENTOS NUTRICIONAIS DE MACHOS ADULTOS SEXUALMENTE ATIVOS</b>	<b>36</b>
<b>3.6 CONDIÇÕES ATUAIS DE CRIAÇÃO E ESTRESSE</b>	<b>36</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>39</b>
4.1 ANIMAIS E COLHEITA DAS AMOSTRAS	39
4.2 INSTALAÇÕES E DESENHO EXPERIMENTAL	40
4.3 NÚMERO DE AMOSTRAS	45
4.4 ANÁLISE HORMONAL FECAL	46
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	50
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>51</b>
5.1 TEMPERATURA E VARIAÇÕES ESPERMÁTICAS	51
5.2 EFEITOS SOBRE OS METABÓLITOS DE CORTISOL	61

<b>5.3 EFEITOS SOBRE OS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS</b>	<b>63</b>
<b>5.4 CUSTO E BENEFÍCIOS DOS TRATAMENTOS</b>	<b>65</b>
<b>6 CONCLUSÕES</b>	<b>67</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>68</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>78</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Representação do complexo hipotalâmico-hipofisário-gonadal e os hormônios envolvidos na regulação da atividade reprodutiva dos animais.....	6
FIGURA 2 - Regulação da secreção de cortisol pelo eixo hipotalâmico-hipofisário. Os sinais (+) indicam estimulação; os sinais (-) indicam inibição.....	17
FIGURA 3 - Principais interações entre nutrição e reprodução nos suínos. ....	28
FIGURA 4 - Instalações dos animais e equipamentos de controle de temperatura.....	41
FIGURA 5 - Coleta de sêmen pelo método da mão enluvada, em copo aquecido, contendo filtro para separação da fração gelatinosa do sêmen. ....	43
FIGURA 6 – Metabólitos de corticosterona (ng/g de fezes) dosados nas fezes dos suínos utilizados como desafio biológico.....	46
FIGURA 7 - Pesagem das amostras fecais. ....	47
FIGURA 8 - Amostras fecais adicionadas ao etanol.....	48
FIGURA 9 - Amostras diluídas em solução-tampão gelatina.....	49
FIGURA 10 - Solução acrescida de hormônio marcado. ....	49
FIGURA 11 - Perfil da temperatura ambiental máxima e mínima no interior do galpão de criação de machos suínos, segundo os meses, durante 6 meses, no município de Palotina, PR.....	51
FIGURA 12 - Perfis de corticóides fecais e espermatozóides normais de suínos, durante 6 meses, no município de Palotina, PR.....	61
FIGURA 13 - Concentrações de corticóides fecais de suínos, em um período de 6 meses, no município de Palotina, PR.....	63

FIGURA 14 - Perfis de corticóides fecais e temperatura ambiente máxima observada no interior da instalação de alojamento de machos suínos, durante 6 meses, no município de Palotina, PR. ....	63
FIGURA 15 - Perfil da frequência respiratória de machos suínos, de acordo com os meses do ano, em um período de 6 meses, no município de Palotina, PR. ....	64
FIGURA 16 - Perfil da temperatura retal de machos suínos, de acordo com os meses do ano, em um período de 6 meses ( $p>0,05$ ), no município de Palotina, PR. ....	64

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Requerimentos nutricionais para machos suínos sexualmente ativos (90% de matéria seca).....	36
TABELA 2 - Identificação dos animais pertencentes à central de inseminação artificial no município de Palotina, PR, no período experimental, e seus respectivos grupos.....	40
TABELA 3 - Composição das rações utilizadas para os três grupos.....	42
TABELA 4 - Técnica de preparação da solução formol-salina-tamponada .....	44
TABELA 5 - Média de espermatozóides normais e principais defeitos observados nos espermatozóides de suínos, em um período que antecedeu a exposição a temperaturas superiores a 34,5°C e após um intervalo de 15 a 20 dias. ....	53
TABELA 6 - Volume de sêmen (média $\pm$ erro padrão) dos grupos Inorgânico, Orgânico e Controle, nos meses do ano, no município de Palotina, PR.....	54
TABELA 7 - Motilidade espermática (média $\pm$ erro padrão) dos grupos Inorgânico, Orgânico e Controle, nos meses do ano, no município de Palotina, PR.....	55
TABELA 8 - Concentração espermática no sêmen (média $\pm$ erro padrão) dos grupos Inorgânico, Orgânico e Controle, nos meses do ano, no município de Palotina, PR.....	56
TABELA 9 - Porcentagem de espermatozóides normais de acordo com os meses do ano, em um período de 6 meses, no município de Palotina PR.....	57
TABELA 10 - Média dos defeitos morfológicos encontrados no sêmen de cachaços, no período de 6 meses, no município de Palotina - PR.....	58

TABELA 11 - Coeficientes de correlação de Pearson para as características do sêmen suíno, concentrações de corticóides fecais e temperatura ambiental máxima.....	60
TABELA 12 - Custo das diferentes rações utilizadas para a alimentação dos machos suínos, em valor monetário. ....	65

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

GnRH	Hormônio liberador de gonadotropinas
LH	Hormônio Luteinizante
FSH	Hormônio Folículo-Estimulante
ACTH	Hormônio Adrenocorticotrópico
CRH	Hormônio Liberador de Corticotropina
HPA	Eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal
GPP	Gota plasmática proximal
GPD	Gota plasmática distal
LDH	Laboratório de Dosagens Hormonais
USP	Universidade de São Paulo
ANOVA	Análise de Variância
ng	Nanogramas
°C	graus Celsius
%	porcentagem
h	hora
mL	mililitro
ton	tonelada
RIA	Radioimunoensaio
≅	Aproximadamente

## RESUMO

SPESSATTO, D. D. **Efeito de suplementos minerais orgânicos e inorgânicos na qualidade do sêmen e na atividade adrenocortical em suínos submetidos a estresse térmico.** Curitiba, 2007. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná.

Estações de elevadas temperaturas ou nutrição inadequada são fatores que promovem decréscimo na eficiência reprodutiva de machos suínos, verificada por redução no número total de espermatozoides por ejaculado e na porcentagem de espermatozoides normais. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação mineral utilizando fontes orgânicas e inorgânicas sobre a qualidade do sêmen e a atividade adrenocortical em suínos machos expostos a uma condição de elevada temperatura ambiental. O experimento foi realizado no município de Palotina, PR, em uma Central de Inseminação Artificial instalada dentro de uma Unidade Produtora de Leitões. Foram formados 3 grupos de 4, 4 e 5 animais, que receberam dieta inorgânica (GIn), dieta orgânica (GOr) e dieta lactação (GCo), respectivamente, entre dezembro de 2005 e maio de 2006. As temperaturas máximas (média) foram superiores à temperatura de conforto térmico para machos suínos durante todo o período experimental e interferiram negativamente na qualidade do sêmen dos animais. O grupo GIn apresentou volume de sêmen superior ao GCo ( $p=0,02$ ), porém sem diferença em relação ao grupo GOr. O grupo GOr apresentou motilidade ( $p=0,02$ ) e concentração ( $p=0,006$ ) superiores ao GIn e média de espermatozoides normais superior aos dois tratamentos ( $p=0,00021$ ). A suplementação com minerais orgânicos é benéfica à qualidade do sêmen e reduz os efeitos negativos das altas temperaturas às quais os suínos são submetidos.

**Palavras-chave:** estresse, calor, sêmen, suíno, minerais orgânicos, cortisol, reprodução.

## **ABSTRACT**

SPESSATTO, D. D. **Effect of organic and inorganic mineral supplement on seminal quality and adrenocortical activity of boars submitted to thermal stress**. Curitiba, 2007, p. 105 Dissertation (Master's degree in Veterinary Sciences) – Federal University of Parana.

High temperature seasons or inadequate nutrition are factors that promote decrease in boars reproductive efficiency, verified by decrease in the total number of spermatozoa in the ejaculate and reduced percentage of normal spermatozoa. The objective of this study was to evaluate the effect of mineral supplementation using organic and inorganic source in seminal quality and adrenocortical activity of boars exposed to high temperatures. The experiment was conducted in Palotina PR city, in an artificial insemination center situated into a piglets production unit. Three groups were organized with 4, 4 and 5 animals, which received inorganic diet (GIn), organic diet (GOr) and lactation diet (GCo), respectively, between December/2005 and May/2006. Maximum temperatures (mean) were higher than the thermal comfort temperature for boars during all experimental period and they had negative intervened in animal's semen quality. Group GIn showed higher semen volume than GCo ( $p=0,02$ ), however without difference in relation to group GOr. The GOr group showed higher sperm motility ( $p=0,02$ ) and concentration ( $p=0,006$ ) than GIn and normal spermatozoa average higher than both treatments ( $p=0,00021$ ). Supplementation with organic minerals is benefic to seminal quality and reduces negative effects of high temperatures to which boars are submitted.

**Keywords:** stress, heat, semen, swine, organic minerals, cortisol, reproduction.

## 1 INTRODUÇÃO

A atividade suinícola ocupa posição de destaque na pecuária do Brasil, em especial no estado do Paraná, o qual contribui com 15,6% do rebanho nacional (ABIPECS, 2005). A região oeste detém o maior pólo abatedor inspecionado, mais especificamente as cidades de Toledo (41%) e Cascavel (13%), sendo responsáveis por mais da metade do abate de suínos no estado, o que demonstra a importância da atividade para a região (SEAB, 2004).

No Brasil, um país tipicamente tropical, considerando as regiões sul, sudeste e centro-oeste, os períodos de calor intenso são marcados por temperaturas expressivas que ocorrem principalmente durante o final da primavera, no verão e no início do outono, nos meses de outubro a março (INMET, 2004). Os suínos, em especial, são suscetíveis a estas temperaturas devido a sua limitada capacidade de eliminação de calor corporal (EINARSSON et al., 1996), visto que apresentam uma espessa camada de tecido adiposo subcutâneo, limitada capacidade de perda de calor por sudorese e pelo reduzido número de glândulas sudoríparas presentes na pele (DYCE et al., 1997). Como consequência disto, estes animais têm menor tolerância ao calor do que muitos outros animais domésticos (SWENSON e REECE, 1996) e são suscetíveis à hipertermia quando expostos ao estresse pelo calor (EDWARDS et al., 1968; BRANDT et al., 1995).

O fato de que as elevadas temperaturas ambientais interferem negativamente na eficiência produtiva e reprodutiva dos animais de produção é bem documentado (FUQUAY, 1981). Durante ou imediatamente após estações de elevadas temperaturas, um decréscimo na eficiência reprodutiva de machos

pode ser observada e constatada pelo aumento da frequência respiratória, aumento da temperatura retal (WETTEMANN e BAZER, 1985) e redução na ingestão de alimento, o que gera estresse pelo calor e resulta na inibição da espermatogênese (KUNAVONGKRIT et al., 2005).

A temperatura corporal normal dos suínos oscila entre 37,8 e 38,5°C e a frequência respiratória normal entre 15 a 25 movimentos por minuto (RADOSTITS et al., 2002). Em situação de estresse térmico ocorre o aumento da frequência para acentuar a perda de calor por evaporação, visando compensar a perda mínima que ocorre por sudorese. Quando excede 40 movimentos por minuto, pode indicar estresse térmico (ROZEBOOM et al., 2000).

Claus et al. (1985) relataram que a luminosidade e o fotoperíodo podem influenciar a qualidade espermática e a libido em machos, porém esta influência não é expressiva em países tropicais, nos quais há poucas mudanças na duração do fotoperíodo durante as diferentes estações.

Além das condições ambientais, outro fator que tem importância na qualidade do sêmen e eficiência reprodutiva dos machos é a nutrição. Com os avanços obtidos no melhoramento genético dos suínos, um plano nutricional mais elevado é necessário para atender as necessidades. Animais com plano nutricional mais elevado reagem mais drasticamente ao calor do que animais com plano nutricional mais baixo (FUQUAY, 1981).

A nutrição dos machos reprodutores pode influenciar a quantidade de sêmen (número de espermatozóides e volume do ejaculado), especialmente em animais jovens e sob condições desfavoráveis de ambiente (HUGONIN, 2001). Uma dieta contendo 14% de proteína ou nível de lisina de 0,7% e 70%

de energia é recomendada para machos reprodutores e, quando reduzida a ingestão diária, a produção de sêmen será reduzida (FLOWERS, 1997). No que diz respeito à dieta, deve-se considerar a importância dos minerais, principalmente aqueles necessários para a produção espermática e desenvolvimento testicular, em especial a importância dos microminerais orgânicos cobre, cromo, manganês, iodo, selênio, zinco e ferro, cuja suplementação leva ao aumento do volume do ejaculado e redução dos efeitos estressantes aos quais os animais são submetidos (MAHAN et al., 2002).

## 2 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a relação existente entre suplementação mineral utilizando fontes orgânicas e inorgânicas e qualidade do sêmen em cachacos mantidos em condição de temperatura ambiente elevada.

Os objetivos específicos foram:

- Avaliar a qualidade do sêmen de machos suínos suplementados e não suplementados com dieta contendo minerais orgânicos em condição de estresse térmico natural (não induzido).
- Avaliar as concentrações de corticóides nas fezes de machos suínos suplementados e não suplementados com dieta contendo minerais orgânicos em condições de estresse térmico natural.

### 2.1 HIPÓTESES:

1) O estresse térmico ao qual os suínos são submetidos nos períodos de elevada temperatura ambiental é responsável por alteração na qualidade espermática e nas concentrações de corticóides excretados nas fezes.

2) A suplementação com minerais orgânicos é capaz de reduzir os efeitos negativos resultantes da exposição a elevadas temperaturas.

### **3 REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 ANATOMO-FISIOLOGIA REPRODUTIVA DO MACHO SUÍNO**

Os machos reprodutores utilizados em uma granja de suínos têm como função primordial produzir e ejetar um adequado número de espermatozoides viáveis, a fim de fertilizar os oócitos produzidos pelas fêmeas. Para isto, o correto funcionamento do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal é fundamental e necessário para a obtenção de adequados níveis de produtividade (FLOWERS, 1997).

O trato reprodutivo do macho é composto por testículos, epidídimos, ductos deferentes e glândulas acessórias. Estas estruturas se comunicam com a glândula hipófise e região hipotalâmica do cérebro via sistema endócrino e nervoso para coordenar a atividade reprodutiva conforme ilustrado na Fig. 1 (ASHDOWN e HAFEZ, 1995).

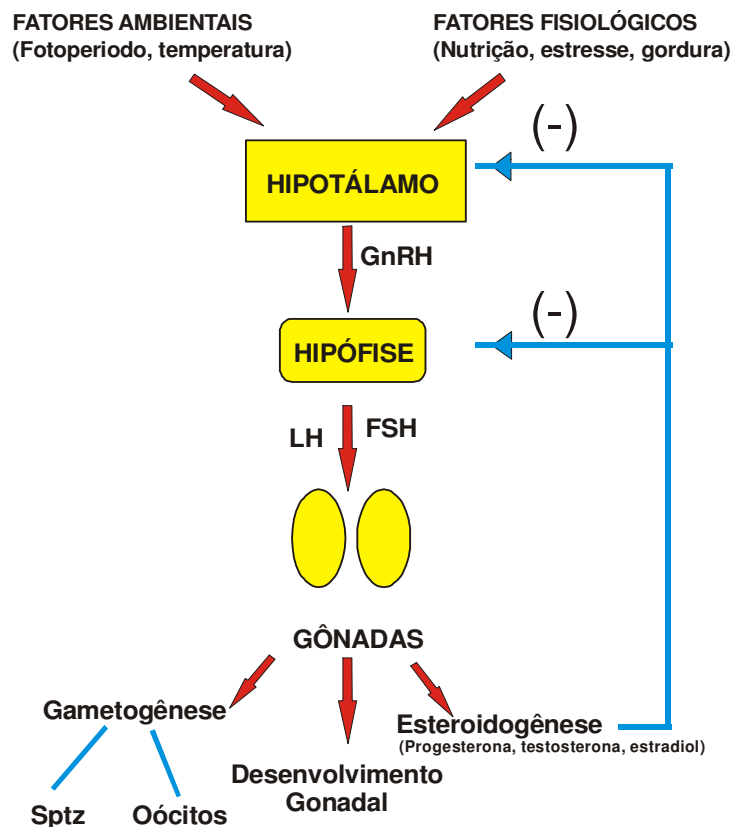


FIGURA 1 - Representação do complexo hipotalâmico-hipofisário-gonadal e os hormônios envolvidos na regulação da atividade reprodutiva dos animais.

Fonte: ASHDOWN e HAFEZ, 1995.

Os testículos têm como função primária a produção de espermatozoides e hormônios. São compostos pelos túbulos seminíferos e pelas células intersticiais (células de Leydig), situadas entre os túbulos seminíferos. A função destes túbulos é promover a divisão e diferenciação das células espermatogênicas para formar os espermatozoides e a função das células de Leydig é secretar os hormônios masculinos para o interior das veias testiculares e vasos linfáticos sob estímulo do hormônio luteinizante (LH) (ASHDOWN e HAFEZ, 1995).

As células de Sertoli, também denominadas células sustentculares, encontradas revestindo a luz dos túbulos seminíferos são responsáveis pela

produção de: a) estrogênio, encontrado em grandes quantidades no sêmen, a partir da conversão de testosterona para estrogênio, via enzima aromatase, b) inibina: difundida para o cérebro, sendo um importante componente da regulação das gonadotropinas no macho; c) Proteína ligadora de andrógeno (*Androgen-binding protein* - ABP), que facilita a entrada de testosterona do tecido intersticial para os túbulos, sob influência do hormônio folículo estimulante (FSH). Desta forma, estas células estão envolvidas na maturação de espermatozóides e produção de hormônios (BRINSKO, 2004).

Uma rede de túbulos, denominada “rete testis”, deixa os túbulos seminíferos e conecta-se com ductos coletores localizados no centro de cada testículo. Durante a espermatogênese os espermatozóides deixam os túbulos seminíferos e entram na “rete testis”, quando da sua passagem para dentro do epidídimo (ASHDOWN e HAFEZ, 1995). A “rete testis” segue no interior dos ductos eferentes, os quais finalmente formam um ducto espiralado simples chamado de epidídimo, que possui como principal função a realização da maturação espermática, que capacita os espermatozóides à fecundação. Os espermatozóides chegam ao epidídimo sem capacidade fecundante, contudo, adquirem tal habilidade durante o trânsito pela cauda do epidídimo, sendo que espermatozóides férteis podem estar armazenados na cauda do mesmo. No curso da maturação pelo epidídimo os espermatozóides vão adquirindo uma Gram positividade que se relaciona com a fertilidade. Assim, espermatozóides Gram negativos, tomados na cabeça do epidídimo se transformam em elementos Gram positivos à saída do conduto epididimário (MIES FILHO, 1975).

As secreções epididimárias possuem fatores de maturação que conduzem a alterações como: potencial para motilidade progressiva, alteração de mecanismos metabólicos, perda da gota plasmática durante a migração da mesma pela cauda e alterações na membrana plasmática, acrossoma e conteúdo nuclear. O epidídimo ainda possui a função dispersora dos espermatozoides devido à presença de uma anti-aglutinina, cuja deficiência acarreta a aglutinação dos espermatozoides (MIES FILHO, 1975).

A cauda do epidídimo e o ducto deferente, no qual a cauda se esvazia, servem como depósito para espermatozoides maduros. Estes dois órgãos juntos são conhecidos como reservas de esperma extra-gonadais. O tempo de trânsito dos espermatozoides pela cabeça e corpo do epidídimo não é alterado pela ejaculação, e é similar entre as espécies domésticas, durando entre 2 a 5 dias. O tempo de armazenamento na cauda do epidídimo é mais variável entre as espécies e pode ser reduzido por vários dias em machos sexualmente ativos (BRINSKO, 2004).

Quando as funções do epidídimo deixam de ser normais ocorre um aumento de anormalidades dos espermatozoides, mesmo os completamente formados, aparecendo, neste caso, alterações secundárias, como enrolamento e dobramento das caudas, com perda da motilidade (MIES FILHO, 1975).

Os ductos deferentes são tubos por onde os espermatozoides são transportados da cauda do epidídimo até a uretra pélvica. Adjacente à uretra pélvica estão as glândulas sexuais acessórias: glândulas vesiculares, próstata e glândulas bulbouretrais. As glândulas vesiculares são responsáveis pela maior parte do fluido do sêmen suíno, contendo substratos energéticos. A próstata tem como função neutralizar a acidez das secreções vaginais e dar as

características de odor ao sêmen, e as glândulas bulbouretrais secretar a fração gelatinosa do sêmen, que é característica do ejaculado suíno. A porção terminal do sistema urogenital é a uretra peniana, que é o conduto central do pênis, responsável pela exteriorização do ejaculado (HAFEZ, 1995).

Ao longo dos testículos ocorre a transformação das espermatogônias em espermatozóides, em um ciclo que dura cerca de 35 dias, denominado de espermatogênese (HAFEZ, 1995).

Os testículos possuem um mecanismo termorregulador, pelo qual se defendem do calor. Isto é feito por meio de dois mecanismos: um, muscular, distanciando as gônadas do organismo o máximo possível, como consequência do relaxamento do cremáster externo e das fibras musculares do dartos; outro, circulatório, provocando a queda de mais de 4°C na temperatura do sangue que penetra no órgão pela artéria espermática, devido à circulação de contra corrente realizada pelo plexo pampiniforme. A sensibilidade ao calor é diferente para os diferentes tipos de células que constituem a linhagem seminal, o que permite que após um período de elevada temperatura, se tenha uma alteração na qualidade do sêmen, porém com o restabelecimento da espermatogênese logo que tenha cessado a causa, devido à presença de células resistentes ao calor (MIES FILHO, 1975).

### 3.2 COLETA E ANÁLISE DE SÊMEN DE SUÍNOS

Nos programas de inseminação artificial, o macho, por sua importância na fertilidade e produtividade do plantel, tem grande impacto nos resultados econômicos da granja. Desta forma, é necessário conhecer a eficiência reprodutiva destes animais e monitorá-la por meio de análises que permitem

estimar o potencial reprodutivo dos mesmos. Existem numerosas técnicas utilizadas com esta finalidade, que permitem avaliar a morfologia e a fisiologia do espermatozóide, e que, no conjunto, constituem o espermograma (CBRA, 1998).

A análise do sêmen obtido dos animais é fundamental para o diagnóstico da fertilidade masculina e seleção de machos com bom desempenho reprodutivo para a cobertura ou inseminação artificial de fêmeas. A análise clássica do sêmen é baseada na aplicação de uma bateria de testes de simples realização e baixo custo, e inclui a determinação do volume do ejaculado, número total de espermatozóides, quantidade de células móveis (motilidade progressiva), proporção de células morfológicamente normais por ejaculado e morfologia do acrossoma (GADEA, 2005).

A avaliação da qualidade do sêmen compreende as características físico-químicas, macro e microscópicas. No suíno, a análise do sêmen *in natura* inclui a determinação imediata de suas características macroscópicas, volume do ejaculado, concentração, motilidade, qualidade do movimento e aglutinação; e a avaliação da morfologia espermática, com a detecção de formas anormais ou outras formas celulares e avaliação do acrossoma (MARTINEZ e CORCUERA, 2005). Este contém uma enzima denominada hialuronidase, responsável pela facilitação da fecundação, por meio da promoção da liquefação do cemento intercelular, que une as células da *corona radiata* nos oócitos recém liberados (MIES FILHO, 1975).

O método de eleição para coleta de sêmen suíno é o método da mão enluvada, utilizando-se manequim de altura adequada ao reprodutor (CBRA, 1998). O ejaculado suíno é dividido em quatro frações diferenciadas. A primeira

é a fração, proveniente das glândulas bulbo-uretrais, apresenta uma coloração translúcida, volume de 10 a 15 mL, cuja função é limpar a uretra para a passagem das demais fases. A segunda fração é leitosa, rica em espermatozóides, constituída de plasma seminal e aproximadamente 70% do total dos espermatozóides liberados. A terceira é a fração pobre, de aspecto soroso, que contém em sua maioria a secreção das vesículas seminais e o restante dos espermatozóides do ejaculado. A quarta é a fração gelatinosa, sendo composta por secreção das glândulas bulbo-uretrais e liberada lentamente, ao longo dos 2/3 finais da ejaculação (WENTZ e BORTOLOZZO, 1998). A primeira fração deve ser descartada, visando diminuir a contaminação do ejaculado, e a última deve ser separada das demais por meio de um papel filtro adaptado ao copo coletor.

