

**QUALIDADE DO SÊMEN DE VARRÕES  
ALIMENTADOS COM RAÇÕES CONTENDO  
DIFERENTES TIPOS DE ÓLEO**

**SILVIO LUIZ DE OLIVEIRA**

**2004**

**SILVIO LUIZ DE OLIVEIRA**

**QUALIDADE DO SÊMEN DE VARRÕES ALIMENTADOS COM  
RAÇÕES CONTENDO DIFERENTES TIPOS DE ÓLEO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como exigência do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de monogástrico, para a obtenção do título de “Doutor”.

**Orientador**  
**Prof. Dr. Elias Tadeu Fialho**

**LAVRAS**  
**MINAS GERAIS - BRASIL**  
**2004**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Oliveira, Silvio Luiz de

Qualidade do sêmen de varrões alimentados com rações contendo diferentes tipos de óleo / Silvio Luiz de Oliveira. -- Lavras: UFLA, 2004.  
74 p. : il.

Orientador: Elias Tadeu Fialho.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Varrões. 2. Qualidade do sêmen. 3. Óleo. 4. Características seminais. 5. Histologia testicular. I. Universidade Federal de Lavras.  
II. Título.

CDD - 633.40855

**SILVIO LUIZ DE OLIVEIRA**

**QUALIDADE DO SÊMEN DE VARRÕES ALIMENTADOS COM  
RAÇÕES CONTENDO DIFERENTES TIPOS DE ÓLEO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como exigência do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de monogástrico, para obtenção do título de “Doutor”.

**APROVADA em 30 de abril de 2004.**

Prof. Dr. José Augusto de Freitas – DZO/UFLA

Prof. Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas – DZO/UFLA

Prof. Dr. Luis David Solis Murgas – DMV/UFLA

Profa. Dra Maria Emília de Souza Gomes Pimenta – UNIFENAS

**Prof. Dr. Elias Tadeu Fialho  
UFLA  
(Orientador)**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL**

A Deus, pelas bênçãos, por estar sempre conosco e razão de nossas vidas

Aos meus pais, pelo infinito amor e por tudo que sou

Aos meus irmãos e sobrinhos, pela grande admiração

Aos amigos, pelo imenso prazer em viver que me proporcionam

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade concedida.

Ao Departamento de Zootecnia, por permitir a realização do Doutorado.

Ao Prof. Elias Tadeu Fialho, pela orientação e confiança ao longo do curso.

Ao Prof. Luis David Solis Murgas, pela amizade, segurança, apoio e orientação durante o curso e condução dos trabalhos realizados.

Aos professores José Augusto de Freitas Lima, Rilke Tadeu Fonseca de Freitas e Raimundo Vicente, pelas sugestões para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Antonio Gilberto Bertechini e empresa Uniquímica, pelo fornecimento do óleo utilizado no experimento.

À Profa. Maria Emília, pelo grande incentivo e colaboração.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos alunos José Neto, Giovani, Marcio Zangerônimo, Fernanda Corbeira, Vinícius (Caconde) e Patrícia Epyfania, pela inestimável colaboração na condução de experimentos e realização de análises laboratoriais.

Aos colegas de Pós-graduação em Zootecnia, pela oportunidade de amizade e grande contribuição para a condução dos trabalhos realizados.

Aos funcionários do Setor de Suinocultura e fábrica de ração, Hélio Rodrigues, Gilberto Alves e José Geraldo, pela grande contribuição na execução dos trabalhos.

Aos amigos, pelo incentivo na realização deste curso.

**MUITO OBRIGADO.**

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>i</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>vii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>3</b>
2.1 Ácidos graxos essenciais e seu metabolismo no organismo .....	3
2.2 Ácidos graxos essenciais na composição das biomembranas .....	10
2.3 Avaliação histológica dos testículos de suínos .....	16
2.4 Peroxidação de membranas celulares .....	18
2.5 Características seminais dos suínos .....	20
2.6 Sêmen suíno resfriado e congelado.....	23
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
3.1 Local, animais experimentais e tratamentos .....	27
3.2 Avaliação das características seminais dos suínos.....	28
3.3 Análise dos ácidos graxos.....	31
3.4 Sêmen resfriado .....	33
3.5 Sêmen congelado .....	34
3.6 Avaliação testicular histológica .....	36
3.7 Delineamento experimental e análise estatística.....	37
3.7.1 Parâmetros seminais .....	37
3.7.2 Histologia testicular .....	38
3.7.3 Perfil de ácidos graxos .....	39
3.7.4 Sêmen resfriado .....	40
3.7.5 Sêmen congelado .....	40
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>41</b>
4.1 Características seminais .....	41
4.2 Histologia testicular .....	51
4.3 Perfil de ácidos graxos dos espermatozóides.....	52
4.4 Parâmetros seminais após resfriamento .....	56
4.5 Parâmetros seminais após congelamento.....	59

<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>61</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>71</b>

## LISTA DE TABELAS

	<b>Pág.</b>
<b>TABELA 1.</b> Composição química dos ingredientes usados nas rações (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>28</b>
<b>TABELA 2.</b> Composição percentual das rações utilizadas no experimento (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>29</b>
<b>TABELA 3.</b> Composição química do diluente BTS (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>33</b>
<b>TABELA 4.</b> Diluente de refrigeração (D2), usado no congelamento do sêmen (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>35</b>
<b>TABELA 5.</b> Diluente de congelamento (D3), usado no congelamento do sêmen (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>35</b>
<b>TABELA 6.</b> Motilidade espermática total (%) dos ejaculados dos reprodutores recebendo diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>42</b>
<b>TABELA 7.</b> Vigor espermáticos dos ejaculados dos reprodutores recebendo diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>42</b>
<b>TABELA 8.</b> Valores médios para o volume (ml) do ejaculado dos suínos recebendo diferentes fontes de óleo na dieta (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>43</b>
<b>TABELA 9.</b> Valores médios para concentração espermática ( $\times 10^5/\text{mm}^3$ ) dos suínos recebendo diferentes fontes de óleo na dieta (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>44</b>

<b>TABELA 10.</b> Valores médios para o número total de células espermáticas ( $\times 10^9$ ) dos suínos recebendo diferentes fontes de óleo na dieta (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>45</b>
<b>TABELA 11.</b> Valores médios das alterações morfológicas totais (%) dos espermatozoides dos varrões recebendo suplementação de ácidos graxos nas dietas (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>46</b>
<b>TABELA 12.</b> Valores médios das alterações morfológicas da cabeça (%) dos espermatozoides dos varrões recebendo suplementação de ácidos graxos nas dietas (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>48</b>
<b>TABELA 13.</b> Valores médios das alterações morfológicas da cauda (%) dos espermatozoides dos varrões recebendo suplementação de ácidos graxos nas dietas (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>50</b>
<b>TABELA 14.</b> Valores médios das alterações morfológicas de gota proximal (%) dos espermatozoides dos varrões recebendo suplementação de ácidos graxos nas dietas (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>51</b>
<b>TABELA 15.</b> Valores médios ( $\times 10^3 \mu\text{m}$ ) para espessura do epitélio e diâmetro dos túbulos seminíferos em suínos alimentados com diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>52</b>
<b>TABELA 16.</b> Valores médios para o ácido $\alpha$ -linolênico nos ejaculados dos reprodutores suínos recebendo diferentes fontes de óleo no início e final do experimento (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>53</b>
<b>TABELA 17.</b> Valores médios para o EPA nos ejaculados dos reprodutores suínos recebendo diferentes fontes de óleo no início e final do experimento (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>53</b>
<b>TABELA 18.</b> Valores médios para o DHA nos ejaculados dos reprodutores suínos recebendo diferentes fontes de óleo no início e final do experimento (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>54</b>

- TABELA 19.** Valores médios para Motilidade espermática total (%) do sêmen resfriado a 15-18°C durante 24 horas em diluente BTS de varrões consumindo dietas contendo diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004). ..... **57**
- TABELA 20.** Valores médios para vigor espermáticos do sêmen resfriado a 15-18°C durante 24 horas em diluente BTS de varrões consumindo dietas contendo diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004). ..... **58**
- TABELA 21.** Valores médios para alterações totais da cabeça dos espermatozoides do ejaculado de suínos recebendo diferentes fontes de óleo em suas dietas (UFLA, Lavras, MG, 2004). ..... **59**

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>FIGURA 1.</b> Síntese de PUFAs de cadeia longa e eicosanóides (Adaptado de Debra Krummel, in: VIII Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, 2004). .....	<b>05</b>
<b>FIGURA 2.</b> Morfologia espermática total dos ejaculados dos varrões recebendo dietas com diferentes fontes de óleos (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>47</b>
<b>FIGURA 3.</b> Alterações morfológicas da cabeça dos espermatozóides dos ejaculados dos varrões recebendo dietas com diferentes fontes de óleos (UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>49</b>
<b>FIGURA 4.</b> Perfil dos ácidos graxos $\omega$ 3 encontrados nas membranas dos espermatozóides dos varrões recebendo diferentes fontes de óleo na alimentação(UFLA, Lavras, MG, 2004). .....	<b>55</b>

## RESUMO

OLIVEIRA, Silvio Luiz. **Qualidade do sêmen de varrões alimentados com rações contendo diferentes tipos de óleo** 2004. 74 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras-MG, com o objetivo de avaliar o desempenho reprodutivo de varrões híbridos alimentados com rações suplementadas com diferentes fontes de óleos, como fontes de ácidos graxos da família  $\omega$ -3. Foram utilizados 24 suínos híbridos, machos inteiros, procedentes da Agroceres-PIC de Patos de Minas-MG, com peso inicial médio de 152,73 kg, em um delineamento experimental em blocos ao acaso, com 04 tratamentos (T1=controle; T2=3% óleo de linhaça; T3=3% óleo comercial PUFA<sup>®</sup> e T4=3% de óleo de peixe) sendo as mesmas isoenergéticas e isoproteicas e 06 repetições, sendo cada animal uma unidade experimental. As variáveis analisadas foram parâmetros seminais como motilidade, vigor, volume, concentração, número total de células e morfologia espermáticos. Também foram observados parâmetros histológicos e o perfil de ácidos graxos dos espermatozóides no início e final das coletas de sêmen, que foram após quatro e décima primeira semanas do início do fornecimento das rações aos animais. Foram avaliados a motilidade e o vigor espermáticos após o processamento de resfriamento do sêmen, e logo após congelamento e descongelamento também analisou-se as alterações totais da cabeça dos espermatozóides. Nesse experimento a motilidade espermática não apresentou significância entre os tratamentos, porém com relação ao vigor espermáticos o teste de Qui-quadrado ( $P=0,0392$ ) mostrou ser significativo, sendo que a adição de 3% de óleo de peixe mostrou os melhores resultados em relação aos outros óleos. O volume e o NTC foram significativamente maiores ( $P<0,01$ ) para o tratamento que recebeu o óleo comercial PUFA<sup>®</sup>, porém a concentração dos ejaculados mostrou-se semelhante entre os tratamentos. Não houve efeito significativo ( $P>0,10$ ) dos tratamentos sobre os parâmetros morfológicos dos espermatozóides. Os tratamentos influenciaram o perfil de deposição de ácidos nas membranas espermáticas ( $P<0,01$ ) no início e final do experimento, sendo que o DHA foi o ácido graxo mais modificado nos tratamentos 3 e 4. Foi observado um significativo aumento no diâmetro tubular

---

<sup>1</sup> Comitê Orientador: Elias Tadeu Fialho – DZO-UFLA (Orientador); José Augusto de Freitas Lima DZO- UFLA; Luis David Solis Murgas DMV-UFLA; Rilke Tadeu Fonseca de Freitas DZO – UFLA e Maria Emília de Souza Gomes Pimenta – UNIFENAS.

( $P < 0,05$ ) dos animais recebendo o óleo comercial PUFA<sup>®</sup>. Após o resfriamento do sêmen não foi observados diferenças significativas ( $P > 0,10$ ) na motilidade e vigor espermáticos, mas foi observado que após o descongelamento os animais que receberam o óleo de linhaça em suas dietas tiveram uma redução significativa ( $P < 0,05$ ) nas alterações da cabeça dos espermatozoides. Conclui-se que nas avaliações do sêmen “in natura” o uso de óleo comercial PUFA<sup>®</sup> e o óleo de peixe nas rações dos animais demonstrou ser mais eficiente para a produção de células espermáticas e para a viabilidade destas células, respectivamente; e nas avaliações do sêmen após o congelamento verificamos que o uso dos óleos comercial PUFA<sup>®</sup> e o óleo de peixe resultou na piora da integridade das membranas espermáticas.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, Silvio Luiz. **Quality semen of the boars fed with rations containing different types of oil.** 2004. 74 p. Thesis (Doctorate in Animal Science) - Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.<sup>1</sup>

The experiment was conducted at Animal Science Department of University of Lavras-MG, with the objective of evaluate the reproductive acting of hybrid boars fed with rations supplemented with different sources of oils, as sources of fat acids of the family  $\omega$ -3. A total of 24 hybrid boars were used, coming from Agroceres-PIC of Patos de Minas-MG, with medium initial weight of 152.73 kg, were assigned to a randomized complete blocks, with 04 treatments (T1=controle; T2=3% Linseed oil; T3=3% commercial oil PUFA<sup>®</sup> and T4=3% of Fish oil) all rations were isoenergetic and isoproteic and 06 repetitions, being each animal an experimental unit. The analyzed variables were seminal parameters as mobility, vigor, volume, concentration, total number of cells and morphology spermatics. Histologic parameters and the profile of fat acids of the spermatozoids were also observed in the beginning and end of the semen collections, that were after four and eleventh weeks of the beginning of the supply of the rations to the animals. They were appraised the mobility and the spermatcs vigor after the semen was submitted to cooler processing for 24 hours, and soon the all alterations of the head of the spermatozoids after freezing processing. In that experiment, the spermatic mobility didn't present significative among the treatments, however the vigor showed to be significant (P=0.0392) in the test of Qui-square, that the addition of 3% of fish oil showed the best results in relation to the other oils. The volume and NTC were significantly larger (P<0.01) for the treatment that received the commercial oil PUFA<sup>®</sup>, however the concentration of those ejaculated was shown fellow creature among the treatments. There was not significant effect (P>0.10) of the treatments on the morphologic parameters of the spermatozoids. The treatments influenced the deposition profile of fat acids in the spermatics membranes (P <0.01) in the beginning and final of the experiment, and DHA was the fat acid more modified in the treatments 3 and 4. Increase significatives was observed in the tubular seminifirus testis diameter (P<0.05) of the animals receiving the commercial oil PUFA<sup>®</sup>. It was not observed significant differences (P>0.10) in the mobility and

---

<sup>1</sup> Guidance Committee: Elias Tadeu Fialho – DZO-UFLA (Adviser); José Augusto de Freitas Lima DZO- UFLA; Luis David Solis Murgas DMV-UFLA; Rilke Tadeu Fonseca de Freitas DZO – UFLA e Maria Emília de Souza Gomes Pimenta – UNIFENAS.

spermatocytic vigor after the to cooler processing of the semen but it was observed that after the frozen processing that received the linseed oil in your diets had a significant reduction ( $P < 0.05$ ) in the alterations of the head of the spermatozooids. In conclusion, the evaluations of the semen " in nature" the use of commercial oil PUFA<sup>®</sup> and the fish oil in the rations of the boars demonstrated to be more efficient for the production of spermatocytic cells and for the viability of these cells, respectively; and in the evaluations of the semen after the freezing processing verified that the use of the oils commercial PUFA<sup>®</sup> and the fish oil resulted in the worsening of the integrity of the spermatocytic membranes.