A freqüência com que os machos são coletados para fins de inseminação artificial deve levar em conta a produção dos animais, a produção individual e a demanda de sêmen do doador, visto que a produção espermática varia de acordo com o macho, época do ano, idade, ambiente, nível nutricional e tamanho do testículo (CORRÊA et al., 1999). Complementarmente, situações de alta ou baixa freqüência de ejaculações alteram a qualidade do sêmen (FERREIRA et al., 1996; SILVEIRA e SCHEID, 2003).

Machos adultos (a partir de 12 meses) podem ser submetidos a duas coletas semanais ou duas a três coletas a cada 15 dias, sem que haja comprometimento de sua capacidade de produção espermática, enquanto machos jovens (oito a doze meses de idade) podem ser coletados uma vez por semana sem que haja comprometimento do número de espermatozóides ejaculados (SILVEIRA e SCHEID, 2003).

Os valores quantitativos e qualitativos espermáticos são importantes no estabelecimento do número e da qualidade das doses inseminantes que podem ser preparadas com base em um ejaculado (BONET, 1990). Para isto, o registro do volume ejaculado é útil para fornecer informações quanto à produção do sêmen e para a realização de diluições, que determinarão o número de doses possíveis de serem produzidas (HAFEZ, 1995).

O volume de sêmen tem importantes implicações na função reprodutiva do suíno, visto que nesta espécie grandes volumes são necessários para a estimulação mecânica das contrações uterinas (FERREIRA, et al. 2002). O volume normal do ejaculado suíno é dependente da idade do animal, do tamanho dos testículos, da frequência de coletas e da habilidade do coletor (GARNER e HAFEZ, 1995). A média é de 240 a 250 mL de volume total, com aproximadamente 20% deste volume consistindo de fluído gelatinoso, 20 a 30% constituído de espermatozóides e o restante de fluído uretral e fração pobre do sêmen (AX et al., 2004). Concomitantemente à avaliação do volume, faz-se a verificação da aparência do sêmen, observando-se cor e aspecto. Alterações de coloração podem estar associadas a patologias dos órgãos acessórios ou testículos. A aparência do sêmen suíno deve ser opaca e uniforme, o que é indicativo de alta concentração espermática. Amostras translúcidas indicam poucos espermatozóides (HAFEZ, 1995).

A avaliação da morfologia espermática fornece um bom indicativo da capacidade reprodutiva do macho suíno, porém, a avaliação de um único ejaculado não fornece uma indicação da capacidade de produção e da qualidade do sêmen de um macho. Dependendo da característica espermática que se deseja avaliar, faz-se necessária a avaliação de 4 a 9 ejaculados para

se estabelecer uma correlação de 80% com a capacidade real de produção de sêmen do macho (KENNEDY e WILKINS, 1984).

Os espermatozoides são células altamente especializadas, destinadas a cumprir um único objetivo: fertilização de um oócito. Para conseguir a fertilização, entretanto, primeiro necessitam ter acesso ao oócito, o que só é possível caso apresentem um flagelo funcional. O flagelo é equipado com proteínas contráteis estrategicamente distribuídas em organelas longitudinais, que geram a força propulsora necessária para vencer a resistência estrutural interna e a drenagem viscosa de fluidos extracelulares. A avaliação da motilidade permite estimar a qualidade do movimento do flagelo e a vitalidade celular, e é estimada visualmente em vários campos usando microscópio (em aumento de 400 X) com uma platina pré-aquecida de 37° a 40°C. Apesar da natureza subjetiva dessa avaliação, a motilidade espermática (0–100%) tem correlação positiva com a fertilidade (HAFEZ, 1995; TURNER, 2005). Para reprodutores suínos, a motilidade deve ser superior a 70%, para que possam ser utilizados como doadores de sêmen (CBRA, 1998).

A motilidade é conferida pela peça intermediária e os espermatozoides mesmo sem cabeça podem se deslocar ativamente em meio líquido. O movimento dos espermatozoides pode estar modificado, seja em intensidade ou no sentido direcional como resultado de suas partes constituintes (MIES FILHO, 1975).

A concentração e o número total de espermatozoides no ejaculado podem refletir a capacidade de produção espermática pelos testículos e a capacidade de armazenamento do sistema de ductos (AX et al., 2004). A concentração é estimada no suíno procedendo-se a contagem em câmara de

Neubauer, após a diluição do sêmen em solução formol-salina-tamponada (HANCOCK, 1957), na proporção de 0,1 mL de sêmen para 10 mL de solução, adotando-se a diluição de 1:100 para o ejaculado total (CBRA, 1998). Os valores médios de concentração espermática em suínos, segundo GARNER e HAFEZ (1995), são de 30 a 60 bilhões de espermatozoides/ejaculado.

A análise microscópica do sêmen permite detectar anormalidades espermáticas que têm sido associadas à infertilidade e esterilidade na maioria das espécies animais, visto que no geral, a estrutura espermática desenvolve um papel substancial na fertilização. As causas de defeitos na estrutura espermática podem ser ambientais, genéticas ou uma combinação de ambas, porém a causa ambiental é considerada a mais comum (CHENOWETH, 2005). Esta análise pode ser utilizada como índice da função do epitélio seminífero e epidídimo, uma vez que o formato do espermatozoide é adquirido durante a espermiogênese, ciclo que gira em torno de 35 dias, e após as modificações sofridas durante a fase de maturação no epidídimo, processo que dura de 10 a 14 dias (MILLETTE, 1998).

As anormalidades espermáticas podem ser classificadas de acordo com a sua origem em defeitos espermáticos primários e secundários. Defeitos primários são aqueles que ocorrem durante a espermatogênese e aqueles que se desenvolvem após esta fase são secundários. Embora os defeitos primários sejam causados por algum tipo de insulto direto ao epitélio seminífero, eles não podem ser considerados mais deletérios para a fertilidade do que os defeitos secundários, os quais podem ser induzidos por uma variedade de causas, incluindo iatrogenia (HAFEZ, 1995).

Além desta classificação, as anormalidades espermáticas são classificadas de acordo com seus efeitos adversos sobre a fertilidade do macho, em defeitos maiores e menores. Os que são associados com o declínio na fertilidade dos machos são os defeitos maiores, e os que geralmente são de conseqüências menores à fertilidade são os defeitos menores. São classificados como defeitos maiores: espermatozóides subdesenvolvidos, formas duplas, defeitos no acrossoma, decapitados, diadema, contorno anormal, cabeças pequenas anormais, cabeças livres patológicas, outros defeitos na peça intermediária, gota proximal e pseudo-gota. Os demais defeitos, como cabeças pequenas normais, largura da cabeça gigante ou pequena, cabeças isoladas normais, implantação abaxial, gota distal, cauda simplesmente dobrada, cauda enrolada na porção terminal são classificados como defeitos menores (CHENOWETH, 2005).

As anormalidades espermáticas podem reduzir a fertilidade de duas formas: (1) fracasso para alcançar o local de fertilização; ou (2) inabilidade de fertilizar o oócito uma vez que esteja no local de fertilização ou de sustentar o desenvolvimento posterior do embrião. Defeitos que causam insucesso na motilidade espermática ou reduzem a probabilidade de sucesso na ultrapassagem do trato da fêmea são designados como defeitos compensáveis. Isto porque um aumento teórico no número de espermatozóides funcionalmente competentes iria resolver ou atenuar o problema. Porém aqueles defeitos que conduzem à falha na fertilização ou perda na posterior gestação são designados como incompensáveis, visto que nestes, um aumento no número de espermatozóides teoricamente não irá aumentar a fertilidade (CHENOWETH, 2005).

Usualmente, a presença de alguns espermatozóides anormalmente formados não está associada com níveis de fertilidade diminuída, a não ser que a proporção de espermatozóides anormais exceda 20% (HAFEZ, 1995). Para avaliar as características morfológicas dos espermatozóides deve-se realizar a técnica da preparação úmida padronizada por KRAUSE (1966), na qual 0,1 mL de sêmen é homogeneizado a 0,5 mL de solução formol-salina, analisada posteriormente em microscópio de contraste de fase com aumento de 1000X, sem coloração, visto que esta pode ocasionar lesões no acrossoma dos espermatozóides (CBRA, 1998).

Após a diluição do sêmen em diluentes próprios para conservação espermática, as doses devem ser armazenadas à temperatura entre 15 e 18°C. Esta temperatura não interrompe totalmente o metabolismo dos espermatozóides, de forma que estes continuam produzindo metabólitos, os quais se acumulam e interferem na motilidade espermática. Além disso, essa temperatura também não impede a multiplicação bacteriana, a qual pode afetar a qualidade do sêmen. Quanto mais baixa a temperatura de armazenamento, menor o metabolismo e maior o tempo de armazenamento do sêmen, porém o espermatozóide suíno é sensível a temperaturas inferiores a 15°C, abaixo da qual há significativa redução da motilidade (WEITZE, 1991).

### 3.3 FISIOPATOLOGIA DO ESTRESSE

Nos vertebrados, normalmente os habitats não são estáticos, e desta forma os animais sofreram uma adaptação para diferentes situações através de alterações fisiológicas, morfológicas e comportamentais. Os componentes imprevisíveis da vida causam um estágio de emergência, que resulta em

mudanças no perfil endócrino e metabólico do organismo, que permitem descrever uma reação estressante em termos fisiológicos (MÖSTL e PALME, 2002).

O estresse pode ser definido como uma reação do organismo a uma condição adversa do ambiente, numa tentativa de realizar a termorregulação (FUQUAY, 1981) e manter a homeostase (MACHADO FILHO e HÖTZEL, 2000). Qualquer estímulo ambiental sobre um indivíduo que sobrecarregue seus sistemas de controle e reduza a sua adaptação (ou tenha potencial para isto) resulta em estresse (FRASER e BROOM, 1990).

Uma série de hormônios, entre eles o hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), glicocorticóides, catecolaminas e prolactina estão envolvidos na resposta ao estresse. A glândula adrenal tem um papel chave nas reações hormonais ao estresse, uma vez que está envolvida no eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HPA) (Fig. 2) e no sistema simpato-adreno-medular (MÖSTL e PALME, 2002).

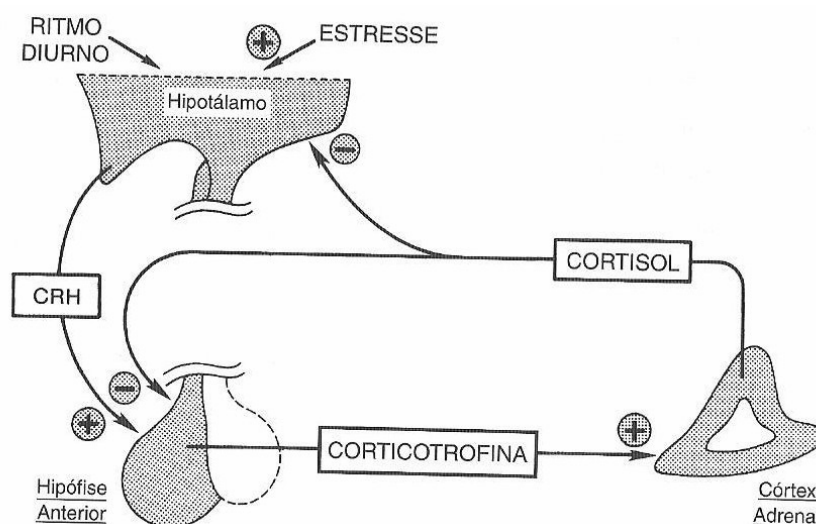


FIGURA 2 - Regulação da secreção de cortisol pelo eixo hipotalâmico-hipofisário. Os sinais (+) indicam estimulação; os sinais (-) indicam inibição.

Fonte: GRECO e STABENFELDT (2004).

A liberação central de hormônio liberador de corticotropina (CRH) resulta em ativação de componentes periféricos do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal, conduzindo ao aumento do ACTH e cortisol, bem como na ativação do sistema nervoso simpático com o aumento na liberação de glicose, frequência cardíaca e pressão sanguínea (FERIN, 1998).

As glândulas adrenais são divididas em duas regiões: cortical e medular. A primeira produz hormônios esteróides como o cortisol, corticosterona, esteróides sexuais e aldosterona. A segunda produz aminas como a noradrenalina e adrenalina. O único fator comum entre estes dois tecidos é que o conjunto de hormônios secretados por eles é importante para a adaptação às condições adversas do meio (estresse) (GRECO e STABENFELDT, 2004).

No córtex da adrenal podem ser identificadas três zonas ou regiões, zona glomerulosa, zona fasciculada e zona reticular, cada uma responsável pela secreção de um hormônio diferente. Os glicocorticóides (sobretudo o cortisol e a corticosterona) representam o principal produto de secreção tanto da zona fasciculada como da zona reticular, e o ACTH é o principal regulador de sua secreção, visto que as células-alvo primárias do ACTH são as células do córtex da adrenal. A secreção deste hormônio estimulante (ACTH) pela adenohipófise é estimulada por um hormônio hipotalâmico, CRH. Aumentos do ACTH são considerados um sinal clássico de estresse, e níveis plasmáticos de ACTH ou cortisol freqüentemente são utilizados em conjuntos experimentais para avaliar o estresse geral infligido a um animal por qualquer estímulo físico ou emocional (BREUNER e ORCHINIK, 2002; FRANDSON et al., 2005).

Situações adversas disparam a resposta da adrenal, que resulta em um aumento na secreção de glicocorticóides e/ou catecolaminas. Estes aumentos representam os primeiros mecanismos de defesa do sistema endócrino para proteger o organismo contra as condições estressantes, visto que os glicocorticóides aumentam a aptidão para a mobilização de energia e possível mudança comportamental (BREUNER e ORCHINIK, 2002; MÖSTL e PALME, 2002).

Os glicocorticóides possuem muitos tecidos-alvo por todo o organismo. Em geral, seus efeitos sobre esses tecidos-alvo constituem uma resposta apropriada para contrabalançar estímulos estressantes, visto que aumentam a taxa de gliconeogênese (formação de glicose a partir de compostos não glicídicos) pelo fígado e aumentam a taxa de mobilização de ácidos graxos do tecido lipídico. Aliado a isto, a síntese protéica é reduzida na musculatura esquelética e a degradação protéica é aumentada, o que significa mais aminoácidos disponíveis para a gliconeogênese pelo fígado (FRANDSON et al., 2005).

Porém, severo estresse crônico que resulta em períodos de altas concentrações de cortisol, diminuem a aptidão individual por causar imunossupressão e atrofia dos tecidos responsáveis pela resposta imune. Adicionalmente, o sucesso reprodutivo do animal diminui e comportamentos estereotipados desenvolvem-se (MÖSTL e PALME, 2002).

O mecanismo que controla a atividade do pulso gerador de hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH) tem ligação com o eixo neuroendócrino adrenal. A primeira evidência deriva da observação de que a administração de CRH resulta em um imediato decréscimo na liberação pulsátil de GnRH e LH, o

que permite concluir que um dos mecanismos pelo qual o estresse é inibidor do pulso de GnRH é pela ativação e liberação central de componentes neuroendócrinos do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (FERIN, 1998).

Os glicocorticóides apresentam um ritmo circadiano nos suínos, ou seja, variam de modo regular diariamente (FRANDSON et al., 2005) o que faz com que, caso se deseje monitorar estes hormônios no sangue, seja necessário realizar coletas freqüentes para se obter o perfil destes constituintes. Como em suínos a coleta freqüente de sangue requer a contenção dos animais e torna-se por si só um ato estressante, faz-se necessário uma outra via para se realizar tal monitoramento. Uma alternativa é a utilização de métodos não invasivos como a dosagem de cortisol e seus metabólitos na urina, saliva, leite ou fezes. A obtenção de amostras de fezes e a dosagem da concentração de metabólitos de cortisol refletem a quantidade total de cortisol excretada, e apresenta como vantagem a facilidade de coleta e a ausência de estresse para os animais. Desta forma, pode ser utilizada para mensurar metabólitos fecais de esteróides com segurança (MÖSTL e PALME, 2002).

### 3.3.1 Estresse pelo calor

Calor e umidade elevada podem resultar em estresse crônico, especialmente se acompanhado por uma ampla flutuação da temperatura, resultando em diminuição na ingestão de alimento e interferência na espermatogênese (KUNAVONGKRIT et al., 2005). Considera-se que os animais estão expostos a estresse térmico quando a temperatura ambiente estiver acima da zona de conforto térmico e energia for gasta para manter a

temperatura corporal (BLACK et al., 1992). Por temperatura de conforto, entende-se aquela na qual se torna dispensável qualquer atividade metabólica por parte do animal para aquecer ou esfriar o corpo, na qual o metabolismo animal é mínimo (OLIVEIRA et al., 2003). Para os machos a temperatura ideal, segundo PERDOMO et al. (1985), situa-se entre 12 e 21°C, sendo a crítica inferior igual a 12°C e a crítica superior igual a 26°C.

Dentro da zona de conforto térmico, a energia da dieta é utilizada para crescimento, manutenção e atividade física. Abaixo desta temperatura, energia adicional é necessária para manter a homeotermia. Acima desta condição, todo calor produzido deve ser eliminado (COLLIN et al., 2001).

Quando um animal homeotermo é exposto a um estresse pelo calor, a resposta inicial é a vasodilatação, que aumenta o fluxo sanguíneo na pele e nos membros. A resultante elevação da temperatura na pele e a projeção da temperatura central em direção aos membros aumenta o gradiente térmico entre a pele e o ambiente, resultando em uma maior perda de calor por irradiação e convecção. Se a vasodilatação apenas for insuficiente para manter a temperatura normal, aumenta-se o resfriamento por evaporação, pela sudorese, pelo ofego, ou ambos. Este resfriamento evaporativo é o único processo de perda de calor disponível quando a temperatura ambiente excede a temperatura da pele (ROBINSON, 2004).

Nos suínos a tentativa de adaptação às elevadas temperaturas é feita pelo aumento da perda de calor por evaporação e redução da produção de calor para manter a temperatura corporal dentro de limites estreitos (COLLIN et al., 2001). Porém, dentre todos os animais, os suínos, em especial, são suscetíveis a elevadas temperaturas devido a sua limitada capacidade de

eliminação de calor corporal por evaporação (EINARSSON et al., 1996), visto que apresentam uma espessa camada de tecido adiposo subcutâneo, limitada capacidade de perda de calor por sudorese (KUNAVONGKRIT et al., 2005) e pelo reduzido número de glândulas sudoríparas presentes na pele (DYCE et al., 1997).

Como consequência disto, estes animais têm menor tolerância ao calor do que muitos outros animais domésticos (SWENSON e REECE, 1996), são suscetíveis à hipertermia quando expostos ao estresse pelo calor (EDWARDS et al., 1968; BRANDT et al., 1995) e a principal forma de aclimação aos ambientes quentes ocorre pela redução da produção de calor, feita por meio da redução do consumo de alimento (RINALDO et al., 2000; QUINIOU et al., 2001).

A temperatura corporal normal dos suínos oscila entre 37,8 a 38,5°C e a frequência respiratória normal entre 15 a 25 movimentos por minuto (RADOSTITS et al., 2002). Em situação de estresse térmico ocorre aumento da frequência respiratória para acentuar a perda de calor por evaporação, visando compensar a perda mínima que ocorre por sudorese. Quando excede 40 movimentos por minuto, pode indicar estresse térmico (ROZEBOOM et al., 2000).

Os animais também usam métodos comportamentais para resistir ao estresse pelo calor. Estes processos que incluem procurar locais sombreados, permanecer na água e chafurdar na lama, não estão disponíveis para os suínos criados de forma intensiva, o que agrava os problemas de estresse pelo calor observados nas criações confinadas (ROBINSON, 2004).

Embora os suínos procurem se adaptar às condições ambientais quando expostos a elevadas temperaturas pelo aumento rápido do cortisol, as concentrações deste hormônio retornam praticamente ao normal nas primeiras 72 h após a exposição. Porém, se a temperatura for alta durante o dia e baixa durante a noite, a adaptação torna-se difícil. Diferenças entre as temperaturas diurnas e noturnas maiores do que 10°C (25-35°C) e uma umidade maior do que 90% irão desencadear estresse maior nos animais que não conseguem se adaptar a tais mudanças. Desta forma, flutuações na temperatura durante o dia e à noite podem significar um fator desencadeante de estresse para os machos durante as estações quentes do ano (SEREN et al., 1988).

### 3.3.2 Estresse térmico e eficiência reprodutiva

A temperatura é um dos importantes fatores ambientais que interfere com a reprodução. Temperaturas corporais elevadas, durante períodos de alta temperatura ambiente ou pirexia por doenças, levam à degeneração testicular e reduzem a porcentagem de espermatozoides normais e férteis na ejaculação (JAINUDEEN e HAFEZ, 1995). É o fator de maior importância na espermatogênese dos machos de qualquer espécie, e quando muito elevada (da ordem de 34,5°C) é prejudicial tanto às etapas de formação dos espermatozoides como àqueles elementos já formados e em trânsito pelo epidídimo (MIES FILHO, 1975).

Elevada temperatura testicular resultante de incompleta deiscência dos testículos (criptorquidismo), alta temperatura ambiental ou inflamação, são prejudiciais para a espermatogênese em todos os mamíferos (FOOTE, 1978). Hansen (1999), Huang et al., (2000) e Rozeboom et al. (2000) observaram

diferenças significativas na qualidade do sêmen em relação às estações do ano, verificando que nas estações quentes a qualidade do sêmen declinou significativamente. CORCUERA et al. (2002), ao analisarem doses de sêmen oriundas de machos adultos (2-3 anos) alojados em ambientes sem e com controle de temperatura, verificaram um efeito significativo da temperatura ambiental na qualidade seminal nos machos, sendo que a motilidade e a porcentagem de acrossomas normais foram maiores em ambiente controlado.

Estudo feito por MCNITT et al. (1972) demonstrou que a temperatura retal tem correlação direta com a temperatura testicular, de forma que uma simples medida da temperatura retal permite prever a temperatura do tecido testicular com exatidão. Desta forma esta medida pode ser utilizada como parâmetro para estimar a temperatura testicular, que tem influência direta na espermatogênese.

No geral, o volume, a concentração e a porcentagem de espermatozoides móveis variam durante os meses do ano, observando-se no verão maior variação, sendo que a porcentagem de espermatozoides com anormalidades na cabeça e com gota plasmática proximal aumenta (MALMGREN, 1988), e o volume de sêmen e o número total de espermatozoides por ejaculação diminuem (JAINUDEEN e HAFEZ, 1995). Os efeitos do estresse térmico sobre a eficiência reprodutiva dos machos decorrem da redução na quantidade e qualidade do sêmen, verificada por ejaculados com menor motilidade, aumento na porcentagem de espermatozoides com defeitos morfológicos (LARSSON e EINARSSON, 1984) e produção reduzida de espermatozoides (MCNITT et al., 1972; WETTMANN e

BAZER, 1985; TRUDEAU e SANFORD, 1986), além de menor volume total do ejaculado (KUNAVONGKRIT e PRATEEP, 1995).

Alterações durante o ano podem ser observadas no tipo de motilidade exibida pelos espermatozóides devido a mudanças metabólicas e/ou mudanças na atividade flagelar e no pH do sêmen fresco, atribuídas a alterações na produção de ácido láctico nos espermatozóides e na função das glândulas vesiculares, verificada pela quantidade total de proteína e ácido cítrico no plasma seminal (TRUDEAU e SANFORD, 1986). Isto ocorre porque o aumento da temperatura altera a atividade endócrina testicular, resultando em um efeito inibitório na maturação das espermátides e na biossíntese de andrógenos testiculares (androstenediona, testosterona e dihidrotestosterona) (WETTMANN & DESJARDINS, 1979). A fertilidade de machos submetidos ao estresse térmico é reduzida, o que foi comprovado por WETTMANN et al. (1976 e 1979), ao observarem que fêmeas cobertas ou inseminadas com sêmen de machos submetidos a estresse pelo calor apresentaram taxa de concepção, consideravelmente inferior a de fêmeas cobertas ou inseminadas com sêmen de reprodutores em temperatura de conforto.

Além da temperatura, CLAUS et al. (1985) relataram que a luminosidade e o fotoperíodo podem influenciar a qualidade espermática e a libido em machos. Em países tropicais, observam-se poucas mudanças no fotoperíodo entre as diferentes estações, de forma que este fator não apresenta influência expressiva sobre a qualidade espermática. RIVERA et al. (2005) verificaram que a mudança progressiva no ciclo luminoso induzida pelo fotoperíodo natural Mediterrâneo não afetou a qualidade do sêmen suíno ao longo do ano. Embora a duração do dia seja um pouco menor durante o

inverno, a diferença não é significativa a ponto de influenciar na reprodução (KUNAVONGKRIT et al., 2005), o que implica que todas as mudanças observadas na qualidade do sêmen nas diferentes estações do ano são devido a outros fatores e não ao fotoperíodo (RIVERA et al., 2005).

A exposição de cachacos por períodos de 4 a 5 dias a temperaturas ambientais acima de 35°C e a variações diurnas que prevalecem nas regiões tropicais e subtropicais afeta a qualidade do sêmen, sendo os efeitos adversos evidentes 3 a 5 semanas mais tarde, particularmente na morfologia espermática (CAMERON e BLACKSHAW, 1980).

Kunavongkrit et al. (2005) avaliaram o sêmen de machos suínos coletados em diferentes estações do ano na Tailândia e verificaram que o volume e a concentração do sêmen foram menores durante os meses de verão, atribuindo ao estresse devido às altas temperaturas a principal causa do problema, visto que pode induzir ao excesso de produção de corticosteróides.

Segundo HOAGLAND e WETTEMANN (1984), a redução na eficiência reprodutiva associada ao estresse térmico deve ser decorrente de um efeito direto do aumento da temperatura nos gametas, embriões ou na função uterina, ou um efeito indireto por alterações no sistema endócrino. Desta forma, o transporte de gametas e embriões no trato reprodutivo, as secreções uterinas ou o desenvolvimento dos conceptos podem ser influenciados. A alteração no mecanismo endócrino é explicada por PRUNIER et al. (1996 e 1997), pela drástica redução do apetite que ocorre em ambientes de elevada temperatura, que representa uma eficiente estratégia usada pelo organismo para reduzir a produção de calor.

O estresse devido a alta temperatura ambiental deve ser a principal causa dos problemas reprodutivos que podem ser verificados, uma vez que o estresse induz a excessiva produção de corticóides (SEREN et al., 1988). Hennessy e Williamson (1983) verificaram que a análise de corticóides é importante, pois existem evidências da relação entre as concentrações de corticóides no plasma e os eventos estressantes pelos quais os animais passam, e também com os distúrbios no ciclo reprodutivo.

### 3.4 NUTRIÇÃO E SUA INFLUÊNCIA NA REPRODUÇÃO DE MACHOS SUÍNOS

Segundo KEMP e VERSTEGEN (1991), o desempenho reprodutivo do macho suíno pode ser avaliado a partir de três características: libido, quantidade de espermatozóides produzidos por unidade de tempo e a capacidade fecundante desses. A herdabilidade dessas características é, geralmente, muito baixa, variando entre 0,1 e 0,3 (STENN e MOLENAAR, 1983). Os fatores ambientais parecem ser os principais responsáveis pelo desempenho reprodutivo do macho suíno e, dentre esses fatores, destaca-se a nutrição.

A reprodução dos animais é influenciada pela qualidade e quantidade de ração consumida. Verifica-se que as necessidades nutritivas são maiores e mais críticas para a manutenção da reprodução e do crescimento (HAFEZ, 1995). Segundo CARRIÓN e MEDEL (2001), a nutrição encontra-se entre os principais fatores que influenciam na reprodução dos suínos, sendo a interação entre ambas demonstrada na Fig. 3.

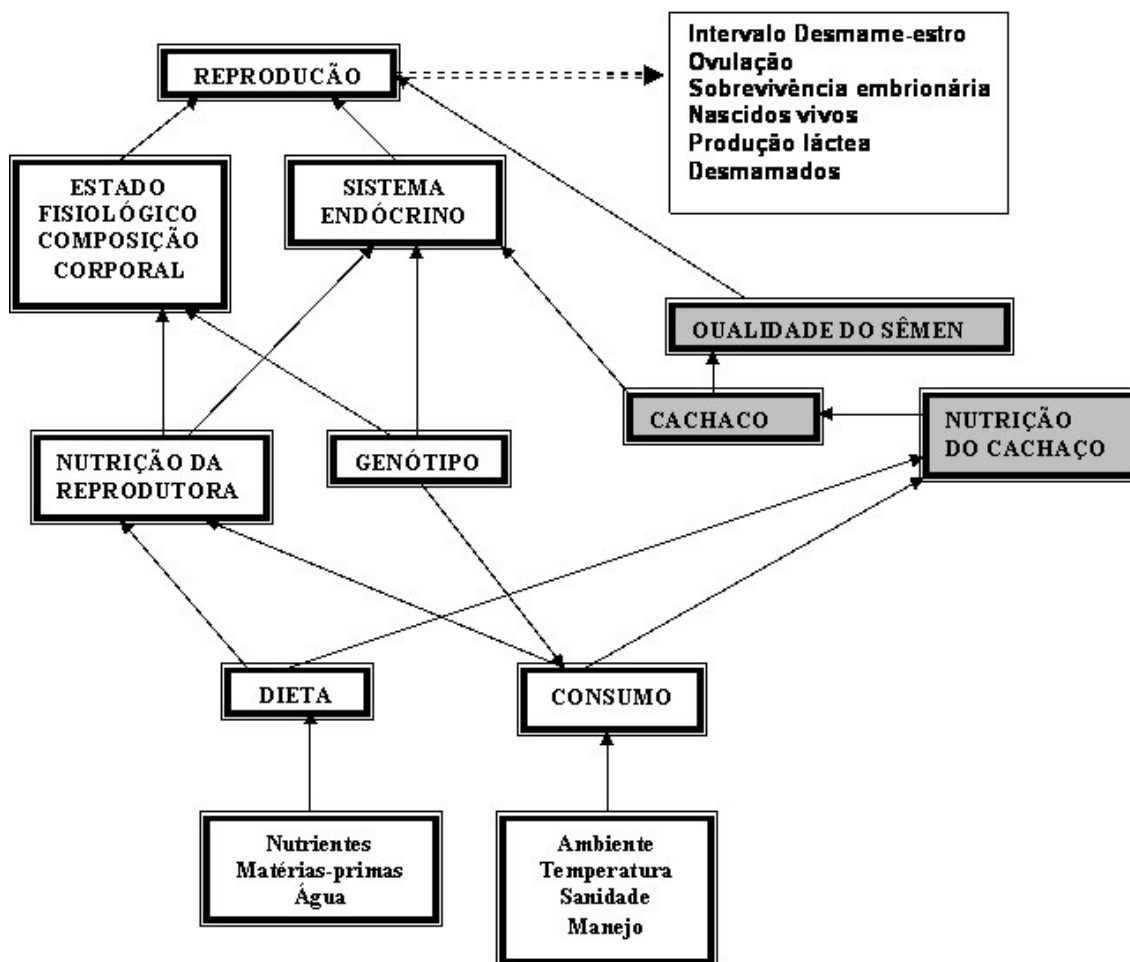


FIGURA 3 - Principais interações entre nutrição e reprodução nos suínos.

Fonte: CARRIÓN e MEDEL (2001)

Apesar da importância dos machos suínos nos resultados reprodutivos, contribuindo com 50% do material genético, habitualmente se tem dado pouca atenção a esta categoria de animais no âmbito científico, quando comparado com as fêmeas.

Um primeiro ponto a se considerar no efeito da alimentação dos machos sobre a eficiência reprodutiva é o excesso de peso, sendo este um dos principais responsáveis pelo descarte de machos adultos, juntamente com os problemas físicos correlacionados a ele, tais como defeitos de aprumos e baixa libido (CARRIÓN e MEDEL, 2001). Para evitar este quadro é necessário formular dietas específicas para esta categoria animal, que maximizem a longevidade e a fertilidade, ao mesmo tempo em que reduzem o ganho de

peso dos animais na fase adulta, uma vez que a simples redução do consumo diário não se torna viável, por implicar em redução na libido e na produção espermática (MACHADO, 2003).

Estudo feito por CLOSE e COLE (2001 apud MACHADO, 2003)<sup>1</sup> demonstrou que os requerimentos de manutenção nos machos sexualmente ativos constituem a maior parte da exigência total de energia, variando de 60% a 90% de acordo com o peso vivo dos animais. Já os requerimentos ligados à monta e à produção do ejaculado<sup>1</sup> variam entre 3,5% e 5% do requerimento energético total (em torno de 9.391 kcal ED/dia para machos com peso corporal de 300 kg), de onde se conclui que a atividade reprodutiva, por si só, não justifica a adoção de níveis energéticos muito elevados na alimentação de cachaços. Ao contrário, esta prática pode levar à obesidade e aos problemas físicos e reprodutivos associados a ela.

A quantidade adequada de proteína bruta para manutenção, libido e espermatogênese para machos sexualmente ativos é de 230g por dia, sendo que machos com uma baixa ingestão de proteína apresentam tempo aumentado para início da ejaculação e diminuição da duração da mesma, aliado à diminuição da libido e volume de sêmen, devido à diminuição nos níveis de 17- $\beta$  estradiol (LOUIS et al., 1994).

Com os avanços obtidos no melhoramento genético dos suínos, há um aumento no desempenho animal, acompanhado de um aumento nas demandas por nutrientes para síntese de tecidos, e desta forma, um plano nutricional mais elevado é necessário para atender as necessidades. Animais

---

<sup>1</sup> CLOSE, W. H.; COLE, D. J. A. Nutrition of sows and boars. Nottingham: Nottingham University Press, 2001. p.377.

com plano nutricional mais elevado reagem mais drasticamente ao calor do que animais de plano nutricional mais baixo (FUQUAY, 1981).

A nutrição dos machos reprodutores pode influenciar a quantidade de sêmen (número de espermatozóides e volume do ejaculado), especialmente em animais jovens e sob condições desfavoráveis de ambiente (HUGONIN, 2001).

#### 3.4.1 Minerais orgânicos

Minerais orgânicos são aqueles nos quais se liga uma molécula orgânica (aminoácido ou peptídeo), daí a denominação de minerais orgânicos, quelatos ou proteinados. Os minerais orgânicos utilizam a via do peptídeo ou aminoácido para sua absorção no intestino delgado, ao invés da via normal de um íon mineral. Esta associação potencializa a absorção dos minerais no intestino delgado pela proteção do metal dentro de um complexo em uma forma química inerte devido a ligações iônicas e covalentes entre os ligantes e os aminoácidos. Conseqüentemente, estes elementos não se tornam suscetíveis à ação de fatores físico-químicos que afetam adversamente a absorção de íons metálicos desprotegidos, resultando em maior absorção e biodisponibilidade do mineral (POWER e HORGAN, 2000). Os minerais nesta forma são mais estáveis, não reagem adversamente com outros nutrientes da dieta e não competem com outros minerais pelo mesmo mecanismo ou sítio de absorção. Isto provê ao animal uma vantagem metabólica, com conseqüente efeito benéfico sobre a performance (CLOSE, 2000).

MAHAN et al. (2002) relataram que após a inclusão, por um período de um ano, de um complexo de minerais orgânicos constituído de cobre, zinco,

manganês, cromo e selênio na dieta de machos suínos, houve um aumento do número de doses por ejaculado de 10,9 para 23,4; o que demonstra o benefício da utilização desta suplementação na alimentação dos animais.

Além deste benefício, a utilização de minerais orgânicos na dieta é recomendada, pois se verifica redução na excreção de minerais nas fezes de animais suplementados, o que diminui o impacto ambiental decorrente da criação de suínos (SMITS e HENMAN, 2000).

Tradicionalmente, sais inorgânicos como óxidos, sulfatos e carbonatos têm sido adicionados às dietas com objetivo de fornecer aos animais níveis corretos de minerais para suprir os requerimentos. Estes sais são quebrados durante o processo digestivo originando íons livres que ficam então disponíveis para serem absorvidos. No entanto, estes íons podem formar complexos com outras moléculas presentes na dieta e se tornar difíceis de serem absorvidos ou não absorvíveis caso sejam completamente complexados. Desta forma, a disponibilidade do elemento torna-se muito variável, fazendo com que os níveis fornecidos na dieta sejam muito maiores do que o mínimo requerido para performance ótima, o que resulta em desperdício e excreção, e leva a impacto ambiental (CLOSE, 1998, 1999; HENMAN, 2001).

Em condições estressantes, ocorre uma superprodução de radicais livres que excedem a capacidade do sistema antioxidante de neutralizá-los, e a utilização de minerais orgânicos, em especial o selênio orgânico, tem papel importante nestas situações, pois exerce função antioxidante e impede a destruição da membrana celular e perda da integridade das células (SURAI, 2000).

O selênio é parte integrante da molécula da enzima glutathiona peroxidase (GSH-Px), uma oxirredutase que evita a formação de lipoperóxidos tóxicos, protegendo contra as reações indesejáveis do tipo radical livre (ANDRIGUETTO et al., 1999). Esta enzima é capaz de remover hidroperóxidos formados no metabolismo de inúmeras substâncias, particularmente no metabolismo dos ácidos graxos insaturados, transformando-os em álcool (MACHADO, 2003).

Estudo feito por MARIN-GUZMAN et al. (1997) demonstrou a importância do selênio dietético na fertilidade de machos suínos, visto que o sêmen de animais suplementados com selênio apresentou maior motilidade, menor quantidade de espermatozóides com anormalidades e maior capacidade fertilizante. MARIN-GUZMAN et al. (2000a) verificaram a importância do selênio no desenvolvimento e maturação dos espermatozóides, uma vez que machos suínos alimentados com dietas contendo baixas concentrações de selênio apresentaram redução na população de células espermáticas, tendo como resultado uma diminuição do número de espermátides maduras e reservas de espermatozóides testiculares.

JACQUES (2001) relatou a participação do selênio na fertilidade de machos pela associação deste elemento com o material de queratina na mitocôndria do espermatozóide, que foi definido como cápsula mitocondrial de selenoproteína, sendo que defeitos morfológicos podem ser ocasionados pela deficiência na síntese desta proteína. MARIN-GUZMAN et al. (2000b) verificaram o envolvimento direto do selênio na morfologia e no metabolismo da célula, por sua incorporação nas selenoproteínas funcionais da peça

intermediária do espermatozóide, durante as fases iniciais da espermatogênese.

HUGONIN (2001) relatou a importância do selênio na dieta de machos reprodutores pelo papel essencial que desempenha para o desenvolvimento adequado dos espermatozoides. Este mineral se concentra na cauda dos espermatozoides, sendo necessário para seu desenvolvimento normal e manutenção da integridade estrutural e função locomotora dos mesmos, o que faz com que se proponha maximizar os níveis de selênio na dieta, sempre respeitando a recomendação vigente, que preconiza a utilização de 0,3 mg/kg (CARRIÓN e MEDEL, 2001). O selênio é um micromineral cuja essencialidade é indiscutível, porém cujos limites entre os níveis essenciais e tóxicos são bastante estreitos. Sua carência, além dos efeitos relatados, ocasiona retardamento do crescimento, estados patológicos e até morte, enquanto sua toxicidade se traduz por perda de apetite, atrofia do coração e morte (ANDRIGUETTO, et al. 1999).

O zinco é outro elemento mineral que apresenta importante função para os machos, pois desempenha papel vital na secreção de hormônios, especialmente aqueles relacionados ao crescimento, reprodução, imunocompetência e estresse, sendo essencial para o desenvolvimento sexual e espermatogênese (CLOSE, 1999), por sua influência sobre o desenvolvimento das células de Leydig e produção de esteróides a nível testicular (HESKETH, 1982). Desta forma, recomendam-se níveis de ao menos 100 mg/kg na ração de machos suínos (CARRIÓN e MEDEL, 2001).

Pagan et al. (1995) observaram benefícios da suplementação de cromo orgânico na resposta metabólica durante períodos de exercícios em eqüinos,

pela redução do cortisol plasmático. Este efeito deve ocorrer devido à diferença no metabolismo da insulina, uma vez que o cromo é responsável pela formação do fator de tolerância à glicose, com função de potencializar a ação da insulina e normalizar o metabolismo da glicose (MOWAT, 1993; MORDENTI et al., 1997; GUAN, et al., 2000). O cortisol liberado durante um evento estressante tem função antagônica à insulina, sendo o papel principal deste hormônio o de prevenir a ocorrência de hipoglicemia (PAGAN et al., 1995), pelo aumento da concentração da glicose plasmática circulante e redução da utilização da glicose em tecidos periféricos, especialmente músculos e fígado (MORDENTI et al., 1997). Além disto, este hormônio é reconhecido como um agente calorigênico em muitas espécies de mamíferos, ao mesmo tempo em que é considerado esteróide inibidor do crescimento, visto que na presença de altas concentrações constatou-se redução na síntese de proteína (CHANG e MOWAT, 1992).

A resposta em relação ao metabolismo do cortisol é consistente também para os ruminantes quando submetidos a estresse, conforme verificado por BURTON et al. (1993) ao estudarem os efeitos do cromo orgânico na dieta de bezerros. LINDEMANN (1996) verificou a importância da presença de cromo orgânico na dieta de suínos e concluiu que sua deficiência causa maior susceptibilidade ao estresse, porém, não se sabe qual o mecanismo exato pelo qual o cromo exerce este efeito, podendo ser um efeito direto do cromo na adrenal ou um efeito indireto via alterações na concentração de insulina (LINDEMANN, 1998). Os resultados destes estudos mostram que animais estressados alimentados normalmente manifestam sinais de deficiência de cromo, verificados por decréscimo na eficiência alimentar,

aumento do hormônio do estresse e função imune comprometida. Várias formas de estresse aumentam a mobilização das reservas de cromo, sendo que em animais estressados demonstrou-se o aumento dos requerimentos de cromo (CHANG e MOWAT, 1992; ANDERSON, 1994), uma vez que nesta situação ocorre exaustão das reservas corporais em virtude do aumento do metabolismo da glicose que requer mobilização deste elemento e conseqüente maior excreção pela urina (MOWAT, 1993; MORDENTI et al., 1997). Desta forma, pode-se associar este mineral com a sensibilidade e a redução do estresse (CLOSE, 1999) e relacionar o grau de estresse com a quantidade de cromo excretada na urina (ANDERSON, 1994). Pelo exposto, é necessária a suplementação de cromo para suínos em particular sob condições de estresse e doença (van HEUGTEN e SPEARS, 1997).

A suplementação dietética contendo magnésio também alivia os efeitos do estresse pela redução da concentração de cortisol plasmático, noradrenalina, adrenalina e dopamina, e a grande vantagem do magnésio orgânico em relação ao inorgânico é verificada pelo aumento da biodisponibilidade deste composto (D'SOUZA e MULLAN, 1998).

Para avaliar o efeito da nutrição na produção espermática, devemos levar em consideração que a espermatogênese é um processo que requer entre 25 e 34 dias. Além disto, os espermatozóides necessitam entre 10 e 14 dias para passagem pelo epidídimo. Desta forma, quando avaliamos o efeito da nutrição sobre a qualidade do sêmen, devemos fazê-lo entre 35 e 50 dias após o tratamento (CARRIÓN e MEDEL, 2001), visto que na espécie suína, a duração total da espermatogênese é em média de 40 dias (FRANÇA et al., 2005).

### 3.5 REQUERIMENTOS NUTRICIONAIS DE MACHOS ADULTOS SEXUALMENTE ATIVOS

A Tab. 1 mostra as necessidades nutricionais para machos adultos sexualmente ativos, baseadas em um consumo diário de 2 kg de ração por dia, segundo o NRC (1998).

TABELA 1 - Requerimentos nutricionais para machos suínos sexualmente ativos (90% de matéria seca)

COMPONENTE DA DIETA	QUANTIDADE	QUANTIDADE TOTAL
ED contida na dieta (kcal/kg)	3.400	3.400
EM contida na dieta (kcal/kg)	3.265	3.265
Ingestão de alimento (kg/dia)	2,00	2,00
Proteína bruta (%)	13,0	13,0
Elementos Minerais	% ou quantia/kg de dieta	Quantidade/dia
Cálcio	0,75%	15,0g
Fósforo, total	0,60%	12,0g
Fósforo, disponível	0,35%	7,0g
Sódio	0,15%	3,0g
Cloro	0,12%	2,4g
Magnésio	0,04%	0,8g
Potássio	0,20%	4,0g
Cobre	5 mg	10 mg
Iodo	0,14 mg	0,28 mg
Ferro	80 mg	160 mg
Manganês	20 mg	40 mg
Selênio	0,15 mg	0,3 mg
Zinco	50 mg	100 mg

Fonte: NRC (1998)

### 3.6 CONDIÇÕES ATUAIS DE CRIAÇÃO E ESTRESSE

Em uma situação de estresse, os animais apresentam mudanças fisiológicas e comportamentais, que resultam em alteração na homeostasia do organismo. Dentre as mudanças fisiológicas observa-se a alteração no perfil hormonal, na frequência cardíaca, e no metabolismo da glicose. No que diz

respeito ao comportamento, verifica-se redução de apetite e inibição do comportamento reprodutor. Todas estas alterações ajudam o animal a responder a uma situação de ameaça e, portanto, a resposta de estresse, ao menos em sua concepção tradicional, é benéfica ao organismo. Porém, em situações em que a situação de ameaça persiste e a resposta estressante se mantém por um longo período de tempo ou se repete freqüentemente, esta se torna prejudicial ao animal (MANTECA e GASA, 2005). No momento em que o animal não consegue mais manter a homeostasia, a consequência rápida será o prejuízo ao bem-estar animal.

A cadeia produtiva de suínos está alicerçada no sistema de confinamento intensivo, onde pouco se valoriza o bem-estar dos suínos e sim os índices de produtividade. Entretanto, para um país manter ou incrementar os volumes de carne exportada deve rever os seus sistemas de produção com uma maior ênfase ao bem-estar dos suínos por meio do “enriquecimento ambiental” dos mesmos. Isto consiste em introduzir melhorias no próprio sistema confinado, com o objetivo de tornar o ambiente mais adequado às necessidades comportamentais dos animais e reduzindo as situações e condições que levam a estresse (DALLA COSTA et al., 2005).

Com relação ao confinamento, BECKER et al. (1989), realizando um estudo comparativo entre diferentes graus de mobilidade em suínos, verificaram que animais alojados em baias individuais que permitem que se movam e virem livremente no interior da mesma não estão submetidos a estresse crônico, e sugerem a ocorrência de adaptação à condição que lhes é imposta. BROOM e MOLENTO (2004) afirmaram que a redução severa na possibilidade de se exercitar leva a redução do bem-estar, porém, nos sistemas

de criação de centrais de inseminação artificial, os machos reprodutores normalmente estão alojados em baias que permitem a movimentação e o exercício, sendo possível suprir sua necessidade de exercício.

O significativo avanço tecnológico da produção de suínos observado na última década impôs profundas alterações nos sistemas de criação, pelas quais podemos perceber o avanço dos modelos de criação com alto nível de confinamento. O conceito de qualidade do ambiente está ligado aos princípios de conforto térmico, que envolvem o microclima dentro das instalações, influenciado pelas condições externas. Estudos têm demonstrado que os principais entraves para alcançar as metas para a otimização econômica do setor suinícola, no que diz respeito aos índices zootécnicos, se devem ao estresse térmico ao qual os animais são submetidos, com temperatura e umidade excessiva e deficiência de ventilação, bem como aumento da incidência de doenças associadas à perda da qualidade do ar. Este desconforto térmico leva os animais ao estado de estresse crônico, e não respeita os conceitos de bem-estar animal. Nas centrais de inseminação artificial dificilmente são observadas condições ambientais inadequadas, visto que a maioria dispõe de sistemas de controle da temperatura ambiente, e mantém a temperatura dentro da zona de conforto térmico, mesmo nos períodos de elevada temperatura (HANSEN, 1999). Porém, nos atuais sistemas de criação, os animais são obrigados a se adaptarem às limitações do sistema utilizado, mesmo que isto gere desconforto para os mesmos.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 ANIMAIS E COLHEITA DAS AMOSTRAS**

O experimento foi conduzido durante os meses de dezembro de 2005 a maio de 2006, em uma central de inseminação artificial de suínos situada no município de Palotina, na região oeste do Estado do Paraná. Esta central, também denominada Unidade de Disseminação de Genes (UDG), está construída no interior de uma área de 190 ha de reflorestamento de eucalipto e apresenta capacidade para alojar 20 machos em coleta, mas no período experimental contava apenas com 13 machos, os quais foram utilizados para a realização do experimento, Tab. 2. Estes animais foram adquiridos de uma, empresa de melhoramento genético de suínos (Agroceres), eram oriundos de granjas de reprodutores suínos certificados (GRSC) e andrologicamente aptos para a reprodução. Antes de entrarem para a central foram alojados em quarentenário, e submetidos a exame sorológico para diagnóstico das seguintes enfermidades: peste suína clássica (PSC), doença de Aujeszky, brucelose, leptospirose, teste intradérmico para diagnóstico de tuberculose, e raspado cutâneo para diagnóstico de sarna.