## 1 INTRODUÇÃO

A importância do macho suíno no contexto da atividade suinícola não se resume apenas na sua utilização nos diferentes setores do sistema de produção de suínos como estimulador para antecipação da puberdade em leitoas, do estro durante a lactação, na indução do estro pós desmame, na redução do intervalo desmame-estro e na manutenção dos ciclos estrais e prenhez, mas principalmente como reprodutor e doador de sêmen. O pleno desenvolvimento da inseminação artificial na espécie suína, a exemplo do que já ocorre em outras espécies animais de exploração econômica, depende basicamente da solução dos problemas relacionados com a qualidade e a conservação do sêmen. Há necessidade do desenvolvimento de técnicas e soluções que permitam a utilização do sêmen resfriado e congelado sem alterações dos resultados de fertilidade, sendo esta uma característica importante na área de reprodução, em particular na tecnologia do sêmen de suíno.

O desempenho reprodutivo do varrão pode ser avaliado a partir de três características: a libido, a quantidade de espermatozoides produzidos por unidade de tempo e a capacidade fecundante destes. Os fatores ambientais parecem ser os principais responsáveis pelo desempenho reprodutivo do varrão, merecendo destaque entre eles a nutrição. Os estudos que utilizam avaliações do sêmen de machos em desenvolvimento para a recomendação de suas exigências nutricionais ainda são escassos, apesar de vários autores terem usado esses parâmetros.

Na literatura, ainda são poucas as informações disponíveis sobre as necessidades específicas de ácidos graxos essenciais  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6 para os reprodutores suínos, principalmente os níveis adequados que determinam o desempenho produtivo e reprodutivo máximos, levando em consideração as

características do sêmen, a libido e o perfil hormonal. Considerando o exposto, o presente trabalho objetivou avaliar os efeitos da utilização de diferentes fontes de ácidos graxos na ração (óleo de linhaça, óleo comercial PUFA<sup>®</sup> e óleo de peixe), como fonte de ácidos linolêicos,  $\alpha$ -linolênico, eicosapentanóico (EPA) e docosahexanóico (DHA) sobre o desempenho reprodutivo de suínos machos inteiros e parâmetros seminais após o resfriamento e congelamento.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Ácidos graxos essenciais e seu metabolismo no organismo

Os lipídeos são constituintes orgânicos importantes da ração dos suínos, não só pelos seus elevados valores energéticos, como também pelos ácidos graxos essenciais contidos na gordura dos alimentos naturais. No organismo, a gordura serve como fonte eficiente de energia direta, e indireta quando armazenada no tecido adiposo (Mayes, 1990).

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos alifáticos obtidos, geralmente, da hidrólise das gorduras e óleos naturais. São classificados, segundo a cadeia carbônica, em saturados, sem duplas ligações e insaturados, contendo uma ou mais duplas ligações, estando, nesta última classe, os ácidos graxos ômega-3.

A estrutura dos ácidos graxos insaturados era mais comumente representada como na do ácido  $\alpha$  linolênico (C18:3,9,12,15), que indica o número de carbonos da cadeia: número de duplas ligações, posição das duplas ligações contadas a partir da terminação carboxílica. Por volta de 1980, as pesquisas mostraram que, do ponto de vista bioquímico, era mais importante considerar o que ocorria próximo do grupamento metila do carbono terminal da cadeia, o que levou a propor a numeração da cadeia carbônica deste carbono terminal, chamado de carbono ômega ( $\omega$ ). Assim, quando a primeira dupla ligação ocorre entre os carbonos 3 e 4, contados a partir de ômega, temos um composto  $\omega$ 3. Será  $\omega$ 6 quando ocorrer entre os carbonos 6 e 7 e  $\omega$ 9 quando ocorrer entre os carbonos 9 e 10. Desta forma, o ácido  $\alpha$  linolênico ficaria assim representado: C 18:3  $\omega$ 3 (Belda & Pourchet-Campos, 1991).

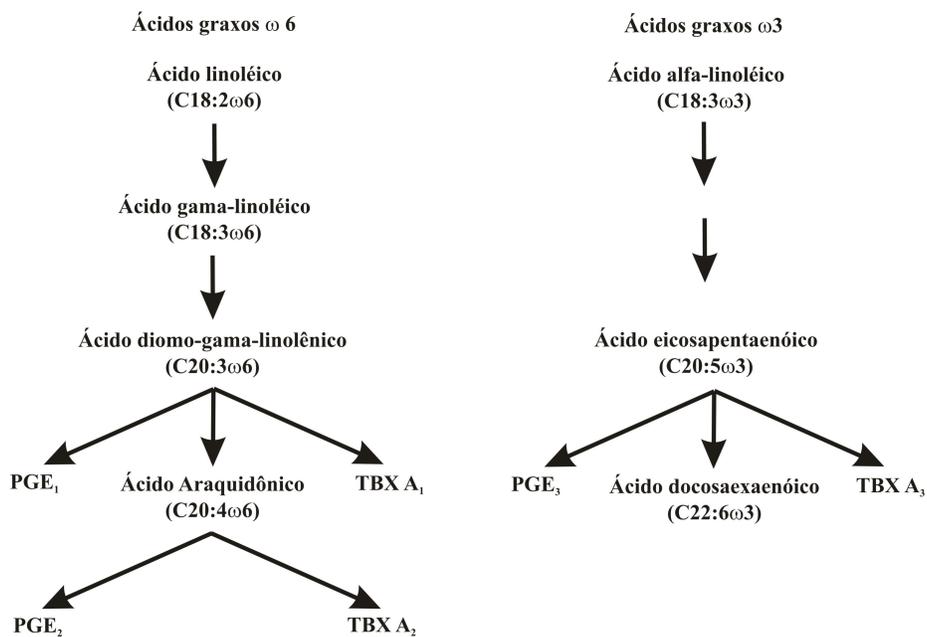
A síntese orgânica dos ácidos graxos saturados acontece no compartimento extramitocondrial, por um sistema enzimático complexo cujo

ponto de partida é o acetil-CoA. A partir dos ácidos graxos saturados formam-se os monoinsaturados, no fígado, por meio da reação catalizada por dessaturases microssomais. Dos monoinsaturados, originam-se os poliinsaturados, por ação de dessaturases específicas para a posição da dupla ligação na cadeia (Belda & Pourchet-Campos, 1991).

Nos animais, as duplas ligações são introduzidas somente entre a dupla ligação existente e a terminação carboxílica do ácido graxo. A primeira dupla ligação a ser introduzida, na maioria das vezes, é a localizada entre os carbonos 9 e 10, contados a partir do grupo carboxílico. Devido a este fato, são incapazes de produzir endogenamente as famílias  $\omega 6$  e  $\omega 9$  que, por isso, são consideradas essenciais na alimentação. Conforme a Figura 1, a série  $\omega 6$  é derivada do ácido linoléico (C18:2  $\omega 6$ ) e a série  $\omega 3$  do ácido  $\alpha$ -linolênico (C18:3  $\omega 3$ ). Os ácidos linoléico e  $\alpha$ -linolênico são essenciais porque não podem ser sintetizados pelos animais, só pelos vegetais.

Nas plantas pode ocorrer adição de dupla ligação entre uma dupla ligação existente e o carbono ômega.

Cada série compete pelo mesmo sistema enzimático e as afinidades decrescem a partir da série  $\omega 3$  para a série  $\omega 9$ . Assim, o ácido oléico (C18:1  $\omega 9$ ) pode dar origem ao ácido eicosatrienóico (C20:3  $\omega 9$ ) e o ácido araquidônico (C22:4  $\omega 6$ ) pode ser obtido do ácido linoléico (C18:2  $\omega 6$ ). Do ácido  $\alpha$  linolênico (C18:3  $\omega 3$ ) são obtidos os ácidos eicosanóides e docosanóides da série  $\omega 3$ . É relevante salientar que a conversão de membros de uma família ômega em outra família não pode ocorrer em mamíferos.



**FIGURA 1.** Síntese de PUFAs de cadeia longa e eicosanóides (Adaptado de Debra Krummel, in: VIII Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, 2004).

O ácido  $\alpha$  linolênico (18:3 $\omega$ -3) de óleos vegetais representa a fonte de ácidos graxos de cadeia longa  $\omega$ -3 (ácidos graxos poliinsaturados), como, por exemplo, o ácido eicosapentaenóico (20:5 $\omega$ -3), ácido docosapentaenóico (22:5 $\omega$ -3) e ácido docosahexaenóico (22:6 $\omega$ -3) via síntese “de novo” por meio da dessaturação e alongamento (Sprecher, 1981). Esses ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa  $\omega$ -3 são importantes componentes dos fosfolípídeos das membranas biológicas, onde têm sido considerados como essenciais para a manutenção das propriedades físico-químicas da membrana (Stubbs & Smith, 1984).

O ácido linoléico está presente, em concentrações elevadas, em vários óleos vegetais alimentícios: milho, algodão, amendoim, girassol, canola e soja; porém, não ocorre no azeite de oliva nem na gordura de coco. O ácido araquidônico está presente nas gorduras animais, embora somente em pequenas quantidades. Em animais experimentais, os sintomas de deficiência destes ácidos graxos incluem redução do crescimento, dermatite, capacidade reduzida de reproduzir, menor resistência ao estresse e comprometimento no metabolismo de lipídeos (Whittemore, 1993).

O ácido araquidônico pode ser sintetizado pelo organismo animal desde que haja suficiente quantidade de linoléico na dieta. O araquidônico e o linoléico possuem em comum uma dupla ligação situada entre os carbonos 6 e 7 (série linoléica ou ômega-6), o que possibilita o araquidônico ser sintetizado a partir do linoléico, não ocorrendo o inverso. O linolênico possui duplas ligações entre os carbonos 3-4; 6-7 e 9-10 (série linolênica ou ômega-3). A nível metabólico, o animal não é capaz de dessaturar (adicionar duplas ligações) para a extremidade metila; daí, que a série  $\omega_6$  permanece sempre assim, enquanto a série  $\omega_3$  permanece sempre como  $\omega_3$ . Ambas as séries de ácidos graxos essenciais ( $\omega_6$  e  $\omega_3$ ) produzem quatro séries de eicosanóides, isto é, substâncias relacionadas com os processos inflamatórios (Harper et al., 1982)

O ácido graxo mais comum na natureza é o oléico (não essencial), que pertence a série  $\omega_9$  (uma dupla ligação no C-9). As dessaturases animais têm maior afinidade pela série  $\omega_3$ , seguida da  $\omega_6$  e, por último, pela  $\omega_9$ . Quando existe uma quantidade limitada de ácidos linoléico e linolênico na dieta, há um acúmulo de produtos da série oléica, e a relação  $\omega_6$ :  $\omega_9$  tem sido utilizada para diagnosticar deficiências de ácidos graxos essenciais (Harper et al., 1982).

Os ácidos graxos essenciais linoléico e o alfa-linolênico são os compostos de origem para outros ácidos graxos biologicamente ativos. O ácido

linoléico, por meio da ação das enzimas dessaturase, pode ser convertido em ácido gama-linoléico e ácido araquidônico e ambos podem desempenhar uma função no início do desenvolvimento cerebral (Horrobin, 1993). O ácido araquidônico pode prevenir a dermatite encontrada na deficiência de ácidos graxos essenciais. Na família do  $\omega$ -3, o ácido docosaexaenóico desempenha uma função principal no funcionamento da retina e desenvolvimento cerebral (Connor et al., 1992; Simopoulos, 1994). Essas famílias de ácidos graxos são também precursoras de eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), compostos como hormônios que ajudam no controle da pressão sanguínea, frequência cardíaca, dilatação vascular, coagulação sanguínea, lipólise e resposta imunológica. Cada família dá origem a uma série diferente de eicosanóides como é mostrada na Figura 1.

Assim, o ácido araquidônico (família  $\omega$ -6) é um precursor de prostaglandina tromboxano  $A_2$ , que causa agregação plaquetária, formação de coágulo e vasoconstrição. Em contraste, os ácidos graxos  $\omega$ -3 favorecem a produção de prostaciclina, que têm efeitos opostos, isto é, prevenir a formação de coágulo e causar vasodilatação. Os ácidos graxos  $\omega$ -3 também inibem a enzima dessaturase, que diminui a produção de ácido araquidônico e, conseqüentemente, de tromboxano  $A_2$ .

A utilização de peixe na alimentação, como um possível meio de evitar a doença das coronárias cardíacas e doenças cardiovasculares, originou-se, em grande parte, dos estudos de Sinclair (1953), que estudou as interações entre dieta e saúde nos esquimós norte-americanos. Nestes, segundo Dyeberg et al., (1975), o EPA forma um tromboxano  $A_3$  ( $TXA_3$ ) que não induz à agregação das plaquetas e uma prostaciclina  $I_3$  ( $PFI_3$ ), que tem a mesma ação da  $PFI_2$ , ou seja, inibe a agregação plaquetária. Com isto, a baixa incidência de aterosclerose pode ser conseqüência de vários fatores, incluindo dieta de lipídeos e uma baixa

agregação das plaquetas devido à presença de  $\text{PGI}_3$  e da baixa atividade do  $\text{TXA}_3$ . Além disso, nos esquimós, são mais baixas as concentrações plasmáticas de colesterol, triacilgliceróis e lipoproteínas de baixa e de muito baixa densidade, enquanto os níveis de lipoproteínas de alta densidade são mais elevados. Todos esses fatores considerados atuam contra a aterosclerose e o infarto do miocárdio.