TABELA 2 - Identificação dos animais pertencentes à central de inseminação artificial no município de Palotina, PR, no período experimental, e seus respectivos grupos.

NÚMERO	GRUPO	IDENTIFICAÇÃO	IDADE (anos)	PESO (kg)	LINHAGEM
01	A	7626 GIn <sup>1</sup>	2,0	≅ 250	AGPIC 412 Superior
02		7635 GIn <sup>1</sup>	2,0	≅ 250	AGPIC 412 Superior
03		7537 GIn <sup>1</sup>	2,0	≅ 250	AGPIC 1020 LS1
04		7609 GIn <sup>1</sup>	2,0	≅ 250	AGPIC 412 Superior
05	B	8553 GOr <sup>2</sup>	2,0	≅ 250	AGPIC 412 Superior
06		0736 GOr <sup>2</sup>	2,0	≅ 250	AGPIC 1020 LS1
07		7552 GOr <sup>2</sup>	2,0	≅ 250	AGPIC 412 Superior
08		7543 GOr <sup>2</sup>	2,0	≅ 250	AGPIC 412 Superior
09	C	7580 GCo <sup>3</sup>	2,0	≅ 250	AGPIC 412 Superior
10		1451 GCo <sup>3</sup>	2,0	≅ 250	AGPIC 412 Superior
11		1529 GCo <sup>3</sup>	2,0	≅ 250	AGPIC 412 Superior
12		7530 GCo <sup>3</sup>	2,0	≅ 250	AGPIC 412 Superior
13		6811 GCo <sup>3</sup>	2,0	≅ 250	AGPIC 1020 LS1

Legenda: <sup>1</sup>Grupo Inorgânico (GIn); <sup>2</sup>Grupo Orgânico (GOr); <sup>3</sup>Grupo Controle (GCo)

#### 4.2 INSTALAÇÕES E DESENHO EXPERIMENTAL

Cada animal permaneceu alojado isoladamente em baias de concreto com dimensões de 2,0 m x 2,5 m, separadas uma das outras por grades que permitem a visualização entre os animais (Fig. 4). A sala de alojamento possuía pé direito de 3,20m, era equipada com cortinas laterais, quatro ventiladores e três linhas de nebulizadores instalados junto ao teto da instalação, os quais eram automaticamente acionados quando a temperatura ambiente superava 23 – 24°C. A sala ainda possuía equipamento para controle da temperatura máxima e mínima da instalação, bem como da umidade relativa do ar. Para a análise os animais foram distribuídos em três grupos de 4, 4 e 5

animais, que receberam dieta inorgânica (GIn), dieta orgânica (GOr) e dieta lactação (GCo), respectivamente.



FIGURA 4 - Instalações dos animais e equipamentos de controle de temperatura.

A dieta foi formulada com base nos requerimentos nutricionais para machos sexualmente ativos, porém sem adição de microminerais. Na fábrica de ração, ao se formular 250 kg de cada ração, adicionava-se o premix de microminerais, constituindo duas dietas diferentes. Para o grupo A, foi fornecida dieta contendo premix de microminerais inorgânicos com taxa de inclusão de 5 kg por tonelada de ração. Para o grupo B foi fornecida dieta contendo premix de microminerais orgânicos com inclusão de 5 kg por tonelada de ração. Para o grupo C foi mantida a dieta normalmente utilizada para a alimentação dos animais, formulada com base nos requerimentos nutricionais de fêmeas em lactação, seguindo formulações preconizadas pela própria empresa, e contendo minerais suplementados na forma inorgânica. Os animais dos três grupos receberam 2 kg de ração por dia (Tab. 3), uma vez ao dia. A água foi fornecida a vontade para os três grupos de animais.

TABELA 3 - Composição das rações utilizadas para os três grupos

Nutriente	Unidade	Grupo Inorgânico (A)	Grupo Orgânico (B)	Dieta Lactação (C)
Proteína Bruta	%	13	13	19
Cálcio	%	0,75	0,75	0,92
Fósforo total	%	0,6	0,6	0,5
Fósforo disponível	%	0,35	0,35	0,45
EMet <sup>*</sup> suínos	kcal/kg	3.265	3.265	3.518
Sódio	%	0,15	0,15	0,30
Cloro	%	0,12	0,12	0,35
Potássio	%	0,2	0,2	0,8
Manganês (Mn)	mg/kg	4.000	4.000	15.000
Zinco (Zn)	mg/kg	10.000	10.000	37,50
Ferro (Fe)	mg/kg	16.000	16.000	25.000
Iodo (I)	mg/kg	28	28	250
Cobre (Cu)	mg/kg	1.000	1.000	5.000
Selênio (Se)	mg/kg	30	30	87,5
Cobalto (Co)	mg/kg	28	28	Valor não informado
Cromo (Cr)	mg/kg	44,00	44,00	0,05

\*EMet = energia metabólica.

A avaliação da influência da temperatura e da suplementação alimentar com minerais orgânicos sobre a qualidade do sêmen foi feita através de determinações diárias (às 10:00 h) da frequência respiratória e da temperatura retal, determinações do consumo diário de alimento. Além disso, foi realizada coleta e avaliação de sêmen duas vezes por semana de todos os machos, observando-se volume, concentração, motilidade e percentual de alterações morfológicas espermáticas, durante os 6 meses do experimento.

O sêmen total foi coletado por um funcionário experiente usando o método da mão enluvada (Fig. 5). No momento da coleta o ejaculado foi filtrado em uma gaze para remoção da fração gelatinosa do sêmen e imediatamente armazenado a 37°C em um copo térmico contendo água aquecida.



FIGURA 5 - Coleta de sêmen pelo método da mão enluvada, em copo aquecido, contendo filtro para separação da fração gelatinosa do sêmen.

Logo após a coleta, o volume (mL) do sêmen foi medido utilizando-se uma balança (1mL = 1g), a motilidade (%) e vigor dos espermatozóides foram avaliados em lâmina de vidro coberta por lamínula, ambas aquecidas (37°C) levadas ao microscópio e visualizadas em objetiva de 40X. O vigor foi classificado de zero a cinco, onde zero representa a ausência de movimento progressivo com deslocamento de cauda lateral fraco e inexpressivo e cinco representa movimento vigoroso e veloz dos espermatozóides, geralmente progressivo (CBRA, 1998).

A concentração foi avaliada através de contagem das células na câmara de Neubauer, através da diluição do sêmen em solução formol-salina-tamponada (HANCOCK, 1957), Tab. 4, na proporção de 0,1 ml de sêmen para 10 mL de solução, adotando-se a diluição de 1:100 para o ejaculado total (CBRA, 1998).

TABELA 4 - Técnica de preparação da solução formol-salina-tamponada

**Solução estoque de NaCl**

NaCl	9,01 g
Água destilada q.s.p	500 ml

**Solução estoque tampão****Solução 1**

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	21,68 g
Água destilada q.s.p	500 ml

**Solução 2**

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	11,13 g
Água destilada q.s.p	500 ml

**Solução tampão final**

Adicionar 200 ml da solução 1 em 80 ml da solução 2

**Solução formol-salina**

Solução estoque de NaCl	150 ml
Solução estoque tampão	100 ml
Formaldeído 40%	62,5 ml
Água destilada q.s.p	500 ml

Fonte: HANCOCK, (1957).

Para avaliar as características morfológicas dos espermatozoides foi realizada a técnica da preparação úmida padronizada por KRAUSE (1966), na qual se homogeneizou 0,1 mL de sêmen com 0,5 mL de solução-formol-salina. Esta solução foi armazenada em temperatura ambiente e submetida à agitação freqüente até o momento da realização do exame para evitar aglutinação espermática. No momento da realização do exame, foi retirada uma alíquota de 30 µl que foi avaliada em lâmina coberta por lamínula em microscópio de contraste de fase (Olympus BX 41 TF) com aumento de 1000 X. A verificação

da morfologia espermática foi realizada em 200 células, analisando-se os defeitos de forma e estrutura e classificando-os como defeito de cabeça e cauda.

Durante o experimento foram também registradas diariamente a temperatura máxima e mínima e a umidade relativa do ar no local onde estavam alojados os machos, às 8:00 h e às 16:00 h.

O experimento foi realizado no período de predomínio de elevadas temperaturas na região, e os dois primeiros meses foram utilizados como período inicial de adaptação à nova dieta, sendo a avaliação da qualidade seminal iniciada neste período.

#### 4.3 NÚMERO DE AMOSTRAS

Foram coletadas 105 amostras de sêmen dos animais pertencentes ao grupo orgânico, 108 amostras dos animais do grupo inorgânico e 130 amostras dos animais pertencentes ao grupo controle. Para a análise de cortisol, foram coletadas 124 amostras de fezes dos animais dos grupos orgânico e inorgânico e 155 amostras dos animais do grupo controle.

Para determinação das concentrações de corticóides fecais, foram utilizadas amostras coletadas das fezes mais recentes dos machos dos grupos A, B e C, semanalmente, durante todo o experimento, das 11:00 h às 12:00 h. O horário das coletas foi respeitado para que fossem evitadas as variações circadianas que ocorrem nas concentrações de cortisol, apesar da análise fecal representar um “pool” das concentrações de metabólitos.

#### 4.4 ANÁLISE HORMONAL FECAL

O processamento da amostra (extração e análise por radioimunoensaio) foi realizado no Laboratório de Dosagens Hormonais (LDH) da Universidade de São Paulo (USP), seguindo o padrão descrito por GRAHAM et al. (2001).

O radioimunoensaio foi validado biologicamente para fezes suínas através da administração de hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) (Synacthen® Dépôt, Novartis), em dois machos suínos e coleta de fezes anteriormente à administração e um dia após a administração. A coleta de fezes foi feita no mesmo horário em que era realizada a coleta de fezes dos animais submetidos ao teste. A dosagem de metabólitos de corticosterona demonstrou que houve aumento da eliminação de metabólitos fecais 24 h após o desafio biológico (Fig. 6) para os dois animais submetidos ao teste.

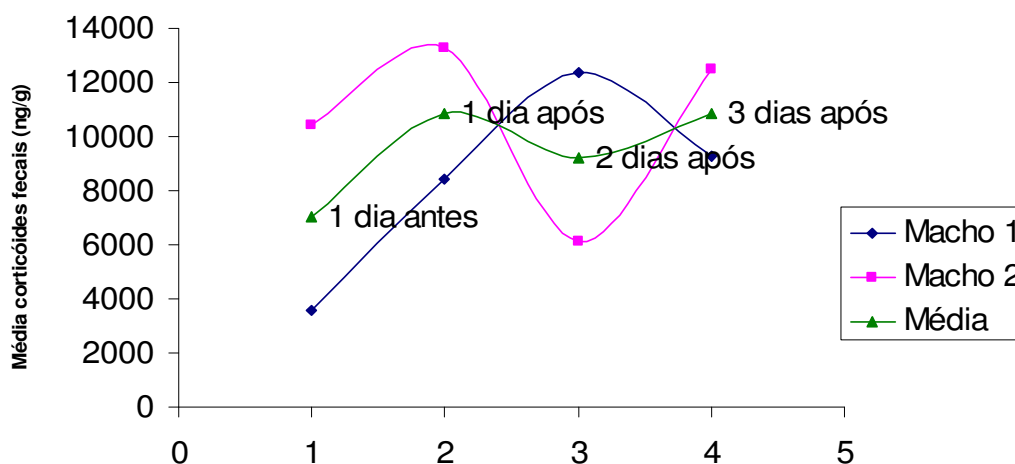


FIGURA 6 – Metabólitos de corticosterona (ng/g de fezes) dosados nas fezes dos suínos utilizados como desafio biológico.

Para a análise de metabólitos de cortisol nas fezes, 0,5g de cada amostra de fezes úmidas foram pesadas em balança analítica (Fig. 6) e

adicionadas a 5,0 mL de solução de etanol a 80% (etanol: água destilada). A solução foi misturada em aparelho vortex (*Genie 2<sup>®</sup> - Scientific Industries, Inc., MOD G-560E*) durante 30 segundos ou até que as fezes ficassem totalmente partidas (Fig. 7). Em seguida foram homogeneizadas em misturador mecânico (Homogeneizador de sangue Phoenix<sup>®</sup>, MOD AP22) por um período de 12 horas. Após centrifugar as amostras a 3000 rpm (rotações por minuto) durante 15 minutos, os sobrenadantes foram transferidos para microtubos de polipropileno devidamente identificados e armazenados em freezer a  $-22^{\circ}\text{C}$ , para serem posteriormente dosados quanto aos metabólitos fecais.

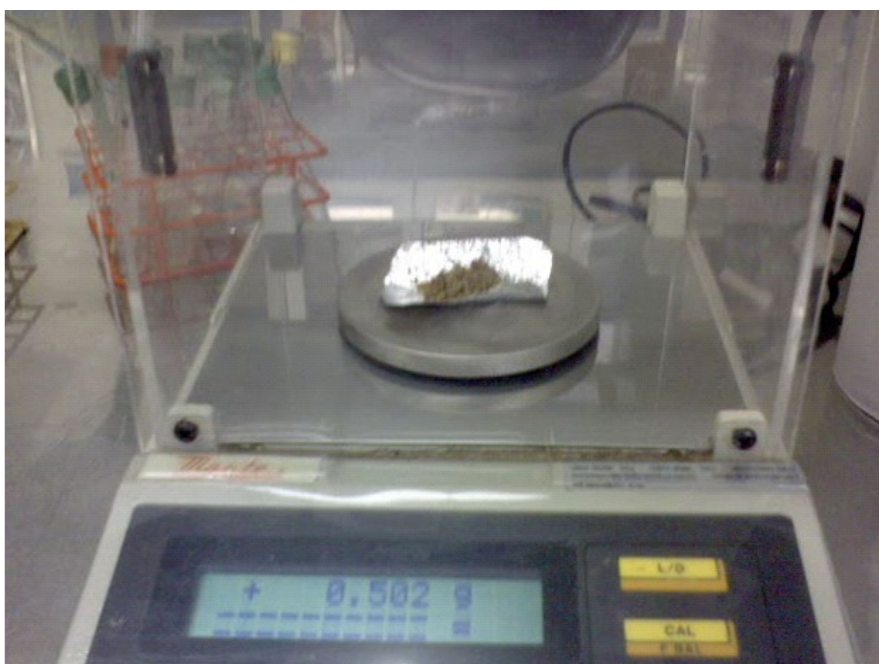


FIGURA 7 - Pesagem das amostras fecais.



FIGURA 8 - Amostras fecais adicionadas ao etanol.

Metabólitos fecais de corticosterona foram quantificados através da técnica de radioimunoensaio ( $I^{125}$  RIE) duplo anticorpo (GRAHAM et al., 2001), por meio de conjunto diagnóstico comercial (*MP Biomedicals, Inc.*, Costa Mesa, CA, EUA), desenvolvido para dosagem de corticosterona no soro humano.

Para a dosagem, os extratos fecais foram previamente diluídos (Fig. 9) em uma solução tampão gelatina 0,1% (1,0 M, pH 7,0) e 100  $\mu$ l desta solução era transferido para tubos de ensaio contendo quantidades pré-determinadas de hormônio marcado com  $I^{125}$  (Fig. 10). Posteriormente ao período de incubação de três horas, à temperatura ambiente, descartava-se a fase líquida e media-se a radioatividade remanescente em um contador gama computadorizado (*Auto-Gamma*<sup>®</sup>, Cobra) provido de software específico para cálculo automático dos resultados, expressos em nanogramas por mililitro (ng/ml).



FIGURA 9 - Amostras diluídas em solução-tampão gelatina.



FIGURA 10 - Solução acrescida de hormônio marcado.

Em ambos os casos, os valores dos metabólitos hormonais foram corrigidos para peso e diluição e expressos em nanogramas por gramas de fezes úmidas (ng/g).

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliação dos três grupos foi utilizado o método estatístico de comparação de médias ANOVA, ao nível de significância de 5%, com o objetivo de testar se existiram diferenças significativas entre eles. Nas situações em que foi observada diferença significativa entre os tratamentos na análise de variância (ANOVA), os grupos foram submetidos ao teste de comparação de médias para testar qualquer contraste entre as médias dos tratamentos, através do cálculo da diferença mínima significativa (DMS) pelo teste de Tukey (5%).

A avaliação da correlação existente entre as variáveis foi feita utilizando-se o coeficiente de correlação de Pearson para verificar se a correlação encontrada foi significativa ou não, utilizando-se o programa estatístico SAEG (UFV, 1998).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 TEMPERATURA E QUALIDADE ESPERMÁTICA

Durante o período experimental, a temperatura no interior do galpão no qual os animais estavam alojados, atingiu o valor mínimo de 16,4°C e máximo de 39,7°C; observados nos meses de maio de 2006 e janeiro de 2006, respectivamente. A Fig. 11 apresenta as médias de temperatura ambiental durante o período experimental.

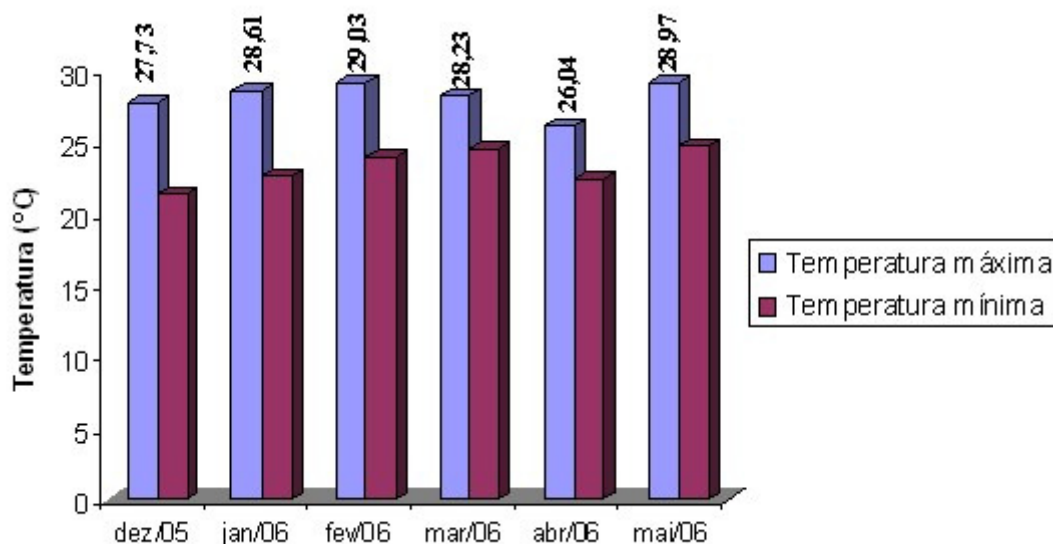


FIGURA 11 - Médias da temperatura ambiental máxima e mínima no interior do galpão de criação de machos suínos, segundo os meses, durante 6 meses, no município de Palotina, PR.

As médias de temperatura máxima permaneceram acima da temperatura crítica superior (26°C) para os suínos durante todo o período experimental. A umidade relativa do ar também se manteve elevada durante este período, e a associação deste fator com elevada temperatura ambiental é mais deletéria para a função testicular do que ambos os fatores agindo separadamente, resultando em redução no número de espermatozoides

normais e aumento no número de espermatozóides com gota plasmática proximal e distal (SURIYASOMBOON et al., 2005, 2006).

Calor e umidade elevada podem resultar em estresse crônico, especialmente se acompanhado por uma ampla flutuação da temperatura, resultando em diminuição na ingestão de alimento e interferência na espermatogênese (KUNAVONGKRIT et al., 2005). Nas condições experimentais não se observou redução na ingestão de alimento, pois os animais recebiam 2 kg de ração uma vez ao dia. Como o intervalo entre o fornecimento de ração era de 24 h, os animais ingeriam toda a ração fornecida.

Em alguns meses, janeiro de 2006 e maio de 2006, a temperatura ambiente máxima chegou a atingir valores de 39,7°C e 35,5°C, respectivamente, que representam temperaturas prejudiciais tanto às etapas de formação dos espermatozóides como aos espermatozóides já formados e em trânsito pelo epidídimo (MIES FILHO, 1975). O resultado da qualidade do sêmen 15 a 20 dias após a exposição dos animais a estas temperaturas encontra-se na Tab. 5.

Após a exposição a temperaturas elevadas como as observadas no período descrito acima, observou-se redução no número de espermatozóides normais no sêmen dos animais de todos os grupos, sendo a diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para os grupos GIn e GCo. O grupo que sofreu maior redução na média de espermatozóides normais foi o grupo controle (GCo) seguido pelo grupo inorgânico (GIn). Além disso, observou-se que o GCo apresentou aumento na média de espermatozóides com gota plasmática proximal significativa ( $p < 0,05$ ) entre os dois períodos, enquanto o GIn apresentou aumento significativo na média de espermatozóides com gota

plasmática distal e defeitos de cauda. Os animais do grupo orgânico (GOr) foram os que menos sofreram alterações na qualidade do sêmen no período de 15 a 20 dias após a exposição a temperaturas superiores a 34,5°C.

TABELA 5 - Média de espermatozóides normais e principais defeitos observados nos espermatozóides de suínos, em um período que antecedeu a exposição a temperaturas superiores a 34,5°C e após um intervalo de 15 a 20 dias.

		GIn <sup>1</sup>	GOr <sup>2</sup>	GCo <sup>3</sup>
		Espermatozóides		
Antes da exposição	Normais (%)	81,60 <sup>a</sup>	95,30 <sup>a</sup>	89,40 <sup>a</sup>
	GPP <sup>4</sup>	4,78 <sup>a</sup>	1,38 <sup>a</sup>	5,31 <sup>a</sup>
	GPD <sup>5</sup>	6,44 <sup>a</sup>	3,50 <sup>a</sup>	4,33 <sup>a</sup>
	Defeitos cauda	3,31 <sup>a</sup>	1,40 <sup>a</sup>	1,14 <sup>a</sup>
		Espermatozóides		
Após a exposição (15-20 dias)	Normais (%)	73,82 <sup>b</sup>	89,85 <sup>a</sup>	70,21 <sup>b</sup>
	GPP <sup>4</sup>	5,09 <sup>a</sup>	5,10 <sup>a</sup>	20,00 <sup>b</sup>
	GPD <sup>5</sup>	10,20 <sup>b</sup>	3,67 <sup>a</sup>	3,96 <sup>a</sup>
	Defeitos cauda	7,29 <sup>b</sup>	1,36 <sup>a</sup>	1,35 <sup>a</sup>

Legenda: <sup>1</sup>GIn = Grupo Inorgânico; <sup>2</sup>GOr = Grupo Orgânico; <sup>3</sup>GCo = Grupo Controle; <sup>4</sup>GPP = gota plasmática proximal; <sup>5</sup>GPD = gota plasmática distal. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os períodos de observação.

Os grupos GIn e GCo apresentaram mais do que 20% de espermatozóides com algum tipo de anormalidade após o período de exposição a elevadas temperaturas, o que faz com que sejam considerados fora dos padrões de julgamento para doadores de sêmen resfriado (CBRA, 1998). Estes resultados demonstram que os animais do grupo GCo e GIn sofrem maior influência das elevadas temperaturas sobre a função epididimária, visto que apresentam deficiência na perda da gota plasmática bem como alterações secundárias como enrolamento e dobramento da cauda dos espermatozóides, e estas alterações prejudicam a capacidade fecundante

dos espermatozoides, afetando o desempenho reprodutivo dos animais (MALMGREN e LARSSON, 1984; SILVEIRA e SCHEID, 2003).

O aumento de células espermáticas anormais de 10% para 20% diminui a taxa de prenhez em 0,6% e provoca redução no tamanho da leitegada em 0,1 leitão (FEITSMA et al., 2005). Uma menor taxa de fecundação foi observada nas fêmeas inseminadas com ejaculados de menor motilidade e maior percentual de espermatozoides anormais, obtidos duas a seis semanas após machos suínos serem submetidos a estresse térmico (MALMAGRAN e LARSSON, 1984).

A análise de variância da média de volume de sêmen observada ao longo dos meses do ano (Tab. 6) mostra que o GCo apresentou menor volume de sêmen durante todos os meses do experimento, exceto no mês de março, sendo a diferença significativa entre os três tratamentos ( $p=0,025$ ). O GIn foi o que apresentou os maiores valores de volume de sêmen durante todo o período experimental, porém sem diferença significativa para o GOr.