Os alfa tocoferóis (vitamina E) inibem a oxidação dos ácidos graxos insaturados quando a fonte de gordura possui uma elevada concentração de ácidos graxos poliinsaturados. A série linolênica é essencial para funções cardíacas e vasculares, como também para o bom funcionamento dos sistemas endócrino e imunológico (Nunes, 1995).

O ácido linoléico deve proporcionar, no mínimo 4%, da energia total da ração para suínos em crescimento; para a fêmea em lactação, deve ser de 8%. Isto se deve não somente ao seu valor como precursor de componentes corporais essenciais, mas também porque os ácidos graxos poliinsaturados da dieta são 20 vezes mais eficientemente incorporados no organismo animal e gordura do leite do que se elaborados pelo organismo a partir de outros nutrientes fornecidos na ração (Whittemore, 1993).

Hwang & Carroll (1986) observaram um aumento significativo da síntese de prostaglandinas ( $\text{PGE}_1$  e  $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) no sangue de ratos, quando alimentados com óleo de milho e comparados com os que consumiram sebo na ração. Segundo esses autores, as prostaglandinas são reguladores extremamente potentes do metabolismo, podendo as variações na sua regulação causarem alguns efeitos fisiológicos importantes. Existem evidências de que maiores quantidades de ácido linoléico na ração são benéficas para a saúde. Uma concentração relativamente elevada de ácido linoléico pode ser necessária para a manutenção do processo de meiose em ovócitos bovinos (Homa & Brown,

1987). Outros autores têm sugerido que a incorporação de ácidos graxos poliinsaturados nos fosfolipídeos da membrana aumenta a atividade da enzima adenilato ciclase (Chambaz et al., 1983).

Dell & Seversan (1989) sugerem que o ácido linoléico estimula a proteína quinase C, desenvolvendo, desta maneira, um papel importante no crescimento e diferenciação. Segundo Smith (1989), o ácido linoléico pode exercer esses efeitos por meio das prostaglandinas e ou leucotrienos, que têm potentes efeitos sobre os hormônios locais e, conseqüentemente na função ovariana.

Devido à grande importância dos ácidos graxos essenciais para um ótimo desempenho reprodutivo dos animais, recentemente, uma série de trabalhos sobre o uso destes nutrientes na dieta de vacas de alta lactação têm sido avaliados. O ácido linoléico ( $\omega$ -6) é convertido em ácido araquidônico, que é o precursor imediato das prostaglandinas. No interior do aparelho reprodutivo das vacas, o tecido uterino é uma fonte primária de prostaglandinas da série F (por exemplo,  $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) no início do período pós-parto. A concentração plasmática do metabólito 13, 14-diidro-15 ceto-  $\text{PGF}_{2\alpha}$  aumentou drasticamente até atingir cerca de 2.200 pg/ml, por volta do dia 1 pós-parto (Mattos et al., 2001). Esse aumento está associado à regressão do corpo lúteo da prenhez e à regressão do útero pós-parto.

Filley et al. (2000) estudaram a adição de gordura inerte no rúmen a novilhas (0,23 kg/novilha/dia), na forma de sais de cálcio de ácidos graxos (óleo de palma com ácido linoléico a 9,5%) nos primeiros 30 dias pós-parto e observaram um aumento no percentual de ácido linoléico no plasma do dia 1 até o dia 7 pós-parto e um aumento temporário de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  por volta do dia 7 e 9 pós-parto, o que indica que a suplementação com gordura não degradável no rúmen pode aumentar os níveis de prostaglandinas.

Mattos et al. (2004) verificaram um efeito inibidor dos ácidos graxos  $\omega$ -3 na dieta reduzindo a produção de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Bezard et al. (1994) e Mattos et al. (1999) verificaram que o aumento do EPA pode provocar a supressão da síntese de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pelo útero, competindo pelas enzimas sintase de prostaglandinas (PGHS). Além disso, o aumento da presença de EPA e DHA pode inibir a síntese de araquidônico a partir do linoléico, por meio da inibição das enzimas de dessaturação e alongamento necessárias para a conversão. Portanto, o aumento do consumo dos ácidos graxos  $\omega$ -3 na dieta pode reduzir a produção de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , e esse efeito no pós-parto pode ser interessante pois propicia uma maior concentração de progesterona a partir do corpo lúteo que pode disponibilizar um melhor ambiente uterino para o desenvolvimento dos embriões pós-concepção. Burns et al. (2002), utilizando uma dieta a base de silagem de milho contendo 5% de farinha de peixe (contém EPA e DHA) ou 8,7% de farelo de glúten de milho (linoléico) em 82 primíparas de corte em lactação, fornecida 25 dias antes da estação de monta até 90 dias após este período, observaram uma maior taxa de concepção no primeiro serviço ( $P=0,14$ ) nas vacas que receberam farinha de peixe.

## **2.2 Ácidos graxos essenciais na composição das biomembranas**

Muitos, se não todos, os sinais de deficiência dos ácidos graxos essenciais (anormalidades dermatológicas, infertilidade, anormalidades renais, anormalidades nas mitocôndrias, diminuição da resistência capilar, aumento da susceptibilidade a infecções, diminuição da contratilidade cardíaca e fragilidade dos eritrócitos, o que leva a hemólise osmótica) devem-se a mudanças nas biomembranas e síntese de eicosanóides, segundo Gurr (1992), citado por Peck (1994). As mudanças nas mitocôndrias hepáticas devem-se ao aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial à água e íons, levando à degradação

da mitocôndria e diminuição da produção de ATP. Isto leva a uma menor eficiência da conversão da energia da ração em energia metabólica, resultando em redução do crescimento e comprometimento do desempenho produtivo dos animais. O ácido linoléico é, entretanto, superior ao alfa linolênico no tratamento da dermatite, infertilidade e nefropatias. Não se sabe se estas diferenças devem-se a diferença nos efeitos relativos dos dois ácidos graxos essenciais sobre a estrutura da membrana e função ou sobre a produção de eicosanóides.

Embora com níveis particularmente não muito elevados, os ácidos graxos essenciais de cadeia longa no testículo são de grande importância, pois existem evidências de que esses ácidos graxos têm um papel importante na integridade das membranas testiculares (Coniglio, 1977 citado por Stubbs & Smith, 1984).

Segundo Ayala & Brenner (1980), os testículos de ratos são susceptíveis de mudanças degenerativas, quando ocorre deficiência de ácidos graxos essenciais na dieta, havendo uma acentuada inibição da espermatogênese após 5 semanas. A inclusão de óleo de girassol ou óleo de peixe na ração previne os sintomas. Os lipídeos dos testículos de ratos consumindo ração deficiente em ácidos graxos essenciais, metilpalmitato e as dietas com óleo de girassol ou de peixe contêm 17% de ácido docosahexanóico (22:6 $\omega$ -3). Comparando ratos que consumiram óleo de peixe com aqueles que receberam óleo de girassol, o nível de ácido araquidônico (20:4 $\omega$ -6) é diminuído, ácido docosahexanóico (22:6 $\omega$ -3) altera-se de 0,6 para 10,8% e da série linoléica (22:  $\omega$ 5-6) de 19,9 para 8,6%, existindo uma forte relação recíproca entre 22:5( $\omega$ -6) e 22:6 ( $\omega$ -3) neste tecido, talvez indicando que o 22:5( $\omega$ -6) seja o principal no rato.

A maioria das pesquisas relacionadas com a fluidez e insaturação das membranas celulares tem sido realizada com suplementação celular de ácidos graxos ou outros componentes das membranas em cultura ou por meio da dieta.

No passado, achou-se que a fluidez das membranas e ácidos graxos insaturados se relacionavam diretamente entre si. Um aumento na insaturação implicava em um aumento da fluidez das membranas. Entretanto, essa definição não é geralmente aceita. O termo "fluidez das membranas" refere-se ao estado físico das ligações acil na estrutura bilateral das membranas. Os componentes que afetam diretamente as propriedades físicas das ligações acil são as insaturações e o comprimento das cadeias acil, embora o componente das cadeias acil seja também influenciado por outros componentes da membrana, como o colesterol, proteínas e fosfolípidos (Stubbs & Smith, 1984).

A inclusão de semente de girassol na ração de suínos até os 107 kg aumentou as quantidades de ácido linoléico na gordura da carcaça (21% comparado com 14,4% nos animais controle). Esses resultados indicam que elevado conteúdo de ácido linoléico pode ser encontrado na gordura de suínos com elevada porcentagem de carne (58%), apesar do baixo conteúdo de ácido linoléico da dieta (0,85%). A quantidade máxima de ácido linoléico recomendada nas dietas de suínos tipo carne é de 1,5% da ração (Courboulay & Massabie, 1994).

Os fosfolípidos dos espermatozoides dos mamíferos têm uma composição de ácidos graxos característica, sendo mais marcante uma proporção muito alta de ácidos graxos de cadeia longa (C22) altamente poliinsaturados. Na maioria dos mamíferos, o ácido docosahexaenóico (22:6 $\omega$ 3) é o ácido graxo predominante, embora, em várias outras espécies, o ácido docosapentaenóico (22:5 $\omega$ 6) também seja o componente principal (Neill & Masters, 1972; Poulos & White, 1973; Poulos et al., 1973; Darin-Bennett et al., 1974; Jain & Anand, 1976; Salem et al., 1986; Lin et al., 1993 e Kelso et al., 1997a citados por Rooke et al., 2001).

Os testículos de ratos (Chanmugam et al., 1991), coelhos e outros roedores possuem alto conteúdo de 22:5 $\omega$ 6m, enquanto no homem (Coniglio et al., 1975; Nissen et al., 1978), nos macacos (Connor et al., 1997), nos touros (Scott, 1973) e nos varrões (Paulenz et al., 1995) a quantidade de 22:6 ( $\omega$ 3) é maior.

Os espermatozoides dos varrões compartilham as características acima, embora as proporções informadas de ácidos graxos poliinsaturados nos fosfolípidos e as quantidades relativas de ácidos graxos ( $\omega$ 6) e ( $\omega$ 3) sejam variáveis (Ahluwalia & Holman, 1969; Johnson et al., 1972; Evans & Setchell, 1979 e Paulenz et al., 1995, citados por Rooke et al., 2001).

Nos espermatozoides humanos, o DHA desempenha uma função essencial, promovendo ótima fertilidade, e reduções destes ácidos graxos nos lípidos dos espermatozoides têm correlação com reduções na concentração espermática, e na motilidade progressiva e morfologia normal dos espermatozoides (Nissen & Kreysel, 1983; Zalata et al., 1998 e Conquer et al., 1999 citados por Rooke et al., 2001).

Acredita-se que mudanças na composição lipídica das membranas biológicas levem a mudanças na sua função, lembrando que receptores envolvidos nos sinais celulares, transportadores e enzimas estão embebidos na bicamada lipídica e qualquer mudança na composição de ácidos graxos das membranas pode afetar esta função (Sudheera et al., 1997). Esses autores consideraram também que os ácidos graxos poliinsaturados  $\omega$ -3 da dieta podem influenciar a fluidez das membranas e a atividade de enzimas necessárias para a produção de energia e de muitas funções de receptores dependentes de lípidos-proteína. A atividade de  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  ATPase do retículo sarcoplasmático, adenilciclase é marcadamente influenciada pelos níveis de ácidos graxos poliinsaturados  $\omega$ -6 e  $\omega$ -3 nos lípidos da membrana.

A fluidez da membrana é grandemente relacionada ao material lipídico e sua disposição. Pode ser alterada pela relação colesterol/fosfolipídeos, grau de insaturação dos ácidos graxos e proporção das duplas ligações cis e trans (Hochgraf et al., 1997). A fluidez mantida em biomembranas na fase líquido cristalina pode desenvolver as funções vitais; as membranas no estado gel não mantêm as reações bioquímicas.

Leibtseder (1997) faz referência a uma série de trabalhos em que se consegue alterar a composição de ácidos graxos de suínos e aves alimentados com diversos óleos.

Os lipídeos mais resistentes à modificação na composição em ácidos graxos em função da dieta são os fosfolipídeos de membrana do coração e cérebro, os quais certamente exercem funções importantes (Yaqoob et al., 1995).

A conversão de um ácido graxo  $\omega$ -3 de cadeia curta (18:3 $\omega$ 3) para outro da série  $\omega$ -3 de cadeia longa é possível, entretanto, em humanos esta transformação é muito lenta, tendo como passo limitante a enzima delta-6-dessaturase. Conseqüentemente, o ácido  $\alpha$ -linolênico não tem sido considerado uma significativa fonte para a síntese dos ácidos graxos EPA e DHA, embora seja precursor deles. Dietas enriquecidas com ácido  $\alpha$ -linolênico não produzem os mesmos efeitos clínicos que os ácidos EPA e DHA produzem (Barlow et al., 1990, citados por Barlow & Pike, 1991).

Juang & Sim (1991) obtiveram ovos com alto teor de ácidos graxos  $\omega$ -3, colocando 20% de semente moída de linho na dieta de galinhas. Em seguida, utilizaram 15% de gema desidratada destes ovos na ração de ratos durante quatro semanas, com o objetivo de verificar o efeito dos ovos enriquecidos com ácidos graxos  $\omega$ -3 sobre o nível de colesterol no fígado e no plasma de ratos. Os resultados mostraram que houve uma redução de 20% e 38% nos níveis de colesterol do sangue e do fígado, respectivamente e um aumento do conteúdo de

ácidos graxos  $\omega$ -3 nos tecidos dos ratos. Resultados semelhantes também foram obtidos por Adams et al. (1989).

Segundo Warnants et al. (1999), o tempo necessário para a incorporação máxima de PUFA nos tecidos é de cerca de 6 semanas, podendo haver uma incorporação significativa com 4 semanas.

Estudos por Cheriam & Sim (1995) revelaram que um elevado nível de consumo de ácido linolênico promoveu um aumento de linolênico e EPA nos lipídeos dos músculos, coração e fígado de suínos.

Sepecht-Overholt et al. (1997) verificaram que a adição de 15% de semente de linhaça (35% de gordura) na dieta de suínos resulta em uma redução da percentagem de ácidos graxos saturados e monoinsaturados e em aumento da percentagem dos polinsaturados, principalmente o  $\alpha$ -linolênico e ácidos graxos  $\omega$ 3 totais em todos os tecidos estudados.

Matheus et al. (2000) utilizando semente integral de linhaça em três níveis (0, 50 e 100 g/kg) nas dietas de suínos na fase de terminação, observaram que os níveis de  $\alpha$ -linolênico foram aumentados em todos os tecidos analisados. Foram observados aumento da concentração EPA e DHA no plasma, músculo longíssimus torácico, fígado e rins.

Paulenz et al. (1995), fornecendo óleo de fígado de peixe na dieta de suínos, observaram mudanças nos ácidos graxos dos fosfolípidos do plasma seminal somente a partir de cinco semanas.

Maldjian et al. (2001) reportaram que mudanças específicas de ácidos graxos (PUFA) nas membranas espermáticas podem promover efeitos benéficos ao sêmen resfriado e congelado de suínos.

Nas dietas de suínos, as relações de ácidos graxos ( $\omega 6$ ):( $\omega 3$ ) geralmente são superiores a 6:1 e praticamente não contêm ácidos graxos ( $\omega 3$ ) de cadeia longa polinsaturados.

Sprecher (1981) relata que baixa quantidade ou a deficiência de ácidos graxos ( $\omega 3$ ) reduzem à síntese de 22:6 ( $\omega 3$ ) a partir de 18:3 ( $\omega 3$ ), devido a competição das enzimas de dessaturação de ácidos graxos entre ( $\omega 6$ ) e ( $\omega 3$ ).

### **2.3 Avaliação histológica dos testículos de suínos**

A quantificação do processo espermatogênico é essencial para a avaliação dos efeitos do ambiente, de drogas ou de outros agentes sobre a função testicular das espécies de interesse econômico e também sobre a fertilidade potencial de machos normais. Também é importante o conhecimento dos níveis de produção espermática para se estabelecerem procedimentos eficientes na exploração do potencial genético de reprodutores de excelência.

O processo espermatogênico consiste, sinteticamente, na formação de espermatozoides a partir de espermatogônias. Estas se multiplicam por meio de divisões mitóticas e acabam dando origem a espermatócitos primários, os quais passam por duas divisões meióticas, resultando, da primeira divisão, os espermatócitos secundários e, da segunda divisão, as espermatídes arredondadas. Estas últimas não mais se dividem: elas passam por uma série de transformações morfológicas e fisiológicas, convertendo-se assim nos espermatozoides. Teoricamente, em cada divisão meiótica, ou mitótica o número de células é duplicado. Todavia, a divisão dessas células não é cem por cento eficiente, uma vez que ocorrem degenerações ao longo de todo o processo, degenerações essas que podem afetar qualquer uma das células germinativas.

Além das células germinativas, estão presentes, nos túbulos seminíferos, células somáticas denominadas células de Sertoli, que desempenham inúmeras funções consideradas essenciais para a aquisição de uma eficiência máxima de produção espermática. Na maioria das espécies domésticas, o número de células de Sertoli supostamente mantém-se estável no animal adulto e elas são extremamente resistentes aos efeitos de drogas ou agentes tóxicos. Desse modo, as células de Sertoli podem ser utilizadas como base de referência (índice de célula de Sertoli) na quantificação da eficiência espermatogênica.

Nos túbulos seminíferos, as células espermatogênicas estão organizadas em camadas dispostas desde a membrana basal até o lume tubular, cada camada correspondendo a uma determinada geração de células germinativas (Castro et al., 1991). As gerações menos diferenciadas (espermatogônias) situam-se junto à membrana basal, enquanto as gerações mais diferenciadas (espermátides) localizam-se próximo do lume. Considera-se uma associação celular ou estágio do ciclo do epitélio seminífero (CES) o conjunto definido de gerações de células germinativas encontrado, em determinado momento, num túbulo seminífero seccionado transversalmente.

As avaliações da produção espermática podem ser de ordem subjetiva ou objetiva. As avaliações subjetivas são utilizadas na caracterização, ainda que imprecisa, de eventos espermatogênicos decorrentes da ação de algum agente nocivo, como alterações do epitélio seminífero como degenerações celulares, descamação de células germinativas no lume, espessamento da membrana basal, necrose focal, etc. As avaliações objetivas incluem os métodos de quantificação da produção espermática, tais como o número de células germinativas e de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero e suas razões, que possuem a vantagem de permitir análise estatísticas mais acuradas, possibilitando a realização de experimentos de maior poder conclusivo.

## 2.4 Peroxidação de membranas celulares

A peroxidação (auto-oxidação de lipídeos expostos ao oxigênio) é responsável não somente pela deterioração de alimentos (rancificação) mas também por danos aos tecidos in vivo, onde eles podem causar o câncer, as doenças inflamatórias, a aterosclerose e o envelhecimento. Os efeitos deletérios são iniciados por radicais livres ( $\text{ROO}^\cdot$ ,  $\text{RO}^\cdot$ ,  $\text{OH}^\cdot$ ) produzidos durante a formação de peróxidos a partir de ácidos que contêm duplas ligações metileno-interrompidas, isto é, aquelas presentes nos ácidos graxos poliinsaturados encontrados na natureza.

A peroxidação é uma reação em cadeia que fornece um suprimento contínuo de radicais livres que iniciam uma peroxidação subsequente.

Uma vez que o processo molecular do processo de iniciação é, geralmente, o produto hidroperóxido  $\text{ROOH}$ , a peroxidação de lipídeos é uma reação em cadeia com efeitos, potencialmente, devastadores. Para controlar e reduzir a lipoperoxidação, tanto o homem, em suas atividades, quanto a natureza utilizam os antioxidantes.

O sistema antioxidante da célula é composto por substâncias naturais solúveis em gordura, como é o caso da vitamina E, carotenóides e ubiquinonas e por substâncias solúveis em água, como ácido ascórbico, glutathione e ácido úrico, além dos antioxidantes enzimáticos, como a glutathione peroxidase, catalase e a superóxido dismutase (Yu, 1985). Também são incluídos nessa última categoria os antioxidantes da mitocôndria; a superóxido dismutase dependente de manganês (Mn-SOD) e do citoplasma as formas superóxido dismutase dependentes de cobre e de zinco (Cu, Zn-SOD), segundo Michalski, (1992).

Os antioxidantes utilizados como aditivos de alimentos, são: o galato de propila, o hidroxianisol butilato (BHA) e o hidroxitolueno butilado (BHT). Os

antioxidantes incluem: a vitamina E (tocoferol), que é lipossolúvel, o urato e a vitamina C, que são hidrossolúveis. O beta caroteno é um antioxidante quando o valor do  $PO_2$  é baixo. Os antioxidantes pertencem a duas classes: (1) antioxidantes preventivos que reduzem a velocidade de iniciação da cadeia e (2) antioxidantes que quebram a cadeia e que interferem com a propagação da cadeia. Os antioxidantes preventivos incluem: a catalase e outras peroxidases que reagem com o ROOH e quelantes de íons metálicos, tais como o DTPA (dietilenotriaminopentaacetato) e o EDTA (etilenodiaminotetraacetato). Os antioxidantes que provocam, freqüentemente, a quebra da cadeia, são os fenóis e as aminas aromáticas. In vivo, o principal antioxidante, desta categoria é a superóxido-dismutase, que atua na fase aquosa, aprisionando radicais superóxido livres ( $O_2^-$ ) e, talvez, o urato e a vitamina E, que atuam na fase lipídica, aprisionando radicais  $ROO^-$ .

A peroxidação também é catalisada “in vivo” por compostos que contêm heme e por lipoxigenases, encontradas nas plaquetas, nos leucócitos, etc.

Grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados nos espermatozóides os tornam mais susceptíveis à peroxidação, com conseqüentes riscos de danos na estrutura celular (Niki et al., 1993). Isto pode, conseqüentemente, causar baixa fertilidade nos machos (Aitken, 1994; Sikka et al., 1995).

Atingir o potencial máximo de fertilidade requer a combinação ótima de fosfolípidos e uma proteção adequada com antioxidantes (Kelos et al., 1996).

Dietas com altos níveis de ácidos graxos poliinsaturados em combinação com elevados níveis de vitamina E promovem melhoria da atividade enzimática antioxidante, assegurando o sistema de integridade da membrana celular (Cerolini et al., 2003).

## 2.5 Características seminais dos suínos

A produção e a qualidade do sêmen do macho suíno são influenciadas por diversos fatores, tais como a idade (Kennedy & Wilkins, 1984), peso corporal (Einarson et al., 1979), genética (Kennedy & Wilkins, 1984; Knap, 1987; Buchanan, 1988; Borg et al., 1993), nutrição (Kemp, 1991), temperatura (Larson et al., 1988) e fotoperíodo (Claus & Weiler, 1985).

Os valores quantitativos e qualitativos espermáticos são importantes no estabelecimento do número e da qualidade das doses inseminantes que podem ser preparadas a partir de um ejaculado (Bonet, 1990). A avaliação da morfologia espermática fornece um bom indicativo da capacidade reprodutiva no macho suíno. Essa variável assume um caráter particularmente importante quando se trata da utilização de machos jovens. No entanto, é importante ressaltar que a avaliação de um único ejaculado não fornece uma indicação da capacidade de produção e da qualidade do sêmen de um macho.

A qualidade do sêmen em animais púberes é relativamente baixa quando comparada à de animais adultos. O volume e a concentração aumentam gradativamente no período pós-puberal, acompanhados de um aumento no número de espermatozoides vivos e morfologicamente normais e, conseqüentemente, na motilidade, levando a um aumento no potencial fertilizante do sêmen (Morrow, 1986).

Segundo Ferreira (1995), a maturidade sexual se dá na fase pós-puberal quando os testículos ainda se encontram em desenvolvimento e a espermatogênese se assemelha à do animal adulto. Embora os suínos estejam aptos à reprodução por ocasião da puberdade, a maturidade sexual só ocorre um pouco mais tarde, quando o sêmen por eles produzido já estará dentro dos padrões normais para suínos.

As principais características seminais são: o volume de sêmen produzido, motilidade e concentração espermática, anormalidades espermáticas e membrana espermática.

O volume do ejaculado varia de acordo com a espécie animal considerada, sendo a variação dentro da mesma espécie muito ampla, devido ao indivíduo, à raça, ao número de ejaculações sucessivas e à alimentação a que se submete o animal. O volume médio de um ejaculado suíno é de cerca de 250 ml (Sheid, 1993).

A motilidade espermática reflete a saúde e a condição do animal no momento da coleta e deve ser monitorada no exame de um sêmen para avaliação de sua capacidade fecundante. Os espermatozóides se movimentam de várias maneiras: linha reta ou movimento progressivo, em circunferência (movimento circular) ou em movimento oscilatório ou local (Mies Filho, 1982). A determinação da motilidade do sêmen é realizada de maneira subjetiva, por meio de observação à microscopia óptica (Moss et al., 1978). A motilidade espermática não deve ser o único fator empregado para se determinar a qualidade do sêmen, servindo apenas como um bom indicador da viabilidade espermática geral (Gomes, 1970). Rooke et al. (2001), estudando os efeitos da suplementação do ração com óleo de atum nos espermatozóides de suínos, notaram que houve um aumento da proporção de espermatozóides com motilidade progressiva.

Outro fator que merece destaque é a concentração espermática, ou seja, a quantidade de espermatozóides por unidade de volume seminal. A concentração espermática e o volume de sêmen são utilizados para se calcular o número total de espermatozóides em um ejaculado. Este fator é influenciado por características individuais e época do ano em que se realizou a coleta.

As anormalidades espermáticas estão presentes em todas as amostras de sêmen em proporções variadas (Moss et al., 1978). As anormalidades são divididas em primárias (origem durante o desenvolvimento dos espermatozóides nos túbulos seminíferos) e secundárias (alterações adquiridas durante a passagem ou armazenamento no epidídimo ou após a passagem pelo epidídimo). Nos ejaculados suínos de boa qualidade, não há mais que 20% de anormalidades espermáticas, existindo diferenças significativas entre raças e indivíduos (Scheid, 1993). Estudo relacionado ao efeito da suplementação da ração de reprodutores com óleo de atum nos espermatozóides suínos demonstrou que houve um aumento do número de acrossomos com escore normal e redução na proporção de espermatozóides com morfologia anormal (Rooke et al., 2001).

A membrana espermática é uma bicamada lipídica que regula a movimentação de íons e moléculas. As biomembranas estão envolvidas em diversos processos bioquímicos, como, por exemplo, biossíntese e secreção protéica, reações bioenergéticas e respostas hormonais. Esta diversidade de funções da membrana ocorre em decorrência das diferentes proteínas presentes nesta estrutura (Stubbs & Smith, 1984). A membrana plasmática é essencial para a manutenção da motilidade espermática e também para a indução da reação acrossômica e, possivelmente, para outros eventos relacionados com a fertilização (Jeyandran et al., 1984).

Além de ser a principal fonte de energia, a ração deve possuir lipídeos de qualidade, uma vez que os ácidos graxos essenciais para o crescimento normal da membrana dos novos tecidos são oriundos da dieta (Arbuckle et al., 1992). A principal fração dos lipídeos da membrana plasmática dos espermatozóides envolve os glicolipídeos, esteróis, ácidos graxos livres, di e trigliceróis e pequenas quantidades de gangliosídeos (Nikolopoulos et al., 1986).

O balanço dietético entre ácidos graxos  $\omega 6$  e  $\omega 3$  é um determinante da composição de ácidos graxos da membrana, sendo o organismo dos animais capaz de dessaturar e alongar os dois ácidos graxos essenciais, linoléico e  $\alpha$ -linolênico, dando origem a duas famílias distintas de ácidos graxos poliinsaturados: ácidos graxos  $\omega 6$  derivados do ácido linoléico e ácido graxo  $\omega 3$ , cujo precursor é o ácido linolênico. Não existe interconversão entre essas duas famílias de ácidos graxos no organismo (Gadella, 1996). A essencialidade do ácido linoléico em muitas espécies de animais tem sido amplamente documentada, podendo o crescimento e a reprodução ser sustentados somente pelo linoléico. Esses trabalhos têm sido realizados com ratos e porquinhos da índia (Gadella, 1996). O ácido graxo linolênico é considerado como um regulador do metabolismo dos ácidos linoléico e araquidônico.