TABELA 6 - Volume de sêmen (média  $\pm$  erro padrão) dos grupos Inorgânico, Orgânico e Controle, nos meses do ano, no município de Palotina, PR.

	VOLUME (ml)		
	G In <sup>1</sup>	G Or <sup>2</sup>	G Co <sup>3</sup>
DEZEMBRO/05	272,79 $\pm$ 99,20 <sup>a</sup>	280,52 $\pm$ 44,29 <sup>ab</sup>	264,59 $\pm$ 59,08 <sup>b</sup>
JANEIRO/06	307,29 $\pm$ 64,78 <sup>a</sup>	301,43 $\pm$ 46,63 <sup>ab</sup>	257,54 $\pm$ 76,19 <sup>b</sup>
FEVEREIRO/06	291,35 $\pm$ 88,66 <sup>a</sup>	274,00 $\pm$ 67,57 <sup>ab</sup>	253,27 $\pm$ 72,36 <sup>b</sup>
MARÇO/06	361,63 $\pm$ 54,24 <sup>a</sup>	326,53 $\pm$ 50,77 <sup>ab</sup>	338,38 $\pm$ 63,96 <sup>b</sup>
ABRIL/06	402,90 $\pm$ 48,12 <sup>a</sup>	368,33 $\pm$ 46,24 <sup>ab</sup>	312,30 $\pm$ 94,28 <sup>b</sup>
MAIO/06	422,32 $\pm$ 46,47 <sup>a</sup>	385,44 $\pm$ 49,08 <sup>ab</sup>	347,78 $\pm$ 63,18 <sup>b</sup>

Legenda: <sup>1</sup>GIn = Grupo Inorgânico; <sup>2</sup>GOr = Grupo Orgânico; <sup>3</sup>GCo = Grupo Controle. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p<0,05$ ) entre os grupos.

Suriyasomboon et al. (2004) observaram uma média de volume e  $228,7 \pm 62,7$  ml quando analisaram 607 amostras de sêmen de machos Duroc criados sob condições convencionais de criação.

A análise de variância da média de motilidade espermática (Tab. 7) observada ao longo dos meses do ano apresentou diferença significativa entre os grupos ( $p=0,029$ ), sendo que o GOr foi o que apresentou maior motilidade durante todo o período experimental, apresentando diferença média significativa em relação ao GIn.

TABELA 7 - Motilidade espermática (média  $\pm$  erro padrão) dos grupos Inorgânico, Orgânico e Controle, nos meses do ano, no município de Palotina, PR

	MOTILIDADE (%)		
	G In <sup>1</sup>	G Or <sup>2</sup>	G Co <sup>3</sup>
DEZEMBRO	88,62 $\pm$ 2,09 <sup>b</sup>	89,92 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>	89,80 $\pm$ 0,47 <sup>ab</sup>
JANEIRO	89,15 $\pm$ 0,74 <sup>b</sup>	90,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	89,57 $\pm$ 0,80 <sup>ab</sup>
FEVEREIRO	88,68 $\pm$ 1,52 <sup>b</sup>	89,87 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup>	89,54 $\pm$ 0,80 <sup>ab</sup>
MARÇO	89,52 $\pm$ 0,62 <sup>b</sup>	90,11 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>	88,25 $\pm$ 4,93 <sup>ab</sup>
ABRIL	86,77 $\pm$ 5,77 <sup>b</sup>	90,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	87,41 $\pm$ 8,11 <sup>ab</sup>
MAIO	88,92 $\pm$ 1,49 <sup>b</sup>	89,96 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	89,25 $\pm$ 0,84 <sup>ab</sup>

Legenda: <sup>1</sup>GIn = Grupo Inorgânico; <sup>2</sup>GOr = Grupo Orgânico; <sup>3</sup>GCo = Grupo Controle. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $p=0,02$ ) entre os grupos.

O padrão desejado de motilidade progressiva é de 70%. Os três grupos apresentaram resultados de motilidade dentro dos padrões desejados durante todo o período experimental, mesmo quando submetidos a elevadas temperaturas (CBRA, 1998), superior também aos resultados observados por BORG et al. (1993), que obtiveram média de 75% de motilidade progressiva em suínos, não observando diferenças entre raças.

A concentração de espermatozoides apresentou diferença significativa entre os grupos ( $p=0,006$ ) sendo que os resultados (Tab. 8) dos grupos GOr e GCo se assemelham, porém diferem do GIn.

TABELA 8 - Concentração espermática no sêmen (média  $\pm$  erro padrão) dos grupos Inorgânico, Orgânico e Controle, nos meses do ano, no município de Palotina, PR

	CONCENTRAÇÃO ( $\times 10^6$ / ml)		
	GIn <sup>1</sup>	GOr <sup>2</sup>	GCo <sup>3</sup>
DEZEMBRO	185,74 $\pm$ 82,43 <sup>b</sup>	264,20 $\pm$ 86,12 <sup>a</sup>	241,70 $\pm$ 71,24 <sup>ab</sup>
JANEIRO	203,42 $\pm$ 83,33 <sup>b</sup>	204,87 $\pm$ 65,02 <sup>a</sup>	220,54 $\pm$ 63,68 <sup>ab</sup>
FEVEREIRO	142,32 $\pm$ 80,43 <sup>b</sup>	189,11 $\pm$ 65,88 <sup>a</sup>	169,05 $\pm$ 76,85 <sup>ab</sup>
MARÇO	197,25 $\pm$ 74,10 <sup>b</sup>	272,66 $\pm$ 90,48 <sup>a</sup>	177,22 $\pm$ 131,25 <sup>ab</sup>
ABRIL	188,44 $\pm$ 67,01 <sup>b</sup>	259,86 $\pm$ 49,80 <sup>a</sup>	250,00 $\pm$ 122,7 <sup>ab</sup>
MAIO	142,21 $\pm$ 56,57 <sup>b</sup>	195,31 $\pm$ 52,27 <sup>a</sup>	194,29 $\pm$ 78,42 <sup>ab</sup>

Legenda: <sup>1</sup>GIn = Grupo Inorgânico; <sup>2</sup>GOr = Grupo Orgânico; <sup>3</sup>GCo = Grupo Controle. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos ( $p<0,05$ ).

Os resultados demonstram que a capacidade de produção espermática pelos testículos e a qualidade do movimento flagelar são satisfatórios para os animais do grupo GOr e são menos afetadas pelas elevadas temperaturas a que foram submetidos quando comparado com os grupos GIn e GCo.

Quando se compararam as médias de espermatozoides normais entre os grupos (Tab. 9) verificou-se que houve diferença significativa entre os valores observados ao longo dos meses do experimento ( $p=0,00021$ ), sendo que para os grupos GIn e GCo, a diferença entre as médias não foi significativa ao nível de 95% de significância. Já quando se comparou o grupo GOr com os demais (GCo e GIn) a diferença entre as médias de espermatozoides normais foi significativa.

TABELA 9 - Porcentagem de espermatozóides normais de acordo com os meses do ano, em um período de 6 meses, no município de Palotina PR.

	GIn	GOr	GCo
Dez	83,10 <sup>b</sup>	96,90 <sup>a</sup>	90,10 <sup>b</sup>
Jan	82,74 <sup>b</sup>	95,35 <sup>a</sup>	88,83 <sup>b</sup>
Fev	71,21 <sup>b</sup>	89,69 <sup>a</sup>	73,62 <sup>b</sup>
Mar	76,60 <sup>b</sup>	91,33 <sup>a</sup>	66,94 <sup>b</sup>
Abr	75,25 <sup>b</sup>	90,25 <sup>a</sup>	78,31 <sup>b</sup>
Mai	77,86 <sup>b</sup>	93,66 <sup>a</sup>	87,89 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup> Diferença estatística significativa entre os grupos analisados nos diferentes meses do ano é marcada com letras diferentes ( $p < 0,05$ ).

Suriyasomboon et al. (2004), ao verificarem a influência dos diferentes sistemas de criação para machos suínos sobre a produção e qualidade espermática, observaram 79,8% de espermatozóides normais em um total de 607 observações, em animais criados em sistema convencional, na Tailândia. Já VASCONCELOS et al. (2001) observaram uma média de 86,3% de espermatozóides normais no sêmen de machos suínos das raças Duroc, Landrace e Large White. Apenas os animais do GOr mantiveram porcentagem média de espermatozóides normais superior às observadas por estes pesquisadores durante todo o período experimental.

Para a avaliação da relação entre temperatura ambiental média e porcentagem de espermatozóides normais observados em cada grupo, a temperatura média da primeira semana foi correlacionada com os dados de espermatozóides normais observados 21 dias após. Segundo WETTEMANN et al. (1976), a exposição de machos suínos a elevadas temperaturas ambientais provoca alteração na qualidade do sêmen dos animais a partir de vinte dias após o início da exposição.

O grupo de animais GCo foi o que sofreu maior declínio na porcentagem de espermatozoides normais no período de janeiro a março de 2006, seguido pelo GIn, período que refletiu a exposição a altas temperaturas ambientais nos meses de dezembro/2005, janeiro/2006 e fevereiro/2006, como pode ser observado na Figura 10.

A partir dos resultados demonstrados na Tab. 10 verifica-se que houve diferença significativa nos defeitos de cabeça, cauda, gota plasmática proximal e gota plasmática distal ao longo do período experimental, quando foram comparados os três grupos.

TABELA 10 - Defeitos morfológicos (média) encontrados no sêmen de cachacos, no período de 6 meses, no município de Palotina - PR

Tipo de defeito	G In <sup>1</sup>	G Or <sup>2</sup>	G Co <sup>3</sup>
Cabeça	0,88 <sup>a</sup>	0,48 <sup>a</sup>	1,77 <sup>b</sup>
Peça Intermediária	0,50	0,06	0,19
Cauda	3,81 <sup>a</sup>	1,57 <sup>b</sup>	1,47 <sup>b</sup>
GPP <sup>4</sup>	6,03 <sup>ab</sup>	2,15 <sup>b</sup>	11,07 <sup>a</sup>
GPD <sup>5</sup>	6,16 <sup>a</sup>	2,39 <sup>b</sup>	3,75 <sup>b</sup>
Teratospermia	0,03	0,01	0,01
Acrossoma	0,07	0,01	0,02

Legenda: <sup>1</sup>G In = Grupo Inorgânico; <sup>2</sup>G Or = Grupo Orgânico; <sup>3</sup>G Co = Grupo Controle; <sup>4</sup>GPP = gota plasmática proximal; <sup>5</sup>GPD = gota plasmática distal. <sup>a, b</sup> Letras distintas indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

Os defeitos observados na cabeça dos espermatozoides dos animais que receberam dieta lactação (GCo) foram significativamente superiores ( $p < 0,05$ ) aos demais tratamentos ao longo dos meses do experimento. O valor médio observado (1,77%) foi superior ao percentual médio de defeitos de cabeça observados em um total de 1324 amostras de sêmen de suínos durante um período de 44 meses nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, onde se verificou que os defeitos de cabeça apresentaram uma média de

0,94% (HEIM et al., 2005). Nos grupos GIn e GOr, o valor observado nos defeitos de cabeça foi inferior à média verificada no experimento citado.

Já os defeitos de cauda foram significativamente superiores para os animais que receberam a dieta inorgânica (GIn) em relação aos outros tratamentos, porém inferior ao percentual de defeitos de cauda observados por HEIM et al. (2005), que constataram uma média de 4,52% em um total de 1324 observações.

Para os defeitos de gota plasmática proximal e gota plasmática distal, observou-se que os grupos que apresentaram maior porcentagem média foram os grupos GCo e GIn respectivamente. A diferença entre as médias de gota plasmática proximal foi significativa ( $p < 0,05$ ) apenas entre os GCo e GOr, porém apenas o grupo GOr apresentou média inferior ao percentual médio observado por HEIM et al. (2005) e KUNAVONGKRIT et al. (2005), que encontraram 3,8% e 3,9% de defeitos de GPP, respectivamente. Já a diferença entre as médias de gota plasmática distal foi significativa entre os grupos GIn e GCo ( $p < 0,05$ ) e GIn e GOr ( $p < 0,05$ ). O percentual médio de defeitos de GPD encontrado por HEIM et al. (2005) foi de 4,5%, sendo que apenas o grupo GIn apresentou percentual superior a este, e superior também ao percentual observado por KUNAVONGKRIT et al. (2005), que ao verificar a incidência de GPD em suínos submetidos a um sistema convencional de criação, encontrou 5,6% de espermatozoides com GPD.

A porcentagem de espermatozoides com gota plasmática distal (GPD) apresenta correlação negativa com a taxa de prenhez e o tamanho da leitegada, enquanto a porcentagem de espermatozoides com gota plasmática proximal (GPP) apresenta correlação negativa com tamanho da leitegada. As

gotas plasmáticas representam um sério defeito morfológico das células espermáticas, de particular importância quando da armazenagem em longo prazo do sêmen para inseminação artificial, não sendo recomendado que a porcentagem total de gotas plasmáticas exceda 15% (WABERSKI et al., 1994). Nas condições experimentais, nenhum dos grupos apresentou somatório das porcentagens de espermatozoides com defeitos de gota plasmática superior a este valor.

Ao aumentar a temperatura ambiente observou-se redução no volume e na concentração de espermatozoides do sêmen (Tab. 11), confirmada pela correlação significativa e negativa entre estas variáveis.

TABELA 11 - Coeficientes de correlação de Pearson para as características do sêmen suíno, níveis de metabólitos de cortisol excretados nas fezes e temperatura ambiental máxima.

Variável	Porcentagem de Espermatozoides Normais	Concentração	Volume de sêmen	Motilidade Espermática	Concentrações de metabólitos de cortisol nas fezes	Temperatura ambiente
Porcentagem de Espermatozoides Normais	1,000*	0,533*	0,137	0,512*	-0,353*	0,010
Concentração		1,000*	-0,118	0,365*	-0,467	-0,285*
Volume de sêmen			1,000*	-0,119	0,178	-0,2135*
Motilidade espermática				1,000*	-0,152	0,1134
Níveis de metabólitos de cortisol nas fezes					1,000*	-0,369*
Temperatura ambiente						1,000*

\*Significativo ( $p < 0,05$ )

Os resultados entre a correlação de temperatura ambiente e volume de sêmen, e temperatura ambiente e concentração, estão de acordo com os resultados observados por KUNAVONGKRIT e PRATEEP (1995), que

observaram menor volume total do ejaculado e menor concentração do sêmen em machos submetidos a ambiente com elevada temperatura.

## 5.2 EFEITOS SOBRE OS METABÓLITOS DE CORTISOL

Os níveis de metabólitos de cortisol observados nas fezes apresentaram uma correlação negativa significativa com a porcentagem de espermatozóides normais (Tab. 11 e Fig. 12), de modo que ao aumentar a atividade adrenocortical, ocorre redução na produção de espermatozóides normais, com conseqüente aumento do número de defeitos morfológicos dos espermatozóides, visto que os animais estavam submetidos a uma situação estressante.

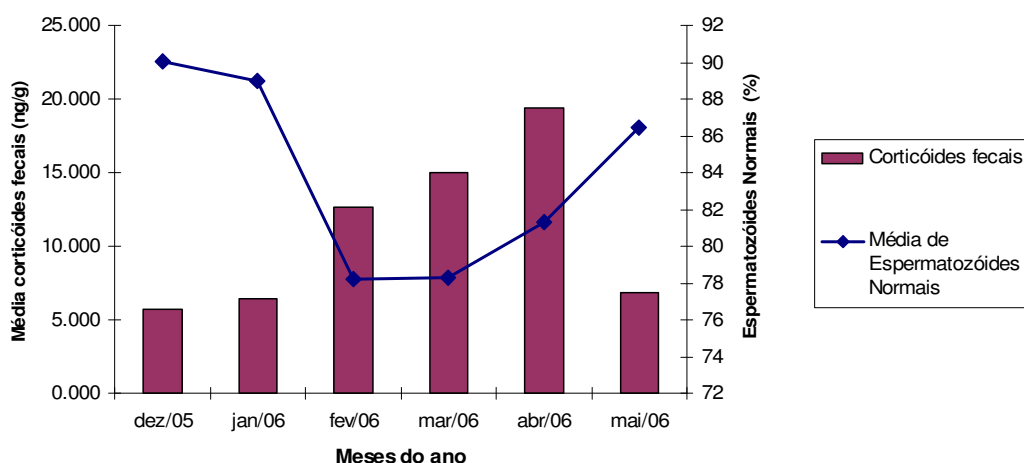


FIGURA 12 - Média de corticóides fecais e espermatozóides normais de suínos, durante 6 meses, no município de Palotina, PR.

No período compreendido entre fevereiro e abril de 2006, verificou-se que o aumento dos níveis de metabólitos de corticosterona foi acompanhado por um aumento na média de espermatozóides normais, comportamento oposto ao observado no início da exposição às elevadas temperaturas em dezembro de 2005 e janeiro de 2006.

Um declínio do desempenho reprodutivo, associado com uma queda na qualidade do sêmen, pode acontecer durante e após o verão; porém os machos podem sofrer adaptação às altas temperaturas e até mesmo machos criados em condições de temperatura acima de 30°C passam a produzir sêmen com fertilidade considerável (CAMERON, 1987). Desta forma, se aceita a hipótese de que o período de exposição inicial às elevadas temperaturas é mais prejudicial à espermatogênese e causa um impacto maior sobre esse processo, sendo que posteriormente os animais adaptam-se à esta situação desfavorável e restabelecem a produção espermática mesmo com o aumento nos níveis de metabólitos de cortisol.

Nas condições do experimento não houve diferença significativa entre os três tratamentos nos níveis de metabólitos de corticosterona presentes nas fezes (Fig. 13), e a correlação entre metabólitos de corticosterona e temperatura ambiente máxima foi negativa e significativa (Fig. 14). Isto pode ser explicado pela condição a qual os animais foram expostos, sem persistência das temperaturas elevadas por longos períodos e por alterações no manejo que ocorreram no mês de março e abril. Este último fator, representado pela substituição do funcionário que efetuava a coleta de sêmen, provocou alterações comportamentais nos animais e conseqüentemente na produção e eliminação de cortisol.

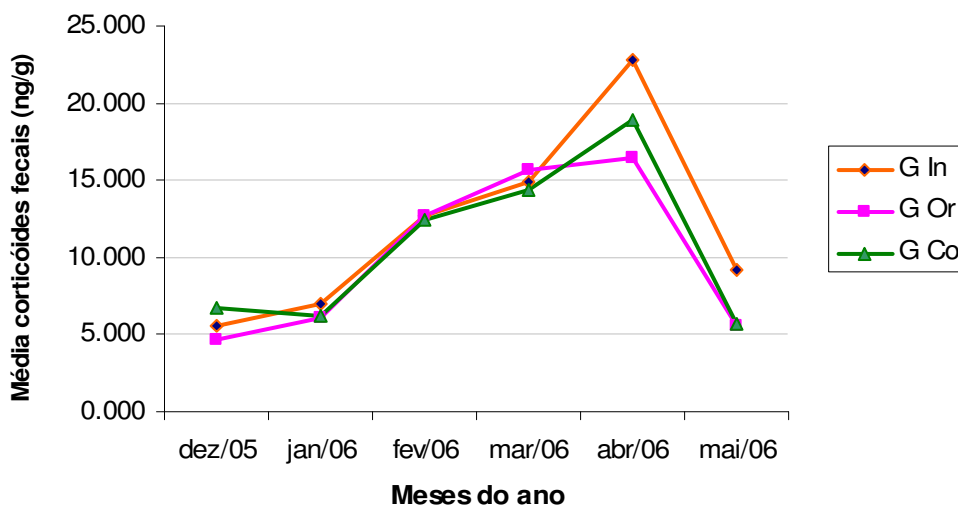


FIGURA 13 – Níveis de corticóides fecais (ng/g) encontrados em machos suínos, de acordo com os meses do ano, nos grupos GIn, GOr e GCo, no município de Palotina, PR.

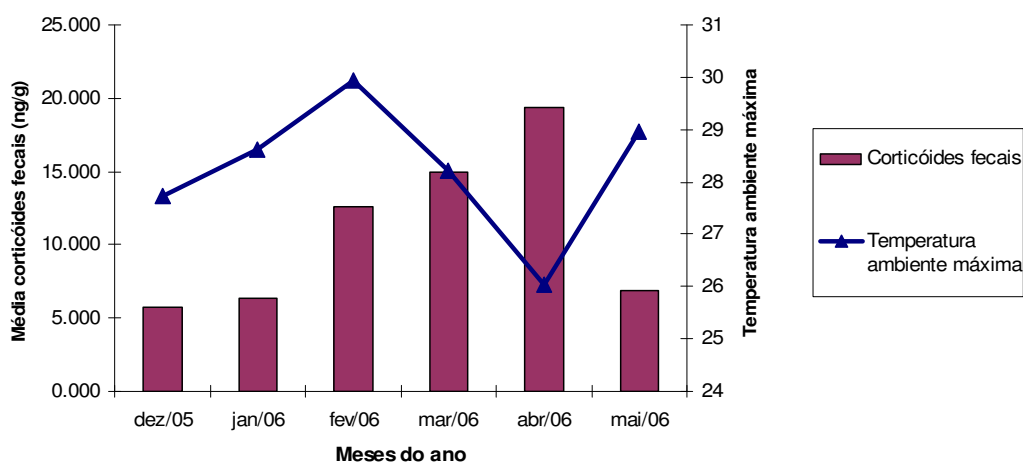


FIGURA 14 - Médias de corticóides fecais (ng/g) e temperatura ambiente máxima (°C) observadas no interior do alojamento de machos suínos, durante 6 meses, no município de Palotina, PR.

### 5.3 EFEITOS SOBRE OS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS

Ao analisar as temperaturas máximas no interior do galpão de acordo com os meses do ano, verificou-se que dos 180 dias do período experimental, apenas 44 dias apresentaram temperatura inferior à crítica superior para os suínos. Nos demais dias, a temperatura diária registrada foi superior à

temperatura de 26°C, que representa a temperatura a partir da qual os animais estão expostos ao estresse pelo calor (PERDOMO et al., 1985). Porém, como os animais foram submetidos à oscilação normal de temperatura durante as 24 horas do dia, esta máxima não foi suficiente para provocar alterações na frequência respiratória (Fig. 15) e temperatura corporal (Fig. 16).

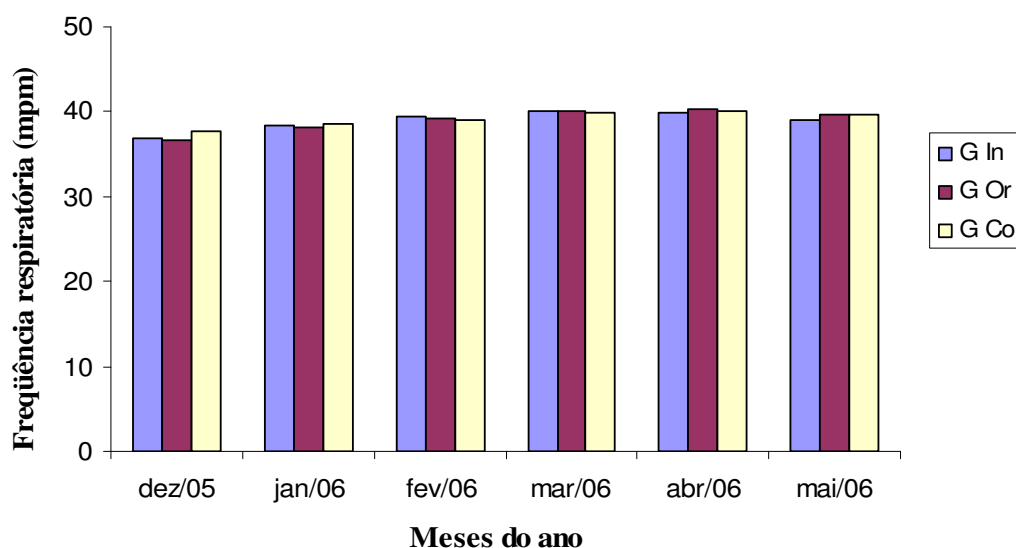


FIGURA 15 - Média da frequência respiratória de machos suínos, de acordo com os meses do ano, em um período de 6 meses, no município de Palotina, PR.