As mudanças na ingestão de ácidos graxos poliinsaturados podem ter um impacto marcante sobre a produção de prostaglandina sob circunstâncias fisiológicas e patológicas, sem necessariamente alterar a composição de ácidos graxos da membrana. As mudanças nos ácidos graxos da dieta podem resultar em transição na composição de lipídeos e, possivelmente, no estado físico das membranas testiculares (Sebokova et al., 1988).

## **2.6 Sêmen suíno resfriado e congelado**

Os primeiros relatos sobre IA na espécie suína no Brasil datam do final da década de 1940 (Fazano, 1978, citado por Bortolozzo, 1995), entretanto, estas primeiras tentativas estiveram restritas a um plano experimental (Bortolozzo & Wentz, 1995). Somente no ano de 1975 houve um desenvolvimento efetivo com a criação de centrais de IA na região sul e, em 1990, cerca de 2% do rebanho nacional já estava sendo inseminado (Scheid, 1991, citado por Reis, 1997). Hoje, estima-se que cerca de 14 a 16% das matrizes suínas são inseminadas

artificialmente, enquanto que, em outros países, especialmente os europeus, há rebanhos em que esta biotecnologia alcança 80% das fêmeas suínas em reprodução (Nascimento, 1997).

Um benefício da IA, além do melhoramento genético, é a possível avaliação da performance reprodutiva do varrão. A fertilidade de um rebanho, apresentada freqüentemente pela taxa de parto e tamanho da leitegada, é uma função de três fatores: fertilidade da porca, fertilidade do varrão e manejo reprodutivo. Na teoria, estes três componentes influenciam na mesma intensidade. No entanto, o varrão determina quase 33% da fertilidade total do rebanho, sendo 15 vezes mais importante que a fertilidade de uma porca isoladamente e representando metade da influência do manejo reprodutivo em geral (Reis, 1997).

Existe uma grande variabilidade no emprego de diferentes machos em programas de IA, principalmente no que se refere à taxa de parto e tamanho da leitegada das fêmeas inseminadas. Aspectos referentes à alteração da morfologia espermática do sêmen desses varrões assumem, ao que parece, uma maior influência nos resultados observados do que a motilidade avaliada (Dirksen, 1991). Estas diferenças entre machos podem estar relacionadas também com uma variabilidade dos diferentes ejaculados frente às técnicas de processamento e armazenamento.

O desenvolvimento de uma técnica que permita uma longa conservação do poder fecundante do sêmen poderá facilitar a sua utilização na IA, proporcionando uma utilização mais racional dos reprodutores (Paquignon et al., 1980, citados por Toniolli, 1998). As primeiras técnicas usando sêmen a fresco foram primeiramente reconhecidas por Ito et al. (1943) e Polges (1956), citados por Murgas (1999). Desde então, a produção de suínos aumentou no mundo todo e, como resultado, aumentou a necessidade de criopreservar o sêmen suíno.

Os primeiros trabalhos de congelação do sêmen suíno foram realizados nas décadas 1950 e 60. Entretanto, as taxas de recuperação de espermatozóides móveis após a descongelação eram fracas, variam entre 25 e 50%, segundo os autores e as técnicas utilizadas (Ray, 1956; Poige, 1956; Rohloff, 1967, citados por Toniolii, 1993). As taxas de fertilidade eram ainda mais fracas, sempre abaixo de 50%.

Consideráveis esforços de pesquisas vêm sendo aplicados, nas últimas décadas, na solução da problemática da conservação do sêmen suíno. A elevação dos resultados de fertilidade com o uso do sêmen congelado depende da geração de novos conhecimentos em um vasto campo da ciência, que incluem desde áreas como a bioquímica e a criobiologia, até aspectos aplicados às metodologias de congelamento e à determinação do momento ideal de inseminação (Murgas, 1999).

Dentre as mudanças estruturais resultantes da conservação do sêmen suíno (congelado ou resfriado), as lesões da membrana plasmática e do acrossoma espermático servem como indicadores de injúria celular, juntamente com as liberações de enzimas liberados pelas células.

A avaliação “in vitro” da viabilidade espermática pós-congelamento deve ser realizada por meio de uma bateria de exames, visto que qualquer teste, isoladamente, é insuficiente para identificar varrão ou ejaculados com baixa congelabilidade. Motilidade e morfologia espermática (Paquignon et al., 1980; Johnson et al., 1981), concentração extracelular de enzimas e teste de termorresistência, entre outros, podem ser usados para avaliar “in vitro” a viabilidade do espermatozóide suíno pós-congelamento (Murgas, 1999).

A membrana espermática está envolvida nas trocas metabólicas com o meio ambiente (Correa et al., 1997), com o processo de capacitação, reação acrossômica e a ligação do espermatozóide à superfície do oócito a qual requer

uma membrana bioquimicamente ativa (Jeyandran et al., 1984). A integridade da membrana é um importante indicador da habilidade fertilizante do espermatozóide.

A composição das membranas que recobrem o espermatozóide é diferente entre as várias partes (cabeça, peça intermediária e cauda) (Jones & Stewart, 1979). Por isso, elas respondem diferentemente ao estresse causado pelo processo de congelação e descongelação (Watson et al., 1988). Sendo assim, os espermatozoides podem estar com a motilidade diminuída, mas sem perder a viabilidade (Blach et al., 1989), ou podem apresentar uma boa motilidade pós-descongelação, mas com danos de acrossomo e, conseqüentemente, com a viabilidade diminuída (Christensen et al., 1994, citados por Murgas, 1999). Estes danos do acrossomo também estão relacionados com a concentração de glicerol presente no meio diluidor (Christensen et al., 1994, citados por Murgas, 1999).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Local, animais experimentais e tratamentos

O experimento foi conduzido no Setor de Suinocultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), durante o período de março a dezembro de 2003. A UFLA está localizada no município de Lavras, região Sul do estado de Minas Gerais, latitude 21°14' 30" (S), longitude de 45° (O) e altitude de 910 metros. O clima da região, segundo a classificação Koppen, é do tipo CWB, tropical úmido, com duas estações definidas: chuvosa (novembro a abril) e seca (maio/outubro).

Foram utilizados 24 suínos híbridos, machos inteiros, procedentes da Agroceres-PIC, com peso inicial médio de  $152,73 \pm 3,7$  kg, em um delineamento experimental de blocos ao acaso (peso inicial dos animais), num total de seis blocos e quatro tratamentos (T1= controle + vitamina E; T2= ração com 3,0% de óleo de linhaça + vitamina E; T3= ração com 3,0% de óleo PUFA<sup>®</sup> + vitamina E e T4= ração com 3,0% de óleo de fígado de peixe + vitamina E), sendo cada animal uma unidade experimental. As rações experimentais isoprotéicas (13,5%) e isoenergéticas (3.350 kcal de ED/kg) foram formuladas à base de milho e farelo de soja e suplementadas com minerais e vitaminas (Tabelas 1 e 2). As rações foram fornecidas para os animais até a fase final do experimento (durante 12 semanas), quando os animais obtiveram o peso final médio de  $189,27 \pm 6,2$  kg.

Os animais foram alojados em baias individuais localizadas em galpão de alvenaria com piso de concreto e cobertura de telhas de cimento amianto.

**TABELA 01.** Composição química dos ingredientes usados nas rações (UFLA, Lavras, MG, 2004)

Composição <sup>1</sup>	Ingredientes				
	Milho	F. soja	O. linhaça	O. PUFA®	O. peixe
MS (%) <sup>2</sup>	87,10	88,10	99,50	99,40	99,40
PB (%) <sup>2</sup>	8,57	45,54	-	-	-
ED (kcal/kg) <sup>3</sup>	3476	3421	8630	8200	8200
AG (%) <sup>4</sup>	-	-			
(Ác. oléico)	-	-	22,23	22,44	17,00
(Ac. linoléico)	-	-	20,51	22,40	2,00
(Ac. linolênico)	-	-	33,45	30,68	2,00
(EPA)	-	-	-	1,06	9,00
(DHA)	-	-	-	1,04	9,00

<sup>1</sup> Valores expressos na matéria natural.

<sup>2</sup> Valores segundo Rostagno et al. (2000).

<sup>3</sup> Valores segundo Fialho et al. (1998).

<sup>4</sup> Valores segundo Rosa (1999).

### 3.2 Avaliação das características seminais dos suínos

Os animais foram treinados para coleta de sêmen a partir dos cinco meses de idade, com a utilização de um manequim móvel, sendo submetidos a um total de sete coletas durante o período experimental em intervalos de uma semana. A coleta do sêmen foi realizada na própria baia do animal, pelo método da mão enluvada (King & Macpherson, 1973), em frasco graduado, pré-aquecido a 38 °C e protegido por recipiente isotérmico. A separação da fração gelatinosa do ejaculado foi realizada durante a coleta, através de tripla camada de gaze adaptada ao frasco coletor.

**TABELA 02.** Composição percentual das rações utilizadas no experimento (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Ingrediente	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
Milho	82,500	77,090	77,090	76,090
F. soja	14,170	14,000	14,000	14,000
O. linhaça	-	3,000	-	-
O. PUFA <sup>®</sup>	-	-	3,000	-
O. peixe	-	-	-	3,000
C. calcítico	0,794	0,827	0,827	0,827
F. bicálcico	1,552	1,485	1,486	1,486
Sal comum	0,368	0,370	0,370	0,370
S. vitamínico <sup>1</sup>	0,100	0,100	0,100	0,100
Vit. E	0,010	0,010	0,010	0,010
S. mineral <sup>2</sup>	0,100	0,100	0,100	0,100
BHT	0,020	0,020	0,020	0,020
Caulim	0,386	3,000	3,000	4,000
<b>Total</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>	<b>100,000</b>
PB (%) <sup>3</sup>	13,500	13,500	13,500	13,500
ED (kcal/kg) <sup>3</sup>	3.350	3.350	3.350	3.350
Ác. oleico (%) <sup>4</sup>	0,000	0,667	0,673	0,510
Ác. linoléico (%) <sup>4</sup>	0,000	0,615	0,672	0,060
Ác. linolênico (%) <sup>4</sup>	0,000	1,003	0,920	0,060
EPA	-	-	0,032	0,270
DHA	-	-	0,031	0,027
Cálcio total (%) <sup>3</sup>	0,760	0,760	0,760	0,760
Fósforo disp (%) <sup>3</sup>	0,380	0,380	0,380	0,380

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico contendo: vitamina A, 250.000 UI; vitamina D3, 42.000 UI; vitamina E, 500 mg; vitamina K3, 67 mg; vitamina B1, 50 mg; vitamina B2, 100 mg; vitamina B6, 67 mg; vitamina B12, 400 mcg; niacina, 667 mg; pantotenato de cálcio, 417 mg; colina, 10.000 mg; antioxidante, 2.500 mg.

<sup>2</sup> Suplemento mineral contendo: cálcio, 245 g; fósforo, 75 g; ferro, 2.333 mg; cobre, 333 mg; manganês, 1.333 mg; iodo, 20 mg; selênio, 5 mg; zinco, 2.667 mg; flúor, 1g; cobalto, 15,33 mg.

<sup>3</sup> Análise realizada no Laboratório de Nutrição do Departamento de Zootecnia da UFLA.

<sup>4</sup>Valores segundo Rostagno et al. (1992).

No laboratório, foram avaliados semanalmente, após quatro semanas do início do experimento, os parâmetros de motilidade e vigor espermáticos, volume do ejaculado, concentração espermática, número total de células e anormalidades espermáticas até a décima primeira semana de fornecimento das rações aos animais. Para a realização do perfil de ácidos graxos nos espermatozóides foram utilizadas somente amostras das coletas de sêmen dos animais realizadas na quarta e na décima primeira semanas após o início do experimento.

A motilidade geral e o vigor foram avaliados segundo escalas de 0 a 100 e 0 a 5, respectivamente, segundo metodologia proposta por Scheid (1993). Para tal análise, retirou-se uma gota de sêmen imediatamente após a coleta, sendo esta colocada sobre lâmina, recoberta por lamínula previamente aquecida à temperatura de 37°C, para leitura ao microscópio óptico (40x). As avaliações foram realizadas em triplicata, independentemente, por dois avaliadores e expressas em percentual de células móveis da amostra.

O volume do ejaculado foi medido diretamente pela graduação do copo coletor, sendo a porção gelatinosa retirada para não mascarar os resultados.

Para análise de concentração espermática, foi retirada uma amostra de sêmen, com auxílio de uma pipeta automática de 0,01 ml, para ser adicionado a 1 ml de solução de NaCl a 10%. A contagem foi realizada por meio de hemocítômetro (câmara de Neubauer) na diagonal, com o resultado expresso em número de células/mm<sup>3</sup> de sêmen. O número total de células foi calculado por meio da multiplicação da concentração e volume do ejaculado segundo a metodologia de Martin Rillo et al. (1996).

Para a verificação de anormalidades dos espermatozóides foi utilizado 01 ml de solução de formol citrato, ao que foram adicionadas gotas de sêmen até a turvação da solução. Desta solução, homogeneizada, elaborou-se a preparação

úmida sem corante para a leitura das alterações morfológicas dos espermatozoides, em microscópio de contraste de fase com aumento de 1000X, por meio da contagem diferencial de 200 células, segundo Scheid (1993). As alterações morfológicas dos espermatozoides observadas nesse experimento foram alterações de cabeça, da peça intermediária, da cauda, presença de gota e alterações totais.

### **3.3 Análise dos ácidos graxos**

Para a análise do perfil de ácidos graxos incorporados nas células espermáticas, foi feita a centrifugação do sêmen a 1.500 g, por 10 minutos, sendo o precipitado preparado para dosagem em cromatógrafo gasoso.

Os procedimentos para extração e esterificação dos ácidos graxos seguiram o protocolo descrito por Guevara (2003), como é relatado a seguir.

No Laboratório de Química Analítica e Inorgânica da UFLA preservaram-se as amostras congeladas a -18°C e realizaram-se a extração dos lipídeos e a transmetilação e extração dos metil-éster dos ácidos graxos das diferentes amostras. O laboratório dispõe dos equipamentos necessários: freezer, balança eletrônica (Mark Bel), vortex (Biomatic - tipo 10005/3500rpm), banho ultra-sônico com controle de temperatura (ThomtonlUnique) centrífuga eletrônica (Sigma - tipo 2-5/3900 rpm).

O conteúdo de lipídeos das membranas dos espermatozoides dos varrões recebendo rações com diferentes fontes de óleo foi determinado usando uma versão modificada da metodologia de Isik et al. (1999). Foram pesados cerca de 0,330 g de amostra úmida disposta em tubos de ensaio de 20 ml, adicionando-se 1,0 ml de água, 3,0 ml de metanol e 1,5 ml de clorofórmio. A solução foi misturada usando um vortex durante 30 segundos e, depois, os tubos foram

colocados em banho ultra-sônico, com temperatura regulada a 40°C durante 15 minutos.

Em seguida, foram adicionados 1,5 ml de clorofórmio e 1,5 de água, e o conteúdo dos tubos foi agitado via vortex por 30 segundos. Os tubos de ensaio foram centrifugados a 3.500 rpm, durante 15 minutos. O sobrenadante (água + metanol) foi retirado com pipeta pasteur e a fase inferior com clorofórmio contendo o extrato de lipídios foi transferida a um tubo de ensaio de 30 ml. O resíduo sólido no tubo foi trabalhado com o processo de extração por mais duas vezes e as fases de clorofórmio foram juntadas e filtradas em papel de filtro molhado com clorofórmio. O filtrado foi concentrado mediante evaporação com nitrogênio em banho-maria (45-55°C) até obter os lipídios secos.

A composição de ácidos graxos das diferentes amostras de lipídios secos foi determinada aplicando-se a versão do método de Hartman & Lago (1973), citado por Rosa (1999), que consiste na preparação do material por homogeneização e saponificação para conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos. A extração dos metil-éster dos ácidos graxos, em diferentes passos incluiu a saponificação em banho fervente por 5 minutos, com 4 ml de NaOH 0,5M em metanol, esterificação em banho fervente por 5 minutos com reagente esterificante (10 g cloreto de amônia + 300 ml metanol + 15 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), adição de 4 ml de NaCl saturado, extração dos ésteres metílicos com 5ml de hexano, evaporação com gás N<sub>2</sub> em banho-maria (55°C) e, finalmente, adição de 1 ml de hexano para a sua determinação cromatográfica.

As análises cromatográficas foram realizadas no Laboratório de Pesquisa Animal/Zootecnia, utilizando-se um cromatógrafo gasoso CP 3800, Varian, equipado com injetor automático CP 8200, detector por ionização em chama, injetor split/splitless, coluna capilar de sílica fundida DB-W AX (30m x 0,25 mm x 0,25f!m) (J&W Scientific, USA). Os dados foram coletados e tratados

com uma estação de trabalho Varian Star, acoplada a um software (Borwin, JMBS Developpements). As condições cromatográficas foram: temperatura da coluna 150°C a 230°C. 10°C/minuto (isotérmica); gás de arraste nitrogênio numa vazão de 2,0 ml.min-1, temperatura do detector em 280°C e do injetor em 250°C e split na razão 1:25.

Os picos dos ácidos graxos foram integrados usando um software de cromatografia Varian Star e a identificação dos ácidos foi feita por comparação dos tempos de retenção com referência a padrão interno trabalhado e padrões certificados (PUFA 1 e 37 Component FAME Mix, Supelco), assim como por comparação com espectro de massa das diferentes amostras.

### 3.4 Sêmen resfriado

Utilizou-se o sêmen dos animais coletados na décima semana após o início do experimento para o processamento de resfriamento. Logo após a coleta e avaliação do sêmen, este foi diluído com diluente *Beltsville Thawing Solution* (BTS) comercializado pela Minitub do Brasil<sup>®</sup>, cuja fórmula está apresentada na Tabela 3.

**TABELA 03.** Composição química do diluente BTS (UFLA, Lavras, MG, 2004)

<b>Ingredientes</b>	<b>BTS</b>
Glicose (g)	37,00
Citrato de sódio (g)	6,00
Bicarbonato de sódio (g)	1,25
EDTA (g)	1,25
Cloreto de potássio (g)	0,75
Penicilina G potássica (UI)	500.000
Sulfato de estreptomicina (g)	0,50
Água destilada q.s.p. (ml)	1000

Realizou-se uma diluição de 1:1 (sêmen/diluyente), acrescentando sempre o diluyente ao sêmen, vagarosamente, com agitação constante do frasco de sêmen até completa mistura do diluyente. O diluyente foi preparado meia hora antes da diluição e mantido em banho-maria a uma temperatura de 32°C. O sêmen diluído foi armazenado em tubos de vidro à temperatura de 15 a 17°C. Após 24 horas de armazenamento, amostras de sêmen diluído com diluyente BTS foram aquecidas a 37°C durante 20 minutos e avaliadas com relação à motilidade e ao vigor dos espermatozoides.

### **3.5 Sêmen congelado**

Na décima primeira semana após o início do experimento, foram coletados sêmen dos animais para o processamento de congelamento seminal. O sêmen congelado usado neste experimento foi processado segundo a técnica Hulseberg/Hannover (Westendorf et al., 1975, citados por Gomes, 1979).

Feitas as avaliações microscópicas e físico-químicas, como descrito para sêmen resfriado, seguiu-se a diluição (1:1) com diluyente BTS (Tabela 03). A sequência metodológica foi a seguinte, como relatado por Murgas (1999).

O sêmen pré-diluído foi colocado num ambiente à temperatura de 20 a 24° C, durante duas horas.

Resfriou-se o sêmen e o diluyente de refrigeração D2 (Tabela 04) a uma temperatura de 15°C, durante duas horas.

**TABELA 04.** Diluente de refrigeração (D2), usado no congelamento do sêmen (UFLA, Lavras, MG, 2004)

<b>Ingredientes</b>	<b>Quantidades</b>
Lactose	11 g
Gema de ovo	25 ml
Água destilada q.s.p.	125 ml

A seguir, o sêmen foi centrifugado a 1.500 G, durante 10 minutos. Foi retirado o sobrenadante do centrifugado por pipetagem, centrifugando-se novamente por mais 10 minutos. Encerrada a centrifugação, o sêmen, então concentrado, foi diluído com o diluente de refrigeração (D2) na proporção de 1:1. Imediatamente, o sêmen foi colocado à temperatura de 5°C em geladeira juntamente com os diluentes D2 e D3 (Tabela 05) e as palhetas a utilizadas no envasamento.

**TABELA 05.** Diluente de congelamento (D3), usado no congelamento do sêmen (UFLA, Lavras, MG, 2004)

<b>Ingredientes</b>	<b>Quantidades</b>
Diluente D2	93,5 ml
Glicerol	4,5 ml

Depois de permanecer por uma hora e trinta minutos na geladeira a 5°C, o sêmen foi diluído novamente com diluente D2 na proporção 1:1.

Após a rediluição com diluente D2, foi realizada a diluição com diluente de congelamento (D3) a 5° C na proporção de 1:1. O sêmen foi envasado em palhetas de 0,55 ml. O congelamento em vapor de nitrogênio líquido foi realizado utilizando-se uma caixa de isopor contendo, em seu interior, uma grade de arame a 6 cm do nível de nitrogênio líquido. As palhetas foram colocadas sobre a grade, aí permanecendo por 20 minutos e, em seguida, transferidas para um botijão contendo nitrogênio líquido.

### **3.6 Avaliação testicular histológica**

Todos os animais de cada tratamento foram castrados após a décima primeira semana do início do experimento, para posterior avaliação dos parâmetros histológicos, seguindo a metodologia adotada por Trudeau et al. (1986). Imediatamente após a castração, os testículos foram pesados e medidos com auxílio de paquímetro.

Foram coletados fragmentos de parênquima testicular à castração, segundo metodologia utilizada por Silva (1997), os quais foram desidratados em séries crescentes de álcoois, diafanizados em xilol, incluídos em parafina e seccionados a 5 µm de espessura. Os cortes foram corados segundo a técnica de hematoxilina-eosina, de acordo com a técnica de Behmer et al. (1976), no Laboratório de Histopatologia do Departamento de Medicina Veterinária da UFLA.

A análise histológica dos testículos constou dos seguintes parâmetros:

- o diâmetro dos túbulos seminíferos (DTS), medido em 10 secções transversais de túbulos escolhidos ao acaso, apresentando contorno o mais circular possível, considerando-se sempre seu menor diâmetro, conforme recomendações de Berndtson & Picket (1987);

- a espessura do epitélio seminífero (EES), medida nas mesmas 10 secções em que se obteve o diâmetro tubular, a qual foi obtida de uma média de quatro medidas, desde a membrana basal até a borda luminal, separadas entre si por um ângulo de 90°.

### 3.7 Delineamento experimental e análise estatística

#### 3.7.1 Parâmetros seminais

Para as variáveis motilidade, vigor, alterações de cauda e presença de gota citoplasmática proximal dos espermatozóides, foi adotado o teste de qui-quadrado para verificar as diferenças entre os tratamentos, já que estes dados não foram significativos ao teste de normalidade e nem passíveis de transformação.

Para as variáveis de volume, concentração e número total de células espermáticas dos ejaculados, adotou-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + L_k + (FL)_{ik} + e_{ijk}$$

em que:

$Y_{ijk}$  = característica avaliada, referente ao tratamento  $i$  na data  $j$ ;

$\mu$  = média geral da característica;

$T_i$  = efeito do tratamento  $i$ , sendo  $i = 1, 2, 3$  e  $4$ ;

$B_j$  = efeito do bloco  $j$ , sendo  $j = 1, 2, 3, 4, 5$  e  $6$ ;

$L_k$  = efeito do semana  $k$ , sendo  $k = 1, 2, 3, 4, 5, 6$  e  $7$ ;

$(TL)_{ik}$  = efeito da interação do tratamento  $i$  com a semana  $k$ ;

$e_{ijk}$  = erro aleatório associado a cada observação, considerado normal e independentemente distribuído com média 0 e variância  $\sigma^2$ .

Para as variáveis alterações morfológicas totais e de cabeça dos espermatozoides dos ejaculados, adotou-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + P_k + (CP)_{ik} + e_{ijk}$$

em que

$Y_{ijk}$  = característica avaliada, referente ao tratamento  $i$  na data  $j$ ;

$\mu$  = média geral da característica;

$T_i$  = efeito do tratamento  $i$ , sendo  $i = 1, 2, 3$  e  $4$ ;

$B_j$  = efeito do bloco  $j$ , sendo  $j = 1, 2, 3, 4$  e  $5$ ;

$P_k$  = efeito da semana  $k$ , sendo  $k = 1, 2, 3, 4, 5, 6$  e  $7$ ;

$(TP)_{ik}$  = efeito da interação do tratamento  $i$  com a semana  $k$ ;

$e_{ijk}$  = erro aleatório associado a cada observação, considerado normal e independentemente distribuído com média 0 e variância  $\sigma^2$ .

### **3.7.2 Histologia testicular**

Para a análise de variância do diâmetro e da espessura do epitélio dos túbulos seminíferos dos testículos após a castração dos animais no final do experimento, seguiu-se seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + e_{ij}$$

em que

$Y_{ij}$  = característica avaliada, referente ao tratamento  $i$  na bloco  $j$ ;

$\mu$  = média geral da característica;

$A_i$  = efeito do tratamento  $i$ , sendo  $i = 1, 2, 3$  e  $4$ ;

$B_j$  = efeito do bloco  $j$ , sendo  $j = 1, 2, 3$  e  $4$ ;

$e_{ij}$  = erro aleatório associado a cada observação, considerado normal e independentemente distribuído com média 0 e variância  $\sigma^2$ .

### 3.7.3 Perfil de ácidos graxos

Para a análise de variância do perfil de ácidos graxos estudados, o modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + D_j + (TD)_{ij} + e_{ij}$$

em que

$Y_{ij}$  = característica avaliada, referente ao tratamento  $i$  na data  $j$ ;

$\mu$  = média geral da característica;

$T_i$  = efeito do tratamento  $i$ , sendo  $i = 1, 2, 3$  e  $4$ ;

$D_j$  = efeito da data  $j$ , sendo  $j = 1$  (início) e  $2$  (final);

$(TD)_{ij}$  = efeito da interação do tratamento  $i$  com a data  $j$ ;

$e_{ij}$  = erro aleatório associado a cada observação, considerado normal e independentemente distribuído com média 0 e variância  $\sigma^2$ .

### 3.7.4 Sêmen resfriado

Para as variáveis motilidade e vigor espermáticos após 24 horas sob resfriamento a 15-18°C aplicou-se o teste de qui-quadrado.

### 3.7.5 Sêmen congelado

Para a variável de alterações totais de cabeça dos espermatozóides após descongelamento adotou-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + H_i + M_j + e_{ij}$$

em que:

$Y_{ij}$  = característica avaliada, referente ao tratamento  $i$  na bloco  $j$ ;

$\mu$  = média geral da característica;

$H_i$  = efeito do tratamento  $i$ , sendo  $i = 1, 2, 3$  e  $4$ ;

$M_j$  = efeito do bloco  $j$ , sendo  $j = 1, 2, 3$  e  $4$ ;

$e_{ij}$  = erro aleatório associado a cada observação, considerado normal e independentemente distribuído com média 0 e variância  $\sigma^2$ .

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **4.1 Características seminais**

Os valores obtidos para as características físicas motilidade e vigor do sêmem dos animais que receberam as rações tratamentos estão dispostos nas Tabelas 06 e 07. Para a motilidade espermática não foi observada significância entre os tratamentos, porém, com relação ao vigor espermático o teste de qui-quadrado ( $P=0,0392$ ) mostrou ser significativo, sendo que a adição de 3% de óleo de peixe mostrou os melhores resultados em relação aos outros óleos, quando adicionado às dietas dos reprodutores. Rooke et al. (2001), fornecendo 3% de óleo de atum na dieta de varrões, observaram aumentos significativos da motilidade progressiva. Os resultados mostram que, embora a motilidade dos espermatozóides não sofressem melhora, a intensidade de movimentação destes, representada pelo vigor aumentado significativamente, pode melhorar a fertilidade destes animais recebendo o óleo de peixe em suas dietas.