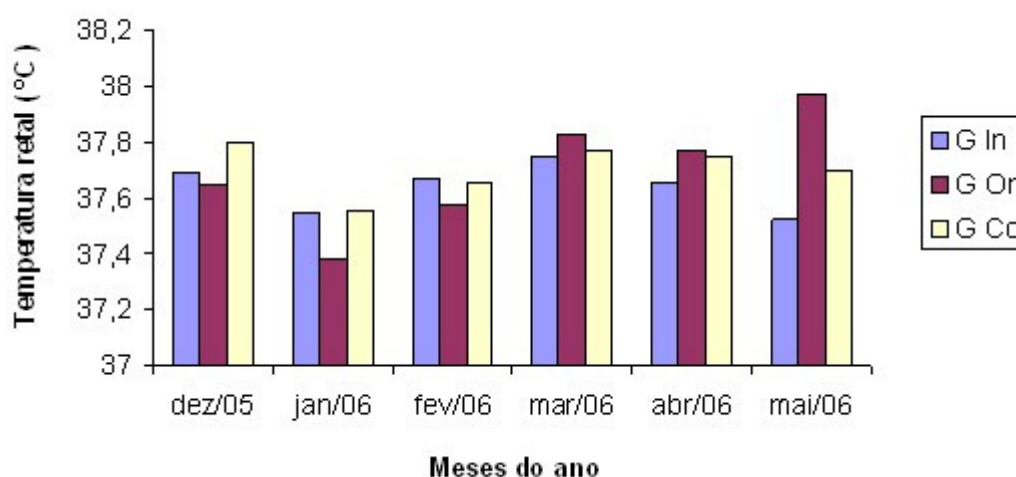


FIGURA 16 - Média da temperatura retal (°C) de machos suínos, de acordo com os meses do ano, em um período de 6 meses ( $p > 0,05$ ), no município de Palotina, PR.

O cálculo da análise de variância da frequência respiratória e temperatura corporal entre os três grupos não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ).

Na condição à qual os animais foram submetidos não se observou aumento da frequência respiratória dos animais, o que não está de acordo com o que WETTEMANN et al. (1979) verificaram, visto que estes autores observaram aumento na frequência respiratória em animais expostos a temperaturas superiores a 30°C durante o período de 24 horas. Porém, estes resultados foram observados quando os animais foram expostos a elevadas temperaturas durante um período pré-determinado, o que não ocorreu na situação de estresse térmico normal à qual os animais foram expostos nesse experimento, onde havia oscilação de temperatura normal no decorrer do período de 24 horas.

#### 5.4 RELAÇÃO CUSTO/BENEFÍCIO DOS TRATAMENTOS

A dieta lactação apresenta um custo superior às demais dietas (Tab. 12), isto porque apresenta um teor superior de proteína, energia, macro e microminerais, em sua maioria, do que as dietas cuja formulação foi feita baseando-se nos requerimentos nutricionais de machos sexualmente ativos.

TABELA 12 - Custo das diferentes rações utilizadas para a alimentação dos machos suínos, em valor monetário

Ração	Valor Monetário (R\$)
Lactação	502,00 / ton de ração
Suplementação mineral na forma orgânica	494,43 / ton de ração
Suplementação mineral na forma inorgânica	489,20 / ton de ração

Os altos níveis energéticos encontrados em rações para fêmeas em lactação possuem efeito significativo sobre o número de células espermáticas, não tendo efeito, porém, sobre a viabilidade e fertilidade do esperma (TOKACH et al., 1996). Ao se fornecer uma dieta com teores nutricionais superiores aos necessários pelos animais, gera-se um excedente, que não é utilizado para crescimento, manutenção e reprodução, podendo levar à obesidade e a problemas físicos e reprodutivos (CLOSE e COLE, 2001 apud MACHADO). Machos obesos podem apresentar redução na libido (WILSON et al., 2004), sendo o excessivo peso corporal um dos principais fatores de descarte de machos (CORRÊA et al., 1999). Além disso, machos destinados à inseminação artificial têm um alto potencial de desenvolvimento muscular, com menor espessura de toucinho e, conseqüentemente maior propensão a problemas locomotores (HUGONIN, 2001), o que justifica a adoção de níveis energéticos inferiores na dieta formulada especificamente para machos quando comparado com os níveis energéticos de dietas formuladas para fêmeas em lactação.

As demais dietas apresentaram um valor próximo, sendo que a dieta com minerais na forma inorgânica, foi a que apresentou menor custo. A formulação de uma ração específica para reprodutores se justifica quando são mantidos diversos reprodutores como no caso de uma central de inseminação artificial (CORRÊA et al., 1999), e os benefícios apresentados na qualidade seminal dos machos, ao serem alimentados com uma dieta contendo minerais na forma orgânica, compensam o seu valor mais elevado.

## 6 CONCLUSÕES

A exposição dos machos suínos a elevadas temperaturas ambientais apresentou influência negativa na qualidade do sêmen, manifestada por redução do número de espermatozóides normais e aumento dos defeitos morfológicos (gota plasmática proximal, gota plasmática distal e defeitos de cauda) nos três grupos de animais submetidos ao teste (GOr, GIn e GCo). Apenas os animais do grupo GOr não apresentaram diferença significativa entre o período antes da exposição a elevadas temperaturas e após a exposição, para estas características.

O grupo GOr apresentou volume de sêmen superior ao GCo, motilidade e concentração superiores ao GIn e média de espermatozóides normais superior aos outros dois tratamentos.

Os níveis de corticóides fecais apresentaram um comportamento semelhante para os três grupos, o que demonstra que os minerais orgânicos não alteraram a resposta adrenocortical aos agentes estressores aos quais os animais foram submetidos.

Nas condições experimentais, não houve influência dos diferentes tratamentos sobre a frequência respiratória e a temperatura retal.

A suplementação com minerais orgânicos é benéfica no que diz respeito à qualidade do sêmen e à redução dos efeitos negativos das altas temperaturas ambientais as quais os suínos são submetidos em condições tropicais de criação.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIPECS – Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína. Disponível em <[http://www.abipecs.com.br/m\\_i\\_estados.php](http://www.abipecs.com.br/m_i_estados.php)>. Acesso em 8 jun. 2005.

ANDERSON, R. A. Stress effects on chromium nutrition of humans and farm animals. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY. 1994, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 10th Annual Symposium**, Nottingham, United Kingdom, 1994, p. 267-274.

ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J. S.; SOUZA, G. S.; BONA FILHO, A. Os Minerais na Nutrição Animal. In: ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J. S.; SOUZA, G. S.; BONA FILHO, A. **Nutrição Animal – As Bases e os Fundamentos da Nutrição Animal**. 6. ed. São Paulo: Nobel, 1999, p. 173-258.

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

AX, R. L.; DALLY, M.; DIDION, B. A.; LENZ, R. W.; LOVE, C. C.; VARNER, D. D.; HAFEZ, B.; BELLIN, M. E. Semen evaluation. In: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reproduction in Farm Animals**. 7. ed., 2004, p. 365.

BECKER, B. A.; CHRISTENSON, R. K.; FORD, J. J.; NIENABER, J. A.; DeSHAZER, J. A.; HAHN, G. L. Adrenal and behavioral responses of swine restricted to varying degrees of mobility. **Physiology & Behavior**. v. 45, p. 1171-1176, 1989.

BLACK, J. L.; MULLAN, B. P.; LORSCHY, M. L.; GILES, L. R. Lactation in the sow during heat stress. **Livestock Production Science**, v. 35, p. 153-170, 1992.

BONET, S. Immature and aberrant spermatozoa in the ejaculate of *Sus domesticus*. **Animal Reproduction Science**, v. 22, p. 67-80, 1990.

BORG, K. E.; LUNSTRA, D. D.; CHRISTENSON, R. K. Semen characteristics, testicular size, and reproductive hormone concentration in mature Duroc, Meishan, Fengijing, and Minzhu boars. **Biology of Reproduction**, v. 49, n. 4, p. 515-521, 1993.

BRANDT, G., WENTZ, I., BORTOLOZZO, F.P., HECK, A.; BONNEMANN, P.E.; GUIDONI, A.L.; UEMOTO, D.A. Efeito da temperatura corporal sobre a eficiência reprodutiva da fêmea suína. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. 1995, Blumenau, SC. **Anais...** Concórdia : ABRAVES e EMBRAPA Suínos e Aves, 1995, 415p. p.129.

BREUNER, C. W.; ORCHINIK, M. Plasma binding proteins as mediators of corticosteroid in vertebrates. **Journal of Endocrinology**, v. 175. p. 99-112, 2002.

BRINSKO, S. P. Fisiologia reprodutiva do macho. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p. 433.

BROOM, D. M.; MOLENTO, C. F. M. Bem-estar animal: Conceito e questões relacionadas – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 2, p. 1-11, 2004.

BURTON, J.L.; MALLARD, B. A.; MOWAT, D. N. Effects of supplemental chromium on immune response of periparturient and early lactation dairy cows. **Journal of Animal Science**. v. 71, p. 417-419, 1993.

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

CAMERON, R.D.A. Sexual Development and semen production in boars. **Pig News Inf.** v. 8, n. 4. 1987.

CARRIÓN, D.; MEDEL, P. Interacción Nutrición Reproducción en Ganado Porcino. In: **XVII Curso de Especialización FEDNA: AVANCES EN NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL**, 2001, Madrid, Espanha, p. 27-70.

CBRA, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal / **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2. ed. Belo Horizonte: 1998. p. 38

CHANG, X.; MOWAT, D. N. Supplemental chromium for stressed and growing feeder calves. **Journal of Animal Science**. v. 70, p. 559-565, 1992.

CHENOWETH, P. J. Genetic sperm defects. **Theriogenology**. V. 64, p. 457-468, 2005.

CLAUS, R.; WEILER, U.; WAGNER, H. G. Photoperiodic influences on reproduction of domestic boars. II. Light influences on semen characteristics and libido. **Journal of Veterinary Medicine Series A**. v. 32, p. 99-109, 1985.

CLOSE W. Organic minerals for pigs: an update. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 1999, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 15th Annual Symposium**, Nottingham, United Kingdom. 1999, p.51-60.

CLOSE, W. The role of trace mineral proteinates in pig nutrition. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 1998, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 14th Annual Symposium**, Nottingham, United Kingdom, 1998, p.15.

CLOSE, W. H. Producing pigs without antibiotic growth promoters. **Advances in Pork Production**, v. 11, p. 47, 2000.

COLLIN, A.; van MILGEN J.; DUBOIS, S.; NOBLET, J. Effect of high temperature on feeding behaviour and heat production in group-housed young pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 86, p. 63-70, 2001.

CORCUERA, B. D.; HERNÁNDEZ-GIL, R.; ROMERO, C. A.; RILLO, S. M. Relationship of environment temperature and boar facilities with seminal quality. **Livestock Production Science**. v. 1, p. 55-62, 2002.

CORRÊA, M. N.; VIVIAN, J. C.; XAVIER, E. G.; ROLL, V. F. B.; CORRÊA, E. K.; DESCHAMPS, J. C. Manejo Reprodutivo de Machos Suínos. Disponível em: <[http://www.ufpel.tche.br/pigpel/publicacoes/1999/1999\\_12.pdf](http://www.ufpel.tche.br/pigpel/publicacoes/1999/1999_12.pdf) >. Acesso em: 19 abr. 2006.

D'SOUZA, D. N.; MULLAN, B. P. Dietary nutrient supplements improve meat quality. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 1998, Nottingham. UK. **Proceedings of Alltech's 14th Annual Symposium**, Nottingham, United Kingdom, 1998, 11p.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Anatomia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997, 663p.

EDWARDS, R.L., OMTVEDT, I.T., TURMAN, E.J., STEPHENS, D.F.; MAHONEY, G.W.A. Reproductive performance of gilts following heat stress prior to breeding and in early gestation. **Journal of Animal Science**, v.27, p.1634-1637, 1968.

EINARSSON, S., MADEJ, A., TSUMA, V. The influence of stress on early pregnancy in the pig. **Animal Reproduction Science**, v.42, p.165-172, 1996.

FEITSMA, H.; BERGSMA, R.; LAAR, A. V. D. Effect of morphological abnormal sperm cells on farrowing rate and litter size in pigs. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PIG REPRODUCTION, 2005, Kerkrade. **Anais...** Kerkrade, Netherlands, 2005, 90p.

FERIN, M. Stress and the reproductive cycle. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 84, p. 1768-1774, 1998.

FERREIRA, F. M.; SCHEID, I. R.; WENTZ, I.; AFONSO, S. B.; IRGANG, R.; GUIDONI, A. L.; BORTOLOZZO, F. P. Sexual function in young boars with different daily gain. II. Effect of intensive frequency of semen collection. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 14, 1996, Bologna, Italia. **Anais...** Bologna : IPVS, 1996. p.608.

FERREIRA, F. M.; WENTZ, I.; SCHEID, I. R.; AFONSO, S. B.; LOURENÇO, GUIDONI, A. L.; BORTOLOZZO, F. P. Comportamento sexual e características seminais de suínos jovens com diferentes desempenhos de crescimento. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 30, p. 173-177, 2002.

FLOWERS, W. L. Management of boars for efficient semen production. **Journal of Reproduction Fertility Suppl**. v. 52, p. 67-78, 1997.

FOOTE, R. H. Factors influencing the quantity and quality of semen harvested from bulls, rams, boars and stallions. **Journal of Animal Science**, v. 2, p. 1-11, 1978.

FRANÇA, L. R.; AVELAR, G. F.; ALMEIDA, F. F. L. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. **Theriogenology**, v. 63, p. 300-318, 2005.

FRANDSON, R. D.; LEE WILKE, W.; FAILS, A. D. **Anatomia e Fisiologia dos Animais de Fazenda**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 454 p. p. 188, 2005.

FRASER, A. F.; BROOM, D. M. **Farm animal behaviour and welfare**. Wallingford: CAB International, 448 p., 1990.

FUQUAY, J. W. Heat stress as it affects animal production. **Journal of Animal Science**, v. 52, n. 1, p. 164-172, 1981.

GADEA, J. Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. **Theriogenology**, v. 63, p. 431-444, 2005.

GARNER, D. L.; HAFEZ, E. S. E. Espermatozóides e Plasma Seminal. In: HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 6. ed. São Paulo : Editora Manole, 1995, p.167-190.

GRAHAM L.; SCHWARZENBERGER F.; MÖSTL E.; GALAMA W.; SAVAGE A. A versatile enzyme immunoassay for the determination of progesterones in feces and serum. **Zoo Biology**, v. 20, p. 227 – 236, 2001.

GRECO, D.; STABENFELDT, G. H. Endocrinologia. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p.333.

GUAN, S.; MATTE, J. J.; KU, P. K.; SNOW, J. L.; BURTON, J. L.; TROTTIER, N. L. High chromium yeast supplementation improves glucose tolerance in pigs by decreasing hepatic extraction of insulin. **American Society of Nutritional Sciences**. v. 130, p. 1274-1279, 2000.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 6. ed. São Paulo: Editora Manole, 1995, p. 582.

HANCOCK, J. L. V. The morphology of boar spermatozoa. **Journal Royal Microsc. Soc.**, v. 76, n. 3, p. 84-97, 1957.

HANSEN, D. G. Manejo del verraco destinado a la inseminación artificial: factores que afectan la fertilidad. In: 4º SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA, 1999, São Paulo, SP. **Anais...** 146p. p.77.

HEIM, G.; RICHTER, J. B.; BERNARDI, M. L.; BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I. Prevalência de alterações morfológicas de amostras de sêmen suíno. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 2005, Fortaleza, CE. **Anais...** 576p. p. 283.

HENMAN, D. Organic mineral supplements in pig nutrition: performance and meat quality, reproduction and environmental responses. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 2001, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium**, Nottingham, United Kingdom. 2001, 297-304p.

HENNESSY, D.P.; WILLIAMSON, P. The effects of stress and of ACTH administration in hormone profiles, oestrus and ovulation in pigs. **Theriogenology**, v.20, p.13-26, 1983.

HESKETH, J. E. Effects of dietary zinc deficiency on Leydig cell ultrastructure in the boar. **Journal of Comparative Pathology**, v. 92, p. 239-247, 1982.

HOAGLAND, T.A.; WETTEMANN, R.P. Influence of elevated ambient temperature after breeding on plasma corticoids, estradiol and progesterone in gilts. **Theriogenology**, v.22, p.15-24, 1984.

HUANG, S. Y.; KUO, Y. H.; LEE, Y. P.; TSOU, H.L.; LIN, E.C.; JU, C.C.; LEE, W.C. Association of heat shock protein 70 with semen quality in boar. **Animal Reproduction Science**, v. 3-4, p. 231-240, 2000.

HUGONIN, L. Avanços tecnológicos na nutrição de machos reprodutores suínos. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO DA SUINOCULTURA, 9, 2001. Gramado, RS. **Anais...** Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves, 2001, p.98.

INMET, Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/>> . Acesso em 1 out. 2004.

JACQUES, K. A. Selenium metabolism in animals: the relationship between dietary selenium form and physiological response. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 2001, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium**, Nottingham, United Kingdom. 319-348p.

JAINUDEEN, M. R.; HAFEZ, E. S. E. Distúrbios reprodutivos nos machos. In: HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 6. ed. São Paulo: Editora Manole, 1995, p. 582, 296p.

KEMP, B.; VERSTEGEN, N. W. A. Nutrition and sperm production. **Reproduction in Domestic Animals**, Neutadt, v. 12, n. 2, p. 287-296, 1991.

KENNEDY, B. W.; WILKINS, J. N. Boar, breed and environmental factors influencing semen characteristics of boars used in artificial insemination. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 64, p. 833-843, 1984.

KRAUSE, D. Untersuchungen am Bullensperma unter Berücksichtigung der fertilitätsdiagnostischen Bedeutung der Befunde. 1966, Hannover, Tierärztl. Hochschule, Habilschr. 42-72p.

KUNAVONGKRIT, A; PRATEEP, P. Influence of ambient temperature on reproductive efficiency in pigs: boar semen quality. **Pig Journal**, v. 35, p. 43-47, 1995.

KUNAVONGKRIT, A.; SURIYASOMBOON, A.; LUNDEHEIM, N.; HEARD, T. W.; EINARSSON, S. Management and sperm production of boars under differing environmental conditions. **Theriogenology**, v. 63, p. 657-667, 2005.

LARSSON, K.; EINARSSON, S. Seminal changes in boars after heat stress. **Acta Vet Scan**, v. 25, p. 57-66, 1984.

LINDEMANN, M. D. Organic chromium – The missing link in farm animal nutrition In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 1996, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 12th Annual Symposium**, Nottingham, United Kingdom. 1996, 299-314p.

LINDEMANN, M. D. Organic chromium – an exciting beginning, a promising future. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 1998, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 14th Annual Symposium**, Nottingham, United Kingdom. 1998, 11p.

LOUIS, G. F.; LEWIS, A. J.; WELDON, W. C.; MILLER, P. S.; KITTOK, R. J.; STROUP, W. W. The effect of protein intake on boar libido, semen characteristics, and plasma hormone concentrations. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2038-2050, 1994.

MACHADO FILHO, L. C. P.; HÖTZEL, M. J. Bem estar dos suínos. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA, 5., 2000, São Paulo, SP. **Anais...** Concórdia : EMBRAPA Suínos e Aves, 2000, 70-82p.

MACHADO, G. S. Novos Conceitos na Nutrição dos Machos Reprodutores. **Suínos & Cia.**, nº 4, p. 28-33, 2003.

MAHAN, D.; ZAWADZKI, J.; GUERRERO, R. Mineral metabolism and boar fertility: observations from Latin America to Europe. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 2002, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 18th Annual Symposium**, Nottingham, United Kingdom. 407-414p.

MALMGREN, L. Experimentally induced testicular alteration in boars. Tese, Swedish University of Agricultural Science, Uppsala, Suécia, 1988, 20p.

MALMGRAN, L; LARSSON, K. Semen quality and fertility after heat stress in boars. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.25, p. 425-435, 1984.

MANTECA, x.; GASA, j. bienestar y nutrición de cerdas reproductoras. In: **XXI Curso de Especialización FEDNA**. 2005, Madrid, Espanha, p. 215 – 236

MARIN-GUZMAN, J.; MAHAN, D. C.; CHUNG, K.; PATE, J. L.; POPE, W. F. Effects of dietary selenium and vitamin E on boar performance and tissue responses, semen quality, and subsequent fertilization rates in mature gilts. **Journal of Animal Science**. v. 75, p. 2996–3003, 1997.

MARIN-GUZMAN, J.; MAHAN, D. C.; PATE, J. I. Effects of dietary selenium and vitamin E on spermatogenic development in boars. **Journal of Animal Science**. v. 78, p. 1537-1543, 2000a.

MARIN-GUZMAN, J.; MAHAN, D. C.; WHITMOYER, R. Effect of dietary selenium and vitamin E on the ultrastructure and ATP concentration of boar spermatozoa, and the efficacy of added sodium selenite in extended semen on sperm motility. **Journal of Animal Science**. v. 78, p. 1544-1550, 2000b.

MARTINEZ, C. P.; CORCUERA, U. B. D. Análise de sêmen: importância nos resultados reprodutivos. **Suínos & Cia.**, nº 13, 11-17p, 2005.

MCNITT, J. I.; TANNER, C. B.; FIRST, N. L. Thermoregulation in the scrotal system of the boar. I. Temperature distribution. **Journal of Animal Science**, v. 34, n. 1, p. 112-116, 1972.

MIES FILHO, A. Fisiologia do aparelho genital masculino. Função espermatogênica e função endócrina do testículo. In: MIES FILHO, A. **Reprodução dos Animais e Inseminação Artificial**. 3. ed. Porto Alegre: Sulina, 1975, p.99.

MILLETTE, C. F. Spermatozoa. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. **Encyclopedia of Reproduction**. San Diego: Academic Press, v. 4. p. 586-596, 1998.

MORDENTI, A.; PIVA, A.; PIVA, G. The European perspective on organic chromium in animal nutrition, In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 1997, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 13th Annual Symposium, Nottingham**, United Kingdom. 1997, 227-240p.

MÖSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress. **Domestic Animal Endocrinology**. v. 23, p. 67-74, 2002.

MOWAT, D. N. Organic chromium: a new nutrient for stressed animals. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 1993, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 9th Annual Symposium**, Nottingham, United Kingdom. 1993, 275-282p.

NRC, **Nutrient Requirements of Swine**. 10 ed. National Research Council, 1998.

OLIVEIRA, P. A. V.; PAULO, R. M.; TINÔCO, I. F. F. Efeito da temperatura no desempenho zootécnico de suínos em crescimento e terminação nos sistemas de camas sobrepostas e piso concretado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, X., 2003. **Anais...** Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves, 2003, p. 401.

PAGAN, J. D.; JACKSON, S. G.; DUREN, S. E. The effect of chromium supplementation on metabolic response to exercise in Thoroughbred horses. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 1995, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 13th Annual Symposium**, Nottingham, United Kingdom. 1995, 249-256p.

PERDOMO, C.C.; KOZEN, E.A.; SOBESTIANSKY, J.; SILVA, A.P.; CORREA, N.I. Considerações sobre edificações para suínos. In: CURSO DE ATUALIZAÇÃO SOBRE A PRODUÇÃO DE SUÍNOS, 4., 1985, Concórdia, SC. **Anais...** Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves, 1985.

POWER, R.; HORGAN, K. Biological chemistry and absorption of inorganic and organic trace metals In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 2000, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 16th Annual Symposium, Nottingham**, United Kingdom. 2000, 277-291p.

PRUNIER, A.; QUESNEL, H.; BRAGANÇA, M.M.; KERMABON. Environmental and seasonal influences on the return-to-oestrus after weaning in primiparous sows: a review. **Livestock Production Science**. v. 45, p. 103-110, 1996.

PRUNIER, A.; BRAGANÇA, M.M.; DIVIDICH, J.L. Influence of high ambient temperature on performance of reproductive sows. **Livestock Production Science**. v. 52, p. 123-133, 1997.

QUINIOU, N.; NOBLET, J.; van MILGEN, J.; DUBOIS, S. Modeling heat production and energy balance in group-housed growing pigs exposed to cold or hot ambient temperatures. **British Journal of Nutrition**, v. 85, p. 97-106, 2001.

RADOSTITS, O. M.; MAYHEW, I. G. J.; HOUSTON, D. M. **Exame Clínico e Diagnóstico em Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

RINALDO, D.; LE DIVIDICH, J.; NOBLET, J. Adverse effects of tropical climate on voluntary feed intake and performance of growing pigs. **Livestock Production Science**, v. 66, p. 223-234, 2000.