**TABELA 06.** Motilidade espermática total (%) dos ejaculados dos reprodutores recebendo diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004)

Tratamentos		Avaliação									Total
		50	60	70	75	80	85	90	95	100	
1	Nº	1	6	4	1	8	7	7	8	0	42
	%	0,60	3,57	2,38	0,60	4,76	4,17	4,17	4,76	0,00	25,00
2	Nº	2	6	4	3	6	4	9	8	0	42
	%	1,19	3,57	2,38	1,79	3,57	2,38	5,36	4,76	0,00	25,00
3	Nº	0	2	9	2	11	9	6	2	1	42
	%	0,00	1,19	5,36	1,19	6,55	5,36	3,57	1,19	0,60	25,00
4	Nº	0	1	5	1	10	7	10	8	0	42
	%	0,00	0,60	2,98	0,60	5,95	4,17	5,95	4,76	0,00	25,00
<b>Total</b>		<b>3</b>	<b>15</b>	<b>22</b>	<b>7</b>	<b>35</b>	<b>27</b>	<b>32</b>	<b>26</b>	<b>1</b>	<b>168</b>
<b>%</b>		<b>1,79</b>	<b>8,93</b>	<b>13,10</b>	<b>4,17</b>	<b>20,83</b>	<b>16,07</b>	<b>19,05</b>	<b>15,48</b>	<b>0,60</b>	<b>100,00</b>

Teste de qui-quadrado (P=0,3613)

**Tratamentos:** 1 = controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo de PUFA + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

**TABELA 07.** Vigor espermáticos dos ejaculados dos reprodutores recebendo diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004)

Tratamentos		Avaliação					Total
		1	2	3	4	5	
1	Nº	0	6	9	14	13	42
	%	0,00	3,57	5,36	8,33	7,74	25,00
2	Nº	1	7	4	13	17	42
	%	0,60	4,17	2,38	7,74	10,12	25,00
3	Nº	0	3	13	18	8	42
	%	0,00	1,79	7,74	10,71	4,76	25,00
4	Nº	0	0	6	19	17	42
	%	0,00	0,00	3,57	11,31	10,12	25,00
<b>Total</b>		<b>1</b>	<b>16</b>	<b>32</b>	<b>64</b>	<b>55</b>	<b>168</b>
<b>%</b>		<b>0,60</b>	<b>9,52</b>	<b>19,05</b>	<b>38,10</b>	<b>32,74</b>	<b>100,00</b>

Teste de qui-quadrado (P=0,0392)

**Tratamentos:** 1 = controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo de pufo + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

Nas Tabelas 08, 09 e 10 estão mostrados os valores médios para o volume, a concentração e o número total de células (NTC) do ejaculado, respectivamente. O volume e o NTC foram significativamente maiores ( $P < 0,01$ ) para o tratamento que recebeu o óleo comercial PUFA<sup>®</sup>, porém, a concentração dos ejaculados mostrou-se semelhante entre os tratamentos.

**TABELA 08.** Valores médios para o volume (ml) do ejaculado dos suínos recebendo diferentes fontes de óleo na dieta (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Dias	Tratamentos								Média	
	1		2		3		4		NT	T
	NT	T	NT	T	NT	T	NT	T		
7	<b>134,35</b>	4,90	<b>111,64</b>	4,72	<b>206,06</b>	5,33	<b>154,80</b>	5,04	<b>147,90</b>	5,00
14	<b>158,28</b>	5,06	<b>141,92</b>	4,96	<b>267,71</b>	5,59	<b>179,17</b>	5,19	<b>181,18</b>	5,20
21	<b>137,78</b>	4,93	<b>175,48</b>	5,17	<b>189,38</b>	5,24	<b>175,73</b>	5,17	<b>168,42</b>	5,13
28	<b>142,62</b>	4,96	<b>152,44</b>	5,03	<b>204,86</b>	5,32	<b>163,21</b>	5,10	<b>164,20</b>	5,10
35	<b>209,92</b>	5,35	<b>131,03</b>	4,88	<b>246,66</b>	5,51	<b>166,76</b>	5,12	<b>183,40</b>	5,21
42	<b>222,38</b>	5,40	<b>154,90</b>	5,04	<b>204,24</b>	5,32	<b>169,32</b>	5,13	<b>185,78</b>	5,22
49	<b>184,18</b>	5,22	<b>232,90</b>	5,45	<b>223,90</b>	5,41	<b>173,23</b>	5,15	<b>201,97</b>	5,31
<b>Média</b>	<b>166,80</b>	5,12 b	<b>153,45</b>	5,03 b	<b>218,97</b>	5,39 a	<b>168,71</b>	5,13 b		

Médias seguidas de letras distintas na linha diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

**Tratamentos:** 1 = controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo PUFA<sup>®</sup> + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

NT = dados não transformados; T = dados transformados através da raiz quadrada dos dados coletados

Murgas (1999), trabalhando com óleo de soja na dieta de reprodutores, também encontrou aumento do volume espermático quando adicionou 4,2% do óleo na alimentação.

**TABELA 09.** Valores médios para concentração espermática ( $\times 10^5/\text{mm}^3$ ) dos suínos recebendo diferentes fontes de óleo na dieta (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Dias	Tratamentos								Média	
	1		2		3		4		NT	T
	NT	T	NT	T	NT	T	NT	T		
7	<b>3,30</b>	1,19	<b>2,60</b>	0,95	<b>2,89</b>	1,06	<b>2,35</b>	0,85	<b>2,76</b>	1,02
14	<b>3,25</b>	1,18	<b>3,58</b>	1,28	<b>2,54</b>	0,93	<b>3,77</b>	1,33	<b>3,25</b>	1,18
21	<b>3,82</b>	1,34	<b>3,17</b>	1,15	<b>2,19</b>	0,78	<b>4,87</b>	1,58	<b>3,37</b>	1,22
28	<b>2,81</b>	1,03	<b>3,13</b>	1,14	<b>1,88</b>	0,63	<b>2,82</b>	1,04	<b>2,61</b>	0,96
35	<b>3,27</b>	1,18	<b>4,10</b>	1,41	<b>4,27</b>	1,45	<b>2,63</b>	0,97	<b>3,50</b>	1,25
42	<b>4,27</b>	1,45	<b>4,04</b>	1,40	<b>5,18</b>	1,64	<b>3,24</b>	1,18	<b>4,12</b>	1,42
49	<b>3,33</b>	1,20	<b>4,23</b>	1,44	<b>2,69</b>	0,99	<b>3,96</b>	1,38	<b>3,50</b>	1,25
<b>Média</b>	<b>3,41</b>	1,23	<b>3,50</b>	1,25	<b>2,92</b>	1,07	<b>3,28</b>	1,19		

**Tratamentos:** 1 = controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo PUFA® + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

NT = dados não transformados; T = dados transformados através da raiz quadrada dos dados coletados.

Maldjian et al. (2001), fornecendo um suplemento específico (PROSPERM) de ácidos graxos poliinsaturados para varrões, observaram aumentos dos níveis de DHA e diminuição de EPA, ambos ômega-3, proporcionado aumento da concentração espermática dos ejaculados em relação ao grupo controle que não recebia óleo em sua dieta. Porém, Murgas (1999),

usando óleo de soja, que é mais rico em fontes de ácidos graxos ômega-6, não encontrou melhora neste parâmetro.

**TABELA 10.** Valores médios para o número total de células espermáticas ( $\times 10^9$ ) dos suínos recebendo diferentes fontes de óleo na dieta (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Dias	Tratamentos								Média	
	1		2		3		4		NT	T
	NT	T	NT	T	NT	T	NT	T		
7	<b>40,71</b>	3,71	<b>42,64</b>	3,75	<b>71,20</b>	4,27	<b>65,62</b>	4,18	<b>53,37</b>	3,98
14	<b>48,66</b>	3,88	<b>39,63</b>	3,68	<b>105,36</b>	4,66	<b>47,47</b>	3,86	<b>55,73</b>	4,02
21	<b>36,04</b>	3,58	<b>55,37</b>	4,01	<b>86,44</b>	4,46	<b>36,11</b>	3,59	<b>49,96</b>	3,91
28	<b>50,62</b>	3,92	<b>48,71</b>	3,89	<b>108,83</b>	4,69	<b>57,47</b>	4,05	<b>62,66</b>	4,14
35	<b>64,20</b>	4,16	<b>31,92</b>	3,46	<b>57,47</b>	4,05	<b>63,04</b>	4,14	<b>52,20</b>	3,96
42	<b>51,57</b>	3,94	<b>38,05</b>	3,64	<b>39,15</b>	3,67	<b>51,90</b>	3,95	<b>44,68</b>	3,80
49	<b>55,03</b>	4,01	<b>53,74</b>	3,98	<b>82,51</b>	4,41	<b>43,15</b>	3,76	<b>56,96</b>	4,04
<b>Média</b>	<b>48,79</b>	3,89 b	<b>43,56</b>	3,77 b	<b>74,80</b>	4,31 a	<b>51,12</b>	3,93 b		

Médias seguidas de letras distintas na linha, diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

**Tratamentos:** 1 = controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo PUFA<sup>®</sup> + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

NT = dados não transformados; T = dados transformados através da raiz quadrada dos dados coletados.

Embora a concentração espermática não tenha sido alterada significativamente pelos tratamentos, observou-se uma queda da concentração em decorrência da maior produção de líquido seminal pelas glândulas acessórias pelo uso do óleo comercial PUFA<sup>®</sup>, sendo que o maior número de células no ejaculado foi proporcionado pelo maior volume espermático destes animais. Também destaca-se que o maior diâmetro dos túbulos seminíferos dos testículos

dos animais recebendo o óleo comercial PUFA<sup>®</sup> observado na histologia testicular possa explicar o maior volume e número de células produzidas no ejaculado desse grupo de animais em relação aos outros tratamentos.

Na Tabela 11 estão mostrados os valores médios das alterações morfológicas totais dos ejaculados dos reprodutores recebendo as dietas com diferentes fontes de óleos.

**TABELA 11.** Valores médios das alterações morfológicas totais (%) dos espermatozoides dos varrões recebendo suplementação de ácidos graxos nas dietas (UFLA, Lavras, MG, 2004).

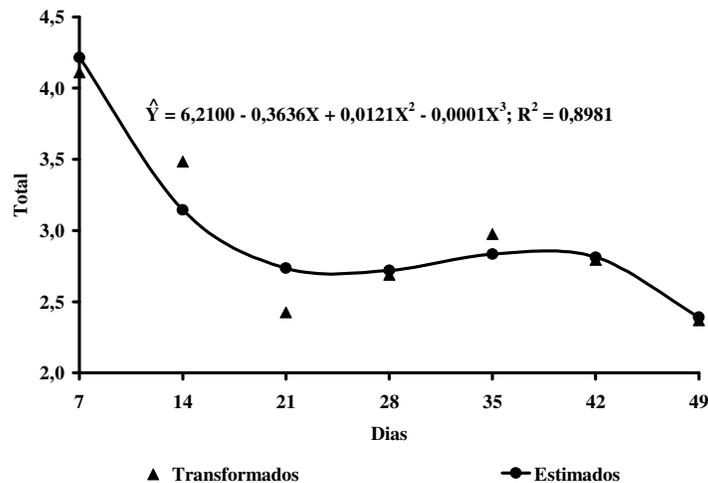
Dias	Tratamentos								Média	
	1		2		3		4		NT	T
	NT	T	NT	T	NT	T	NT	T		
7	<b>18,75</b>	4,33	<b>20,07</b>	4,48	<b>16,08</b>	4,01	<b>13,10</b>	3,62	<b>16,89</b>	<b>4,11</b>
14	<b>13,25</b>	3,64	<b>9,61</b>	3,10	<b>10,82</b>	3,29	<b>15,21</b>	3,90	<b>12,13</b>	<b>3,48</b>
21	<b>3,88</b>	1,97	<b>5,48</b>	2,34	<b>4,24</b>	2,06	<b>11,02</b>	3,32	<b>5,88</b>	<b>2,43</b>
28	<b>8,01</b>	2,83	<b>2,82</b>	1,68	<b>10,43</b>	3,23	<b>8,94</b>	2,99	<b>7,23</b>	<b>2,69</b>
35	<b>6,15</b>	2,48	<b>11,83</b>	3,44	<b>9,18</b>	3,03	<b>8,70</b>	2,95	<b>8,85</b>	<b>2,97</b>
42	<b>8,01</b>	2,83	<b>9,92</b>	3,15	<b>5,20</b>	2,28	<b>8,47</b>	2,91	<b>7,80</b>	<b>2,79</b>
49	<b>4,12</b>	2,03	<b>11,70</b>	3,42	<b>1,77</b>	1,33	<b>7,13</b>	2,67	<b>5,62</b>	<b>2,37</b>
<b>Média</b>	<b>8,29</b>	<b>2,88</b>	<b>9,55</b>	<b>3,09</b>	<b>7,56</b>	<b>2,75</b>	<b>10,24</b>	<b>3,20</b>		

**Tratamentos:** 1 = controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo PUFA<sup>®</sup> + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

NT = dados não transformados; T = dados transformados através da raiz quadrada dos dados coletados

Não houve efeito significativo ( $P>0,10$ ) dos tratamentos sobre este parâmetro. Murgas (1999) trabalhando com animais púberes e coletando sêmen após fornecimento de óleo de soja até os 120 kg também não encontrou diferença nas alterações morfológicas com a adição do óleo em relação ao controle (sem óleo). No entanto, os valores médios observados foram bem superiores aos encontrados neste trabalho com óleos ômega-3. Talvez a melhor explicação seja a de que os animais deste experimento apresentaram uma maior maturidade sexual, devido a maiores idade e peso, o que refletiu em menores alterações morfológicas.

As alterações morfológicas totais diminuíram significativamente ( $P<0,01$ ) à medida que foram sendo realizadas as coletas (Figura 02). Esses resultados indicam que os animais, ao longo do experimento, ainda apresentaram melhora na qualidade espermática, em função da maturidade sexual não totalmente estabelecida.



**FIGURA 02.** Morfologia espermática total dos ejaculados dos varrões recebendo dietas com diferentes fontes de óleos (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Segundo Bortolozzo (1999), os suínos, ao passar da idade dos 4 aos 7 meses, apresentam aumentos gradativos no volume e concentração espermáticos e, ao mesmo tempo, redução do número de células espermáticas morfológicamente alteradas.