RIVERA, M. M.; QUINTERO-MORENO, A.; BARRERA, X.; PALOMO, M. J.; RIGAU, T.; RODRÍGUEZ-GIL, J. E. Natural Mediterranean photoperiod does not affect the main parameters of boar-semen quality analysis. **Theriogenology**, v. 64, p. 934-946, 2005.

ROBINSON, N. E. Homeostase – Termorregulação. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p. 579. p. 550.

ROZEBOOM, K.; SEE, T.; FLOWERS, B. Coping with seasonal infertility in the herd: part I, 2000. Disponível em: <[http://mark.asci.ncsu.edu/Swine\\_News/2000/sn\\_v2303.htm](http://mark.asci.ncsu.edu/Swine_News/2000/sn_v2303.htm)>. Acesso em 2 out. 2004.

SEAB, Secretaria da Agricultura e do Abastecimento. Disponível em: <<http://www.pr.gov.br/seab/deral/nppr.pdf>> e <http://www.pr.gov.br/seab/revista.pdf>. Acesso em 8 out. 2004.

SEREN, E.; MATTIOLI, M.; RENSIS, F. Effect of high temperatures on LH and cortisol secretion in ovariectomized sows. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, XI, 1988. **Proceedings of 11th ICAR**, Dublin, 1988, p. 417.

SILVEIRA, R. S.; SCHEID, I. Qualidade de sêmen no processo de inseminação artificial, 2003. Disponível em: <[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_artigos/artigos\\_v5s83u1k.html](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_artigos/artigos_v5s83u1k.html)> Acesso em 19 abr. 2006.

SMITS, R. J.; HENMAN, D. J. Practical experiences with Bioplexes in intensive pig production. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 2000, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 16th Annual Symposium, Nottingham**, United Kingdom. 2000, 293-300p.

STENN, H. A. M.; MOLENAAR, B. A. J. Heritability of and relation between boar fertility and fertility of daughters. In: ANNUAL MEETING OF THE STUDY COMMISSIONS, 33, 1983. **Anais...** Madrid: E.A.A.P., 1983. p. 256.

SURAI, P. F. Organic selenium: benefits to animals and humans, a biochemist's view. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 2000, Nottingham, UK. **Proceedings of Alltech's 16th Annual Symposium**, Nottingham, United Kingdom. 2000, 205-260p.

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

SURIYASOMBOON A.; LUNDEHEIM N.; KUNAVONGKRIT A.; EINARSSON S. Effect of temperature and humidity on sperm morphology in Duroc boars under different housing systems in Thailand. **Journal Veterinary Medicine Science**, v.67, p.777-785, 2005.

SURIYASOMBOON A.; LUNDEHEIM N.; KUNAVONGKRIT A.; EINARSSON S. Effect of temperature and humidity on reproductive performance of crossbred sows in Thailand. **Theriogenology**., v.65, p.606-628, 2006.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. Dukes – **Fisiologia dos animais domésticos**. 11ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856p. p.809.

TOKACH, M.; DRITZ, S.; GOODBAND, B.; NELSEN, J. Nutrition of the boar. **Proceedings of Swine Reproduction Symposium**. American College of Theriogenologists, Society for Theriogenology and American Association of Swine Practitioners. p. 42-49.1996.

TRUDEAU, V.; SANFORD, L. M. Effect of season and social environment on testis size and semen quality of the adult Landrace boar. **Journal of Animal Science**. v. 63, p. 1211-1219, 1986.

TURNER, R. M. Moving to the beat: a review of mammalian sperm motility regulation. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 18, p. 25-38, 2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. SAEG; **Sistema de análises estatísticas e genéticas : manual do usuário**. Versão 7.1. 1998. Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

van HEUGTEN, E.; SPEARS, J. W. Immune response and growth of stressed weanling pigs fed diets supplemented with organic or inorganic forms of chromium. **Journal of Animal Science**. v. 75, p. 409–416, 1997.

VASCONCELOS, A. M. M. A.; MORAES, G. V.; MOREIRA, I.; RILOLON, L. P.; MARTINS, E. N. Características espermáticas de sêmen resfriado de suíno e conservado em diferentes diluentes. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 30, p. 394-401, 2001.

WABERSKI, D.; MEDING, S.; DIRKSEN, G.; WEITZE, K. F.; LEIDING, C.; HAHN, R. Fertility of long-term-stored boar semen: Influence of extender (Androhep and Kiev), storage time and plasma droplets in the semen. **Animal Reproduction Science**. v. 36, p. 145-151, 1994.

WEITZE, K. F. Long term storage of extended boar semen. **Reproduction in Domestic Animals**, p. 231-253, 1991. Suplemento 1.

WENTZ, I.; BORTOLOZZO, L. F. Inseminação Artificial em Suínos. In: SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, I.; SILVEIRA, P. R. S.; SESTI, L. A. **Suinocultura Intensiva – Produção, Manejo e Saúde do Rebanho**. EMBRAPA, Brasília, p.214, 1998.

WETTEMANN, R.P.; WELLS, M.E.; OMTVEDT, I.T; POPE, C.E.; TURMAN, E.J. Influence of elevated ambient temperature on reproductive performance of boars. **Journal of Animal Science**. v. 42, p. 664–669, 1976.

WETTEMAN, R.P.; DESJARDINS, C. Testicular function in boars exposed to elevated ambient temperature. **Biology Reproduction**. v. 20, p. 235–241, 1979.

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 pig. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.33, p.199-208, 1985.

WILSON, M. E.; ROZEBOOM, K. J.; CRENSHAW, T. D. Boar Nutrition for Optimum Sperm Production. **Advances in Pork Production**, v. 15, p. 295-306, 2004.

## ANEXOS

### Anexo 1 - Trabalho enviado para publicação

O trabalho em anexo foi enviado para publicação na Revista Brasileira de Reprodução Animal, estando em tramitação para a publicação, conforme e-mail abaixo.

**Prezada Dra. Daiane Donin S,**

Agradecemos a pronta resposta em devolver a versão corrigida do trabalho “**Estresse térmico e suas conseqüências sobre as características do sêmen de machos suínos**”. Entretanto, o Corpo editorial acrescentou algumas sugestões que estamos encaminhando no documento em anexo (recurso comentários do Word). Como no pedido anterior, pedimos que as correções sejam feitas com letras azuis.

Anexo: **RB052 Spessato versão Dois corrigido pelo autor 21ago correções adicionais.doc**

Desde já agradecemos e aguardamos sua resposta.  
Atenciosamente,

**Dr. Marc Henry**  
Editor-Chefe da RBRA

CBRA - Colégio Brasileiro de Reprodução Animal  
Alameda das Princesas 1275  
31275-180 Belo Horizonte - MG

(31)3491-7122 fax:(31)3491-7025  
[www.cbra.org.br](http://www.cbra.org.br) [secretaria@cbra.org.br](mailto:secretaria@cbra.org.br)

As normas para a publicação na referida revista encontram-se ao final do artigo.

## Estresse térmico e suas conseqüências sobre as características do sêmen de machos suínos

*Thermal stress and its consequences on seminal characteristics of boars*

**Daiane Donin S.<sup>1</sup>, Rogério Heinemann, Nei Moreira**

Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Campus Palotina, Palotina, PR, Brasil

<sup>1</sup>Correspondência: [daianedonin@yahoo.com.br](mailto:daianedonin@yahoo.com.br)

### Resumo

O objetivo deste artigo foi revisar os aspectos relacionados ao estresse térmico tais como natureza, os locais envolvidos em sua resposta e os efeitos sobre machos suínos. Dentre os fatores desencadeantes, o calor e a umidade elevada destacam-se, pois podem resultar em estresse crônico, causando diminuição na ingestão de alimento e interferência na espermatogênese. Os suínos, por terem baixa tolerância ao calor, têm sua eficiência reprodutiva alterada nos períodos de elevada temperatura, o que é verificado por redução na quantidade e qualidade do sêmen, manifestada por ejaculados com menor motilidade, aumento na porcentagem de espermatozoides com defeitos morfológicos, produção reduzida de espermatozoides e menor volume do ejaculado.

**Palavras-chave:** estresse, calor, características de sêmen, suínos.

### Abstract

*This article aimed to review the aspects related to thermal stress such as nature, sites involved in response and its effects on boars. Amongst the causative factors, heat and high humidity are distinguished; therefore they can result in chronic stress, causing reduction in food intake and interference in spermatogenesis. Because of the low tolerance to heat, swine reproductive efficiency is modified in periods of high temperature, which is verified by reduction in the amount and quality of semen, revealed by ejaculates with lower motility, increase of sperm morphological defects, reduced number of spermatozoa and low ejaculate volume.*

**Keywords:** stress, heat, seminal characteristics, swine.

### Introdução

Considerando que, normalmente, os habitats não são estáticos, os animais devem adaptar-se a diferentes situações através de alterações fisiológicas, morfológicas e comportamentais. Os componentes imprevisíveis da vida causam um estado de emergência, que resulta em mudanças no perfil endócrino e metabólico do organismo, que permitem descrever uma reação estressante em termos fisiológicos (Möstl e Palme, 2002).

O estresse pode ser definido como uma reação do organismo a qualquer alteração do ambiente, numa tentativa de manter a homeostase e, no caso de estresse térmico, realizar a termorregulação (Fuquay, 1981; Machado Filho e Hötzel, 2000). Qualquer estímulo ambiental sobre um indivíduo que sobrecarregue seus sistemas de controle e reduza a sua adaptação ou tenha potencial para isto, resulta em estresse (Fraser e Broom, 1990).

Uma série de hormônios, entre eles o hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), glicocorticóides, catecolaminas e prolactina estão envolvidos na resposta ao estresse. A glândula adrenal tem um papel chave nas reações hormonais ao estresse, uma vez que está envolvida no eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HPA) (Fig. 1) e no sistema simpático-adreno-medular (Möstl e Palme, 2002).

A liberação central de hormônio liberador de corticotropina (CRH) resulta em ativação de componentes periféricos do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal, conduzindo ao aumento do ACTH e cortisol, bem como na ativação do sistema nervoso simpático com o aumento na liberação de glicose, frequência cardíaca e pressão sanguínea (Ferin, 1998).

As glândulas adrenais são divididas em duas regiões: cortical e medular. A primeira produz hormônios esteróides como o cortisol, corticosterona, esteróides sexuais e aldosterona. A segunda produz aminas como a noradrenalina e adrenalina. O único fator comum entre estes dois tecidos é que o conjunto de hormônios secretados por eles é importante para a adaptação às condições adversas do meio (estresse) (Greco e Stabenfeldt, 2004).

No córtex da adrenal podem ser identificadas três zonas ou regiões, zona glomerular, zona fasciculada e zona reticular, cada uma responsável pela secreção de um hormônio diferente. Os glicocorticóides (sobretudo o cortisol e a corticosterona) representam o principal produto de secreção tanto da zona fasciculada como da zona reticular, e o ACTH é o principal regulador de sua secreção, visto que as células-alvo primárias do ACTH são as células do córtex da adrenal. A secreção deste hormônio estimulante (ACTH) pela adeno-hipófise é estimulada por um hormônio hipotalâmico, CRH. Aumentos do ACTH são considerados um sinal clássico de estresse, e concentrações plasmáticas de ACTH ou cortisol frequentemente são utilizadas em conjuntos experimentais para avaliar o estresse geral infligido a um animal por qualquer estímulo físico ou emocional (Breuner e Orchinik, 2002; Frandson *et al.*, 2005).

Situações adversas disparam a resposta da adrenal, que resulta em um aumento na secreção de glicocorticóides e/ou catecolaminas. Estes aumentos representam os primeiros mecanismos de defesa do sistema endócrino para defender o organismo contra as condições estressantes, visto que os glicocorticóides aumentam a aptidão para a mobilização de energia e possível mudança comportamental (Breuner e Orchinik, 2002; Möstl e Palme, 2002).

Os glicocorticóides possuem muitos tecidos-alvo por todo o organismo. Em geral, seus efeitos sobre esses tecidos-alvo constituem uma resposta apropriada para contrabalancear estímulos estressantes, visto que aumentam a taxa de gliconeogênese (formação de glicose a partir de compostos não glicídicos) pelo fígado e aumentam a taxa de mobilização de ácidos graxos do tecido lipídico. Aliado a isto, a síntese protéica é reduzida na musculatura esquelética e a degradação protéica é aumentada, o que significa mais aminoácidos disponíveis para a gliconeogênese pelo fígado (Frandson *et al.*, 2005).

Porém, severo estresse crônico pode resultar em períodos de altas concentrações de cortisol, diminuindo a aptidão individual por causar imunossupressão e atrofia dos tecidos de defesa do organismo. Adicionalmente, o sucesso reprodutivo dos animais diminui e comportamentos estereotipados desenvolvem-se (Möstl e Palme, 2002).

O mecanismo que controla a atividade do pulso gerador de hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH) tem ligação com o eixo neuroendócrino adrenal. A primeira evidência deriva da observação de que a administração de CRH resulta em um imediato decréscimo na liberação pulsátil de GnRH e hormônio luteinizante (LH), o que permite concluir que um dos mecanismos pelo qual o estresse é inibidor do pulso de GnRH é pela ativação e liberação central de componentes neuroendócrinos do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (Ferin, 1998).

Os glicocorticóides apresentam um ritmo circadiano nos suínos, ou seja, variam de modo regular diariamente (Frandson *et al.*, 2005) o que faz com que, caso se deseje monitorar estes hormônios no sangue, seja necessário realizar coletas freqüentes para se obter o perfil durante 24 h. Como em suínos a coleta freqüente de sangue requer a contenção dos animais e é por si só um ato estressante, faz-se necessária um outro método para se realizar tal monitoramento. Uma alternativa é a utilização de métodos não invasivos como a dosagem de cortisol e seus metabólitos na urina, saliva, leite ou fezes. A obtenção de amostras de fezes e a dosagem da concentração de metabólitos de cortisol refletem a quantidade total de cortisol excretada, e apresenta como vantagem a facilidade de coleta e a ausência de estresse para os animais. Desta forma pode ser utilizada para mensurar metabólitos de esteróides fecais com segurança (Möstl e Palme, 2002).

### **Qual é a influência da temperatura como agente estressante?**

Calor e umidade elevada podem resultar em estresse crônico, especialmente se acompanhados por uma ampla flutuação da temperatura, resultando em diminuição na ingestão de alimento e interferência na espermatogênese (Kunavongkritt *et al.*, 2005). Considera-se que os animais estão expostos a estresse térmico quando a temperatura ambiente estiver acima da zona de conforto térmico e energia for gasta para manter a temperatura corporal (Black *et al.*, 1992). Por temperatura de conforto, entende-se aquela na qual se torna dispensável qualquer atividade metabólica por parte do animal para aquecer ou esfriar o corpo, na qual o metabolismo animal é mínimo (Oliveira *et al.*, 2003). Para os machos suínos a temperatura ideal, segundo Perdomo *et al.* (1985), situa-se entre 12 e 21°C, sendo a crítica inferior igual a 12°C e a crítica superior igual a 26°C.

Dentro da zona de conforto térmico, a energia da dieta é utilizada para crescimento, manutenção e atividade física. Abaixo desta temperatura, energia adicional é necessária para manter a homeotermia. Acima desta condição, todo calor produzido deve ser eliminado (Collin *et al.*, 2001).

Quando um animal homeotermo é exposto ao estresse pelo calor, a resposta inicial é a vasodilatação, que aumenta o fluxo sanguíneo na pele e nos membros. A resultante elevação da temperatura na pele e a projeção da temperatura central em direção aos membros aumenta o gradiente térmico entre a pele e o ambiente, resultando em uma maior perda de calor por irradiação e convecção. Se apenas a vasodilatação for insuficiente para manter a temperatura normal, aumenta-se o resfriamento por evaporação, pela sudorese, pelo ofego, ou ambos. Este resfriamento evaporativo é o único processo de perda de calor disponível quando a temperatura ambiente excede a temperatura da pele (Robinson, 2004).

Nos suínos a tentativa de adaptação às elevadas temperaturas é feita pelo aumento da perda de calor por evaporação e redução da produção de calor para manter a temperatura corporal dentro de limites estreitos (Collin *et al.*, 2001). Porém, dentre todos os animais, os suínos, em especial, são suscetíveis a elevadas temperaturas devido a sua limitada capacidade de eliminação de calor corporal por evaporação (Einarsson *et al.*, 1996), visto que apresentam uma espessa camada de tecido adiposo subcutâneo, limitada capacidade de perda de calor por sudorese (Kunavongkrit *et al.*, 2005) pelo reduzido número de glândulas sudoríparas (Dyce *et al.*, 1997).

Como consequência, estes animais têm menor tolerância ao calor do que outros animais domésticos (Swenson e Reece, 1996), são suscetíveis à hipertermia quando expostos ao estresse pelo calor (Edwards *et al.*, 1968; Brandt *et al.*, 1995) e a principal forma de aclimação aos ambientes quentes ocorre pela redução da produção de calor, feita por meio da redução do consumo de alimento (Rinaldo *et al.*, 2000; Quiniou *et al.*, 2001).

A temperatura corporal normal dos suínos oscila entre 37,8 a 38,5°C e a frequência respiratória normal entre 15 a 25 movimentos por minuto (Radostits *et al.*, 2002). Em situação de estresse térmico ocorre aumento da frequência respiratória para acentuar a perda de calor por evaporação, visando compensar a perda mínima que ocorre por sudorese. Quando excede 40 movimentos por minuto, pode indicar estresse térmico (Rozeboom *et al.*, 2000).

Os animais também usam métodos comportamentais para resistir ao estresse pelo calor. Estes processos que incluem procurar locais sombreados, permanecer na água e chafurdar na lama, não estão disponíveis para os suínos criados de forma intensiva, o que agrava os problemas de estresse pelo calor (Robinson, 2004).

Embora os suínos procurem se adaptar às condições ambientais quando expostos a elevadas temperaturas pelo aumento rápido do cortisol, as concentrações deste hormônio retornam praticamente ao normal nas primeiras 72h após a exposição. Porém, se a temperatura for alta durante o dia e baixa durante a noite, a adaptação torna-se difícil. Diferenças entre as temperaturas diurnas e noturnas maiores do que 10°C (25-35°C) e uma umidade maior do que 90% irão desencadear estresse maior nos animais que não conseguem se adaptar a tais mudanças. Desta forma, flutuações na temperatura durante o dia e à noite podem significar um fator desencadeante de estresse para os machos durante as estações quentes do ano (Seren *et al.*, 1988).

### **Quais as consequências na performance reprodutiva de machos suínos?**

A temperatura é um dos importantes fatores ambientais que interfere com a reprodução. Temperaturas corporais elevadas, durante períodos de alta temperatura ambiente ou pirexia por doenças, levam à degeneração testicular e reduzem a porcentagem de espermatozóides normais e férteis na ejaculação (Jainudeen e Hafez, 1995). É o fator de maior importância na espermatogênese dos machos de qualquer espécie, e quando muito elevada (da ordem de 34,5°C) é prejudicial tanto às etapas de formação dos espermatozóides como àqueles elementos já formados e em trânsito pelo epidídimo (Mies Filho, 1975).

Elevada temperatura testicular resultante de incompleta deiscência dos testículos (criptorquidismo), alta temperatura ambiental ou inflamação, são prejudiciais para a espermatogênese em todos os mamíferos (Foote, 1978). Hansen (1999), Huang *et al.*, (2000) e Rozeboom *et al.* (2000) observaram diferenças significativas na qualidade do sêmen em relação às estações do ano, verificando que nas estações quentes a qualidade do sêmen declinou significativamente. Corcuera *et al.* (2002), ao analisarem doses de sêmen oriundas de machos adultos (2-3 anos) alojados em ambientes sem e com controle de temperatura, na Espanha, verificaram um efeito significativo da temperatura ambiental no controle da qualidade seminal nos machos, sendo que a motilidade e a porcentagem de acrossomas normais foram maiores em ambiente controlado.

No geral, o volume, a concentração e a porcentagem de espermatozóides móveis variam durante os meses do ano, observando-se no verão maior variação, sendo que a porcentagem de espermatozóides com anormalidades na cabeça e com gota plasmática proximal aumenta (Malmgren, 1988), e o volume de sêmen e o número total de espermatozóides por ejaculação diminuem (Jainudeen e Hafez, 1995).

Os principais fatores que afetam a morfologia espermática são temperatura elevada e umidade elevada, ocasionando redução no número de espermatozoides normais e aumento no número de espermatozoides com gota plasmática proximal e distal, e a combinação desses dois fatores é mais deletéria para a função testicular do que ambos agindo em separado (Suriyasomboon *et al.*, 2005, 2006).

Além da temperatura e umidade, Claus *et al.* (1985) relataram que a luminosidade e o fotoperíodo podem influenciar a qualidade espermática e a libido em machos, porém esta influência não é expressiva em países tropicais, nos quais há poucas mudanças na duração do fotoperíodo durante as diferentes estações, o que foi comprovado por Rivera *et al.* (2005), que verificaram que a mudança progressiva no ciclo luminoso induzida pelo fotoperíodo natural Mediterrâneo não afeta a qualidade do sêmen suíno ao longo do ano. Embora a duração do dia seja um pouco menor durante o inverno, a diferença não é significativa a ponto de influenciar na reprodução (Kunavongkrit *et al.*, 2005), o que implica que todas as mudanças observadas na qualidade do sêmen nas diferentes estações do ano são devido a outros fatores e não ao fotoperíodo (Rivera *et al.*, 2005).

A exposição de cachaços por períodos de 4 a 5 dias a temperaturas ambientais acima de 35°C e a variações diurnas que prevalecem nas regiões tropicais e subtropicais afeta a qualidade do sêmen, sendo os efeitos adversos evidentes 3 a 5 semanas mais tarde, particularmente na morfologia espermática (Cameron e Blackshaw, 1980). Este período decorrente entre o mecanismo estressante a sua consequência na qualidade do sêmen ocorre pelo fato de que ao longo dos testículos ocorre a transformação das espermatogônias em espermatozoides, em um ciclo que dura cerca de 35 dias, denominado de espermatogênese (Hafez, 1995).

Os efeitos do estresse térmico sobre a eficiência reprodutiva dos machos decorrem da redução na quantidade e qualidade do sêmen, verificada por ejaculados com menor motilidade, aumento na porcentagem de espermatozoides com defeitos morfológicos (Larsson e Einarsson, 1984) e produção reduzida de espermatozoides (McNitt *et al.*, 1972; Wettmann e Bazer, 1985; Trudeau e Sanford, 1986), além de menor volume total do ejaculado (Kunavongkrit e Prateep, 1995). Kunavongkrit *et al.* (2005) avaliaram o sêmen de machos suínos coletados em diferentes estações do ano na Tailândia e verificaram que o volume e a concentração do sêmen foram menores durante os meses de verão, atribuindo ao estresse devido às altas temperaturas a principal causa do problema, visto que pode induzir ao excesso de produção de corticosteróides. Uma das possíveis causas para as alterações seminais observadas é a mudança na atividade da enzima acrosina dos espermatozoides produzidos durante o período de elevadas temperaturas (Ciereszko *et al.*, 2000).

Alterações durante os meses do ano podem ser observadas no tipo de motilidade exibida pelos espermatozoides devido a mudanças metabólicas e/ou mudanças na atividade flagelar e no pH do sêmen fresco, atribuídas a alterações na produção de ácido láctico nos espermatozoides, e na função das glândulas vesiculares, verificada pela quantidade total de proteína e ácido cítrico no plasma seminal (Trudeau e Sanford, 1986). Isto ocorre porque o aumento da temperatura altera a atividade endócrina testicular, resultando em um efeito inibitório na maturação das espermátides e na biossíntese de andrógenos testiculares (androstenediona, testosterona e dihidrotestosterona) (Wettmann e Desjardins, 1979). A fertilidade de machos submetidos ao estresse térmico é reduzida, o que foi comprovado por Wettmann *et al.* (1976; 1979) que, ao realizarem experimento utilizando machos expostos à temperatura de conforto e machos submetidos a estresse térmico induzido, observaram que fêmeas cobertas ou inseminadas com sêmen de machos estressados apresentaram taxa de concepção consideravelmente inferior do que fêmeas cobertas ou inseminadas com sêmen de machos não estressados.

O organismo dos animais reage ao calor ou outro estresse qualquer pela indução ou aumento na síntese de um grupo único de proteínas comumente denominadas como “*heat shock proteins*” ou HSPs. Embora não se conheça exatamente a função destas proteínas, sabe-se que uma de suas funções é proteger os organismos contra impactos ambientais adversos, em especial a proteína HSP cujo peso molecular é 70 kDa (HSP70), que desempenha um importante papel em situação de termotolerância. Em situação de estresse térmico pode-se verificar uma redução nos níveis de HSP70 nos espermatozoides, o que indica que machos suínos não respondem eficientemente a altas temperaturas ambientais durante as estações quentes pelo aumento da expressão de HSP70. Desta forma pode-se correlacionar a quantidade desta proteína a qualidade do sêmen. Uma menor quantidade de HSP70 é associada a um sêmen de menor qualidade (Huang *et al.*, 2000).

Desta forma pode-se correlacionar a quantidade desta proteína e a qualidade do sêmen, de forma que uma menor quantidade dela reflete em sêmen de menor qualidade (Huang *et al.*, 2000).

Desta forma pode-se correlacionar a quantidade desta proteína a qualidade do sêmen. Uma menor quantidade de HSP70 é associada a um sêmen de menor qualidade (HUANG *et al.*, 2000).

Segundo Hoagland e Wettemann (1984), a redução na eficiência reprodutiva associada ao estresse térmico deve ser decorrente de um efeito direto do aumento da temperatura nos gametas, embriões ou na função uterina, ou um efeito indireto por alterações no sistema endócrino. Desta forma, o transporte de gametas e embriões no trato reprodutivo, as secreções uterinas ou o desenvolvimento dos conceptos podem ser influenciados. A alteração no mecanismo endócrino é explicada por Prunier *et al.* (1996; 1997), pela drástica redução do apetite que ocorre em ambientes de elevada temperatura, que representa uma eficiente estratégia usada pelo organismo para reduzir a produção de calor.

Estudo feito por McNitt *et al.* (1972) demonstrou em varrões que a temperatura retal tem correlação direta com a temperatura testicular, de forma que uma simples medida da temperatura retal permite prever a temperatura dos tecidos testiculares com exatidão. Desta forma esta medida pode ser utilizada como parâmetro para estimar a temperatura testicular, que tem influência direta na espermatogênese.

Desta forma, conclui-se que o estresse devido à alta temperatura ambiental deve ser a principal causa dos problemas reprodutivos que podem ser verificados em machos suínos sexualmente ativos, uma vez que o estresse induz a excessiva produção de corticóides (Seren *et al.*, 1988). Hennessy e Williamson (1983) verificaram que a análise de corticóides é importante, pois existem evidências da relação entre as concentrações de corticóides no plasma e os eventos estressantes pelos quais os animais passam, e também com os distúrbios no ciclo reprodutivo.

### Referências

- Black JL, Mullan BP, Lorsch ML, Giles LR** Lactation in the sow during heat stress. *Liv Prod Sci*, v.35, p.153-170, 1992.
- Brandt G, Wentz I, Bortolozzo FP, Heck A, Bonnemann PE, Guidoni AL, Uemoto DA.** Efeito da temperatura corporal sobre a eficiência reprodutiva da fêmea suína. *In: Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos*. 1995, Blumenau, SC. *Anais... Concórdia: ABRAVES, EMBRAPA Suínos e Aves*, 1995. p.129.
- Breuner CW, Orchinik M.** Plasma binding proteins as mediators of corticosteroid in vertebrates. *J Endocrinol*, v.175, p.99-112, 2002.
- Cameron RDA, Blackshaw AW.** The effect of elevated ambient temperature on spermatogenesis in the boar. *J Reprod Fertil*, v.59, p.173-179, 1980.
- Ciereszko A, Ottobre JS, Glogowski J.** Effects of season and breed on sperm acrosin activity and semen quality of boars. *Anim Reprod Sci*, v.64, p.89-96, 2000.
- Claus R, Weiler U, Wagner HG.** Photoperiodic influences on reproduction of domestic boars. II. Light influences on semen characteristics and libido. *J Vet Med Ser A*. v.32, p. 99-109, 1985.
- Collin A, van Milgen J, Dubois S, Noblet J.** Effect of high temperature on feeding behaviour and heat production in group-housed young pigs. *Br J Nutr*, v.86, p.63-70, 2001.
- Corcuera BD, Hernández-Gil R, Romero CA, Rillo SM.** Relationship of environment temperature and boar facilities with seminal quality. *Liv Prod Sci*, v.74, p.55-62, 2002.
- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG.** *Anatomia veterinária*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 663p.
- Edwards RL, Omtvedt IT, Turman EJ, Stephens DF, Mahoney GWA.** Reproductive performance of gilts following heat stress prior to breeding and in early gestation. *J Anim Sci*, v.27, p.1634-1637, 1968.
- Einarsson S, Madej A, Tsuma V.** The influence of stress on early pregnancy in the pig. *Anim Reprod Sci*, v.42, p.165-172, 1996.
- Ferin M.** Stress and the reproductive cycle. *J Clin Endocrinol Metab*. v.84, p.1768-1774, 1998.
- Foote RH.** Factors influencing the quantity and quality of semen harvested from bulls, rams, boars and stallions. *J Anim Sci*, v.47, suppl.2, p.1-11, 1978.
- Frandsen RD, Lee Wilke W, Fails AD.** *Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.188,
- Fraser, A. F.; Broom, D. M.** *Farm animal behaviour and welfare*. Wallingford: CAB International, 1990. 448p.
- Fuquay JW.** Heat stress as it affects animal production. *J Anim Sci*, v.52, p.164-172, 1981.
- Greco D, Stabenfeldt GH.** Endocrinologia. *In: Cunningham JG. Tratado de fisiologia veterinária*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.333-380.
- Hafez ESE.** *Reprodução animal*. 6.ed. São Paulo: Manole, 1995. 582p.
- Hansen DG.** Manejo del verraco destinado a la inseminación artificial: factores que afectan la fertilidad. *In: Seminario Internacional de Suinocultura*, 4, 1999, São Paulo, SP. *Anais... Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves*, 1999. p.77.

- Hennessy DP, Williamson P.** The effects of stress and of ACTH administration in hormone profiles, oestrus and ovulation in pigs. *Theriogenology*, v.20, p.13-26, 1983.
- Hoagland TA, Wettemann RP.** Influence of elevated ambient temperature after breeding on plasma corticoids, estradiol and progesterone in gilts. *Theriogenology*, v.22, p.15-24, 1984.
- Huang SY, Kuo YH, Lee YP, Tsou HL, Lin EC, Ju CC, Lee WC.** Association of heat shock protein 70 with semen quality in boar. *Anim Reprod Sci*, v.63, p.231-240, 2000.
- Jainudeen MR, Hafez ESE.** Distúrbios reprodutivos nos machos. In: Hafez, ESE. *Reprodução animal*. 6.ed. São Paulo: Editora Manole, 1995. p.291-301.
- Kunavongkrit A, Prateep P.** Influence of ambient temperature on reproductive efficiency in pigs: boar semen quality. *Pig J*, v.35, p.43-47, 1995.
- Kunavongkrit A, Suriyasomboon A, Lundeheim N, Heard TW, Einarsson S.** Management and sperm production of boars under differing environmental conditions. *Theriogenology*, v.63, p.657-667, 2005.
- Larsson K, Einarsson S.** Seminal changes in boars after heat stress. *Acta Vet Scan*, v.25, p.57-66, 1984.
- Machado Filho LCP, Hötzel MJ.** Bem estar dos suínos. In: Seminário Internacional de Suinocultura, 5, 2000, São Paulo, SP. *Anais...* Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves, 2000. p.70-82.
- Malmgren L.** *Experimentally induced testicular alteration in boars*. 1988. 20f. Tese (doutorado) - Swedish University of Agricultural Science, Uppsala, Suécia, 1988.
- McNitt JI, Tanner CB, First NL.** Thermoregulation in the scrotal system of the boar. I. Temperature distribution. *J Anim Sci*, v.34, p.112-116, 1972.
- Mies Filho A.** Fisiologia do aparelho genital masculino: função espermatogênica e função endócrina do testículo. In: Mies Filho, A. *Reprodução dos animais e inseminação artificial*. 3.ed. Porto Alegre: Sulina, 1975, p.99-133.
- Möstl E, Palme R.** Hormones as indicators of stress. *Dom Anim Endocrinol*, v.23, p.67-74, 2002.
- Oliveira PAV, Paulo RM, Tinôco IFF.** Efeito da temperatura no desempenho zootécnico de suínos em crescimento e terminação nos sistemas de camas sobrepostas e piso concretado. In: Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos, 10, 2003, Concórdia, SC. *Anais...* Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves, 2003. p.401.
- Perdomo CC, Kozen EA, Sobestiansky J, Silva AP, Correa NI.** Considerações sobre edificações para suínos. In: Curso de Atualização sobre a Produção de Suínos, 4, 1985, Concórdia, SC. *Anais...* Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves. 1985.
- Prunier A, Bragança MM, Dividich JL.** Influence of high ambient temperature on performance of reproductive sows. *Liv Prod Sci*, v.52, p.123-133, 1997.
- Prunier A, Quesnel H, Bragança MM, Kermabon AY.** Environmental and seasonal influences on the return-to-oestrus after weaning in primiparous sows: a review. *Liv Prod Sci*, v.45, p.103-110, 1996.
- Quiniou N, Noblet J, van Milgen J, Dubois S.** Modeling heat production and energy balance in group-housed growing pigs exposed to cold or hot ambient temperatures. *Br J Nutr*, v.85, p.97-106, 2001.
- Radostits OM, Mayhew IGJ, Houston DM.** *Exame clínico e diagnóstico em veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- Rinaldo D, Le Dividich J, Noblet J.** Adverse effects of tropical climate on voluntary feed intake and performance of growing pigs. *Liv Prod Sci*, v.66, p.223-234, 2000.
- Rivera MM, Quintero-Moreno A, Barrera X, Palomo MJ, Rigau T, Rodríguez-Gil JE.** Natural Mediterranean photoperiod does not affect the main parameters of boar-semen quality analysis. *Theriogenology*, v.64, p.934-946, 2005.
- Robinson NE.** Homeostase – Termorregulação. In: Cunningham JG. *Tratado de fisiologia veterinária*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.550-560.
- Rozeboom K, See T, Flowers B.** Coping with seasonal infertility in the herd: part I. 2000. Disponível em: <[http://mark.asci.ncsu.edu/Swine\\_News/2000/sn\\_v2303.htm](http://mark.asci.ncsu.edu/Swine_News/2000/sn_v2303.htm)>. Acesso em 24 julho. 2006.
- Seren E, Mattioli M, Rensis F.** Effect of high temperatures on LH and cortisol secretion in ovariectomized sows. In: International Congress on Animal Reproduction, 11, 1988, Dublin. *Proceedings* ... Dublin: ICAR, 1988. p.417.
- Suriyasomboon A, Lundeheim N, Kunavongkrit A, Einarsson S.** Effect of temperature and humidity on reproductive performance of crossbred sows in Thailand. *Theriogenology*, v.65, p.606-628, 2006.
- Suriyasomboon A, Lundeheim N, Kunavongkrit A, Einarsson S.** Effect of temperature and humidity on sperm morphology in duroc boars under different housing systems in Thailand. *J Vet Med Sci*, v.67, p.777-785, 2005.
- Swenson MJ, Reece WO.** *Dukes fisiologia dos animais domésticos*. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.805-813.
- Trudeau V, Sanford LM.** Effect of season and social environment on testis size and semen quality of the adult Landrace boar. *J Anim Sci*, v.63, p.1211-1219, 1986.

**Wetteman RP, Bazer FW.** Influence of environmental temperature on prolificacy of pig. *J Reprod Fertil*, v.33, p.199-208, 1985.

**Wetteman RP, Desjardins C.** Testicular function in boars exposed to elevated ambient temperature. *Biol Reprod*, v.20, p.235-241, 1979.

**Wettemann RP, Wells ME, Johnson RK.** Reproductive characteristics of boars during and after exposure to increased ambient temperature. *J Anim Sci*, v.49, p.1501-1505, 1979.

**Wettemann RP, Wells ME, Omtvedt IT, Pope CE, Turman EJ.** Influence of elevated ambient temperature on reproductive performance of boars. *J Anim Sci*, v.42, p.664-669, 1976.

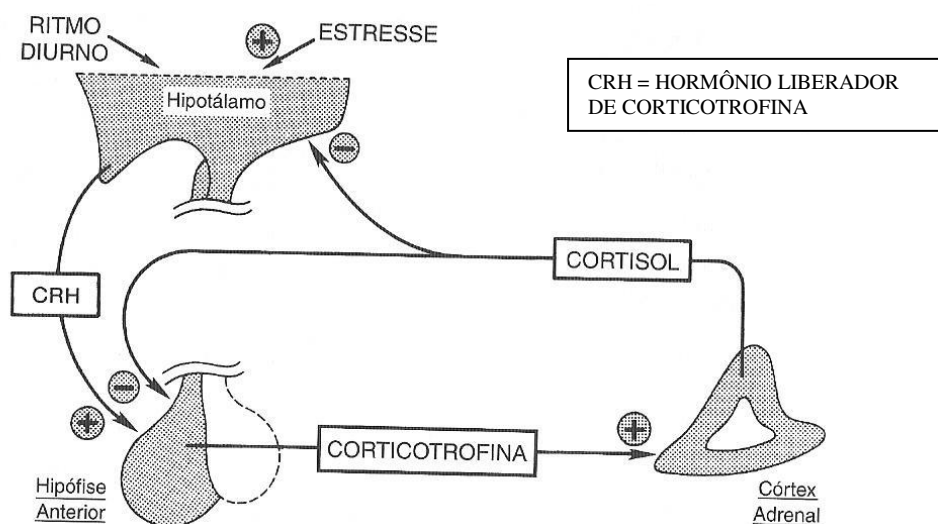


Figura 1. Regulação da secreção de cortisol pelo eixo hipotalâmico-hipofisário. Os sinais (+) indicam estimulação; os sinais (-) indicam inibição.

Fonte: Greco e Stabenfeldt (2004).

## NORMAS PARA A PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS NA REVISTA BRASILEIRA DE REPRODUÇÃO ANIMAL

### **Revista Brasileira de Reprodução Animal - Instruções aos autores**

A Revista Brasileira de Reprodução Animal destina-se à publicação de artigos técnicos, revisões, traduções autorizadas pelos autores, observações clínicas e informes gerais, tendo como enfoque principal a divulgação da ciência, notadamente em tópicos de interesse da reprodução animal.

A Revista Brasileira de Reprodução Animal, a partir do v.29 de 2005, é publicada exclusivamente on line e está disponível no website do CBRA (<http://www.cbra.org.br/publicações/rbra.do>)

Toda correspondência deverá ser encaminhada a: Dr. Rômulo Cerqueira Leite, Coordenador do Comitê Editorial  
Revista Brasileira de Reprodução Animal  
E-mail: [rbra@cbra.org.br](mailto:rbra@cbra.org.br)

Colégio Brasileiro de Reprodução Animal - CBRA  
Alameda das Princesas, 1275 - Bairro São José - 31275-180 Belo Horizonte - MG  
Fone: (031)491-7122 / Fax: (031)491-7025.  
E-mail: [cbra@cbra.org.br](mailto:cbra@cbra.org.br) e Website: <http://www.cbra.org.br>

### **Submissão de manuscritos**

- .: Todos os manuscritos devem ser originais e os direitos autorais transferidos à Revista Brasileira de Reprodução Animal.
- .: Os autores são inteiramente responsáveis pelos dados, conceitos e informações contidas nos artigos
- .: Os manuscritos devem ser encaminhados por e-mail, preferencialmente, ou por correio em CD-ROM legível por PC devidamente identificado. As ilustrações devem ser enviadas em arquivo separado.
- .: A redação do manuscrito deverá estar de acordo com a lexicologia e sintaxe do idioma português.

### **Unidades de medida. Abreviaturas e símbolos**

- .: As unidades de medida devem ser usadas de acordo com o Sistema Internacional de Unidades. As abreviaturas e símbolos devem ser evitados, exceto quando usar unidades padrão de medidas.

### **Processo de revisão**

- .: Os manuscritos serão submetidos a pelo menos dois relatores (referees) e retornarão aos autores para revisão de acordo com as sugestões dos relatores. O manuscrito revisado deverá ser enviado ao Editor.

### **Preparação do manuscrito**

**Texto e formato dos arquivos:** Digitar em folha A4 (21.0 x 29.7) com 3cm de margens, fonte Times New Roman 12, continuamente e sem formatação, com linhas numeradas consecutivamente e páginado. O arquivo eletrônico (.doc) deverá ser compatível Word for Windows (versão 6.0 ou superior).

### **Seções do manuscrito:**

Título  
Título em inglês  
Autor(es)

Endereço  
Resumo  
Palavras-chave  
Abstract  
Keywords  
Corpo do trabalho  
Referências bibliográficas  
Agradecimentos  
Tabelas  
Figuras

.: **Título:** O título deve ser sucinto mas representativo do conteúdo do manuscrito. As palavras do título deverão estar em negrito, com somente a primeira letra da primeira palavra em maiúsculo (exceto no caso de nomes próprios). As palavras serão escritas em letras minúsculas. Se o trabalho teve suporte financeiro e/ou é parte de tese ou dissertação, estes dados serão colocados no rodapé da página, sem chamada específica.

.: **Título em inglês:** Logo abaixo do título em português, entre parêntesis e substituindo-se o negrito por itálico.

.: **Autor(es):** Os nomes dos autores e colaboradores, virão abaixo do título, por extenso e destacando em itálico o sobrenome paterno, seguidos de chamadas na forma de expoentes em algarismos arábicos. Os endereços dos autores serão colocados logo abaixo do último autor, segundo a ordem das chamadas. É necessário indicar o e-mail do autor de contato.

.: **Resumo:** Narrativa do assunto do manuscrito, com seus principais resultados e conclusões, limitada a 100 palavras (750 caracteres com espaço) em um só parágrafo.

.: **Palavras-chave:** Palavras ou expressões que identificam o conteúdo do manuscrito, não ultrapassando o limite de quatro.

.: **Abstract:** Versão em inglês do Resumo.

.: **Keywords:** Versão em inglês das Palavras-chave.

.: **Corpo do trabalho:** Introdução, Desenvolvimento do assunto (obs.: Comentários finais/Conclusões aparecerão no(s) parágrafo(s) final(is), na seqüência do texto, sem título próprio).

.: **Agradecimentos:** Os agradecimentos deverão ser expressos com brevidade.

.: **Tabela:** Conjunto de dados alfanuméricos organizados em linhas e colunas. Serão construídas apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e ao final da tabela. Se houver necessidade de grupos de dados no corpo da tabela, salta-se uma linha em branco. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Tab., mesmo quando se referir a várias tabelas

.: **Figura:** Refere-se a qualquer ilustração constituída ou que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema, etc. As fotografias, no tamanho de 7,5 x 11,0 cm, devem ser bem nítidas e de bom contraste, indicando no verso a orientação para impressão (flecha para cima), nome do autor e a qual figura se refere. As legendas recebem inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Fig., mesmo se referir a mais de uma figura. Recomenda-se o envio das figuras em arquivo à parte, listando-se as respectivas legendas ao final do texto.

.: **Referências bibliográficas:** Adotam-se as normas da ABNT-NB-66 simplificadas.

**Citação no texto:** Indique a fonte entre parêntesis após a citação, para evitar a interrupção na seqüência do texto. No caso de nomes de autores que integrados no texto, a data de publicação é mencionada entre parêntesis, depois do nome do autor. Diversas referências para

mesma citação são listadas em ordem cronológica e havendo coincidência, usa-se a ordem alfabética de autor.

Exemplos: Dunne (1967), Morril (1967), Nutrient ... (1968), Lopes e Moreno (1974) Ferguson et al. (1979)). ou (Dunne, 1967; Morril, 1967; Nutrient ..., 1968; Lopes e Moreno, 1974; Ferguson et al., 1979).

**Lista de referências:** Referenciar somente trabalhos citados e publicados. Usar "no prelo" somente quanto houver aceite formal. As referências devem ser listadas em ordem alfabética.

*Periódicos*

**Anuário Estatístico do Brasil**, Rio de Janeiro: IBGE, v.48, 1987/88. p.351.

**Ferguson JA, Reeves WC, Hardy JL.** Studies on Immunity to alphaviruses in foals. Am J Vet Res, v.40, p.5-10, 1979.

**Holenweger JA, Tagle R, Wasserman A, Schim FA, Franckel S.** Anestesia geral del canino. Not Med Vet, n.1, p.13-20, 1984.

*Publicação avulsa:*

**Dunne HW** (Ed.). Enfermedades del cerdo, México: UTEHA, 1967.

**Lopes CAM, Moreno G.** Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 14, 1974, São Paulo. Anais ... São Paulo: CBMV, 1974. p.97. Resumo.

**Morril CC** Infecciones por clostrídios. In: Dunne, H.W. (ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

**Nutrient** requirements of swine, 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968, p.19-20.

**Silva NQ** Peritonioscopia na égua. 1971. 38f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte 1971.

*Documentos eletrônicos (Exemplos retirados da NBR 6023/agosto 2000):*

.: Documento publicado disponibilizado em meio eletrônico. Após a referência padrão do documento impresso, informar os elementos que identificam o tipo de acesso. Ex.:

**Arranjo** tributário. Diário do Nordeste On Line, Fortaleza, 27.nov.1998. Disponível em <http://www.diariodonordeste.com.br>>. Acesso em 28 nov. 1998.

**Guncho MR** A educação à distância e a biblioteca universitária. In: Seminário de Bibliotecas Universitárias, 10, 1998, Fortaleza. Anais ... Fortaleza: Tec Treina, 1998. 1CD.

**Política.** In: DICIONÁRIO da língua portuguesa. Lisboa: Priberam Informática, 1998. Disponível em <http://www.priberam.pt/dIDPLO>>. Acesso em 8 mar. 1999.

**Silva IG.** Pena de morte para o nascituro. O Estado de São Paulo, São Paulo, 19 set. 1998. Disponível em :[http://www.providafamilia.org/pena\\_morte\\_nascituro.htm](http://www.providafamilia.org/pena_morte_nascituro.htm)>. Acesso em 19.set. 1998.

**Silva RN, Oliveira R.** Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: Congresso de Iniciação Científica da UFPE, 4, 1996, Recife. Anais eletrônicos ... Recife: UFPE, 1996. Disponível em <http://www.prospeq.ufpe.br/anais/anais/educ/ce04.htm>. Acesso em 21 jan. 1997.

.: Documento de acesso exclusivo em meio eletrônico

**Birds** from Amapá; Banco de dados. Disponível em <http://www.bdt.org/bdt/avifauna/aves>. Acesso em 25 nov. 1998.

**Bioline** Discussion List. List maintained by the Bases de Dados Tropical, BDT, in Brasil. Disponível em: [lisserv@bdt.org.br](mailto:lisserv@bdt.org.br). Acesso em 25 nov. 1998.

**Civitas.** Coordenação de Simão Pedro p. Marinho. Desenvolvido pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, 1995-1998. Apresenta textos sobre urbanismo e desenvolvimento de cidades. Disponível em: [gcsnet.com.br/oamis/civitas](http://gcsnet.com.br/oamis/civitas)>. Acesso em 27 nov. 1998.

*Citação de citação (ABNT-NB 896)*

Somente a obra consultada no original deverá aparecer na lista de referências bibliográficas. No texto, serão citados o autor e a data do documento original, seguidos da expressão *citado*

por e do autor e data da obra consultada.

*Trabalhos não publicados (ABNT-NB 896)*

Não fazem parte da lista de referências bibliográficas. Mencionam-se em nota de rodapé os dados bibliográficos disponíveis. Por exemplo: (\*) Plano de urbanização do Morro do Pavão, de autoria de José de Souza Carvalho, executado através do Convênio TBAN/BCNF, 1978 (Em fase de elaboração).

*Informação verbal (ABNT-NBR 10520)*

Identificada apenas no texto. Após a informação, coloca-se a expressão (informação verbal).

**Informações complementares**

.: A reprodução e tradução de qualquer artigo para fins comerciais são proibidas, sendo que transcrição em outras revistas científicas deve ser precedida de anuência do editor.

[Janeiro, 2005; junho de 2005; Agosto de 2005]

.../RBRA eletrônica/Normas & Modelos/RBRA Eletrônica Instruções aos autores.doc

Alameda das Princesas, 1.275 - São José. CEP: 31275-180 - Belo Horizonte, MG - Brasil

Fone: (031) 491-7122 - Fax: (031) 491-7025

email: [cbra@cbra.org.br](mailto:cbra@cbra.org.br)