Os valores médios para as alterações morfológicas de cabeça e da cauda dos espermatozóides estão demonstrados nas Tabelas 12 e 13, respectivamente. O efeito dos tratamentos não foi observado, mas também foi observada uma redução nas alterações de cabeça do espermatozóide ao longo do período de realizações das coletas (Figura 03). Com relação às alterações de cauda, foi possível observar significância ( $P=0,055$ ) pelo teste de qui-quadrado, devido ao fornecimento dos óleos aos animais, sendo que o tratamento sem a adição de óleo apresentou os melhores resultados, principalmente quando confrontado com os valores médios com a adição do óleo de peixe.

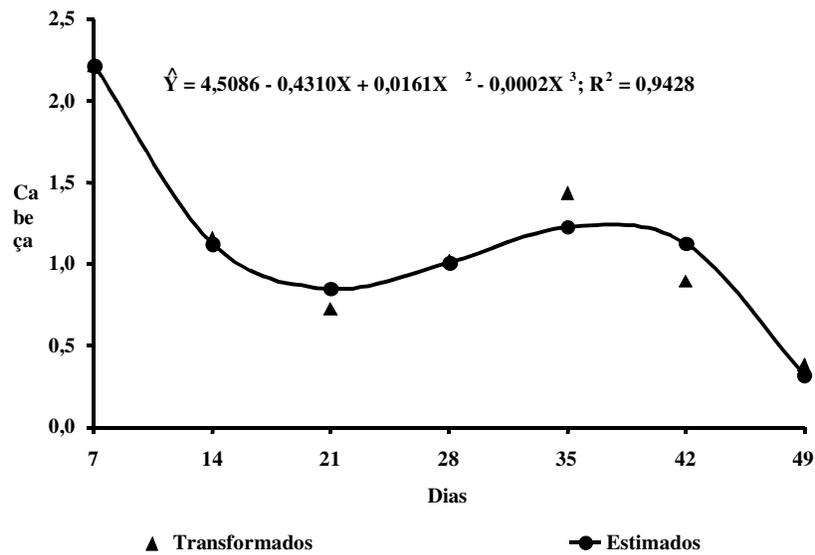
**TABELA 12.** Valores médios das alterações morfológicas da cabeça (%) dos espermatozóides dos varrões recebendo suplementação de ácidos graxos nas dietas (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Dias	Tratamentos								Média	
	1		2		3		4		NT	T
	NT	T	NT	T	NT	T	NT	T		
7	<b>6,67</b>	2,58	<b>4,60</b>	2,14	<b>7,19</b>	2,68	<b>2,12</b>	1,46	<b>4,93</b>	<b>2,22</b>
14	<b>1,47</b>	1,21	<b>0,78</b>	0,88	<b>1,25</b>	1,12	<b>2,00</b>	1,41	<b>1,35</b>	<b>1,16</b>
21	<b>0,59</b>	0,77	<b>1,38</b>	1,17	<b>0,08</b>	0,28	<b>0,47</b>	0,68	<b>0,52</b>	<b>0,72</b>
28	<b>2,78</b>	1,67	<b>0,08</b>	0,28	<b>1,56</b>	1,25	<b>0,78</b>	0,88	<b>1,04</b>	<b>1,02</b>
35	<b>2,79</b>	1,67	<b>2,12</b>	1,46	<b>2,10</b>	1,45	<b>1,36</b>	1,17	<b>2,07</b>	<b>1,44</b>
42	<b>0,87</b>	0,93	<b>0,47</b>	0,68	<b>0,56</b>	0,75	<b>1,49</b>	1,22	<b>0,81</b>	<b>0,90</b>
49	<b>0,23</b>	0,48	<b>0,32</b>	0,57	<b>0,08</b>	0,28	<b>0,04</b>	0,20	<b>0,14</b>	<b>0,38</b>
<b>Média</b>	<b>1,77</b>	<b>1,33</b>	<b>1,06</b>	<b>1,03</b>	<b>1,25</b>	<b>1,12</b>	<b>1,00</b>	<b>1,00</b>		

**Tratamentos:** 1 = Controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo PUFA<sup>®</sup> + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

NT = dados não transformados; T = dados transformados através da raiz quadrada dos dados coletados

Em suínos, as alterações do acrossoma podem passar facilmente despercebidas se o observador não estiver atento. O acrossoma pode apresentar-se de várias maneiras, isto é, enrugado, condensado, dobrado, solto ou vesiculoso (Ferreira, 1995).



**FIGURA 03.** Alterações morfológicas da cabeça dos espermatozoides dos ejaculados dos varrões recebendo dietas com diferentes fontes de óleos (UFLA, Lavras, MG, 2004).

**TABELA 13.** Valores médios das alterações morfológicas da cauda (%) dos espermatozoides dos varrões recebendo suplementação de ácidos graxos nas dietas (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Tratamentos		Classes						Total	
		≤ 5	6-10	11-15	16-20	21-30	31-35		
1	Nº	33	0	2	0	0	0	35	
	%	23,57	0,00	1,43	0,00	0,00	0,00	25,00	
2	Nº	26	5	0	3	1	0	35	
	%	18,57	3,57	0,00	2,14	0,71	0,00	25,00	
3	Nº	28	5	1	1	0	0	35	
	%	20,00	3,57	0,71	0,71	0,00	0,00	25,00	
4	Nº	22	8	2	1	0	2	35	
	%	15,71	5,71	1,43	0,71	0,00	1,43	25,00	
<b>Total</b>		<b>109</b>	<b>18</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>140</b>	
		<b>%</b>	<b>77,86</b>	<b>12,86</b>	<b>3,57</b>	<b>3,57</b>	<b>0,71</b>	<b>1,43</b>	<b>100,00</b>

Teste de qui-quadrado (P=0,0550)

**Tratamentos:** 1 = controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo PUFA® + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

Com relação à presença de gota citoplasmática proximal, não observou-se diferença significativa entre os tratamentos (P>0,10). Os dados estão demonstrados na Tabela 14.

Segundo Hafez (1982), nos animais, a gota citoplasmática, que é um resto de citoplasma da espermátide, normalmente se desloca ao longo da peça intermediária durante a passagem dos espermatozoides através do epidídimo. Assim, os tratamentos não mostraram haver interferência nesta eliminação de membranas durante a maturação espermática.

**TABELA 14.** Valores médios das alterações morfológicas de gota proximal (%) dos espermatozoides dos varrões recebendo suplementação de ácidos graxos nas dietas (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Tratamentos		Classes					Total
		≤ 5	6-10	11-15	16-20	21-30	
1	Nº	32	0	1	1	1	35
	%	22,86	0,00	0,71	0,71	0,71	25,00
2	Nº	32	2	0	0	1	35
	%	22,86	1,43	0,00	0,00	0,71	25,00
3	Nº	33	2	0	0	0	35
	%	23,57	1,43	0,00	0,00	0,00	25,00
4	Nº	33	2	0	0	0	35
	%	23,57	1,43	0,00	0,00	0,00	25,00
<b>Total</b>		<b>130</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>140</b>
<b>%</b>		<b>92,86</b>	<b>4,29</b>	<b>0,71</b>	<b>0,71</b>	<b>1,43</b>	<b>100,00</b>

Teste de qui-quadrado (P=0,6133)

**Tratamentos:** 1 = controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo PUFA® + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

As características do sêmen, observadas neste experimento, podem ser consideradas satisfatórias, uma vez que coincidem com os valores considerados normais para o suíno adulto, de acordo com Owsiany et al. (1998).

#### 4.2 Histologia testicular

Na Tabela 15 estão evidenciados os valores médios para os parâmetros histológicos de espessura do epitélio e diâmetro dos túbulos seminíferos. Foi

observado um significativo aumento no diâmetro tubular ( $P < 0,05$ ) dos animais recebendo o óleo comercial PUFA<sup>®</sup>.

**TABELA 15.** Valores médios ( $\times 10^3 \mu\text{m}$ ) para espessura do epitélio e diâmetro dos túbulos seminíferos em suínos alimentados com diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Variáveis	Tratamentos			
	1	2	3	4
Diâmetro tubular	0,209 ab	0,207 b	0,243 a	0,220 ab
Espessura tubular <sup>A</sup>	0,064	0,069	0,092	0,070
Espessura tubular <sup>B</sup>	2,754 a	2,684 a	2,430 a	2,658 a

Médias seguidas de letras distintas na linha, diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

**Tratamentos:** 1 = controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo PUFA<sup>®</sup> + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

**A** = dados não transformados; **B** = dados transformados através de  $-\log_{(10)}$ .

Murgas (1999) não encontrou diferença significativa entre os tratamentos com diferentes níveis de soja e sem a adição deste óleo.

### 4.3 Perfil de ácidos graxos dos espermatozoides

Os resultados da análise de variância não mostraram efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para os ácidos graxos  $\omega$ -linolênico e EPA, entretanto, as alterações de DHA na membrana dos espermatozoides foram significativas ( $P < 0,01$ ), conforme mostrado nas Tabelas 16, 17 e 18, respectivamente. Entretanto, foi observada uma interação entre os efeitos dos tratamentos e data de observação do perfil dos ácidos graxos nos espermatozoides.

**TABELA 16.** Valores médios para o ácido  $\alpha$ -linolênico nos ejaculados dos reprodutores suínos recebendo diferentes fontes de óleo no início e final do experimento (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Tratamentos	Data		Média
	Início	Final	
1	0,41 Ab	2,91 ABa	<b>1,66 A</b>
2	0,28 Ab	2,22 ABa	<b>1,25 A</b>
3	0,45 Ab	3,35 Aa	<b>1,90 A</b>
4	0,19 Ab	1,73 Ba	<b>0,96 A</b>
<b>Média</b>	<b>0,35 b</b>	<b>2,63 a</b>	

Médias seguidas de letras distintas minúsculas na linha, diferem pelo teste de "F".

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na coluna, diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

**Tratamentos:** 1 = controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo PUFA<sup>®</sup> + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

**Início:** após quatro semanas de fornecimento das rações experimentais; **Final:** após onze semanas de fornecimento das rações experimentais;

**TABELA 17.** Valores médios para o EPA nos ejaculados dos reprodutores suínos recebendo diferentes fontes de óleo no início e final do experimento (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Tratamentos	Data		Média
	Início	Final	
1	0,51 Ab	2,10 Aa	<b>1,30 A</b>
2	0,25 Ab	1,61 Aa	<b>0,93 A</b>
3	0,26 Ab	2,18 Aa	<b>1,22 A</b>
4	0,13 Ab	1,20 Aa	<b>0,67 A</b>
<b>Média</b>	<b>0,30 b</b>	<b>1,82 a</b>	

Médias seguidas de letras distintas minúsculas na linha, diferem pelo teste de "F".

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na coluna, diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

**Tratamentos:** 1 = Controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = Ração com 3% de óleo PUFA<sup>®</sup> + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

**Início:** após quatro semanas de fornecimento das rações experimentais; **Final:** após onze semanas de fornecimento das rações experimentais.

**TABELA 18.** Valores médios para o DHA nos ejaculados dos reprodutores suínos recebendo diferentes fontes de óleo no início e final do experimento (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Tratamentos	Data		Média
	Início	Final	
1	11,22 ABa	9,36 Ba	<b>10,29 B</b>
2	8,43 Bb	14,34 Ba	<b>11,39 B</b>
3	17,58 Aa	16,42 ABa	<b>17,00 A</b>
4	10,57 ABb	23,29 Aa	<b>16,93 A</b>
<b>Média</b>	<b>12,30 b</b>	<b>15,43 a</b>	

Médias seguidas de letras distintas minúsculas na linha, diferem pelo teste de “F”.

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na coluna, diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

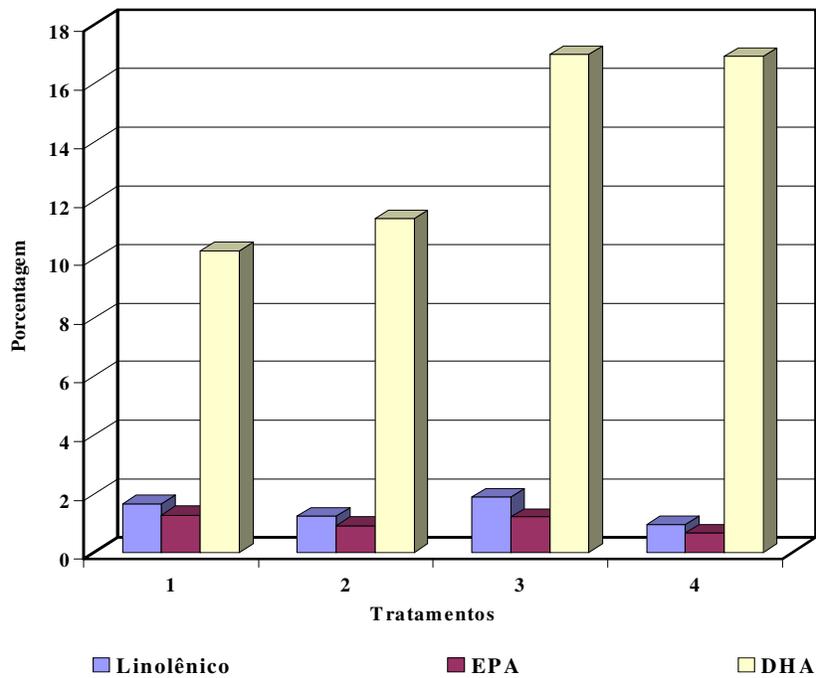
**Tratamentos:** 1 = controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo PUFA<sup>®</sup> + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

**Início:** após quatro semanas de fornecimento das rações experimentais; **Final:** após onze semanas de fornecimento das rações experimentais.

Na Figura 04 é ilustrada o comportamento de deposição dos ácidos ao longo do experimento.

Na quarta semana de fornecimento das diferentes fontes de óleo aos animais, quando foi realizada a primeira análise do perfil de ácidos graxos dos espermatozóides notou-se que somente o DHA aumentou significativamente (P<0,01) na membrana dos espermatozóides, sendo este efeito mais pronunciado quando da utilização do óleo comercial PUFA<sup>®</sup> e do óleo de peixe. No entanto, no final do experimento, ou seja após onze semanas de fornecimento dos óleos aos animais, observou-se um aumento significativo dos ácidos graxo  $\omega$ -linolênico (P<0,05), do EPA (P<0,05) e do DHA (P<0,01). Esses resultados

estão de acordo com Warnants et al. (1999) que relataram que o tempo necessário para incorporação máxima de PUFA nos tecidos é de cerca de 6 semanas, podendo haver uma incorporação significativa com 4 semanas. Paulenz et al. (1995), fornecendo óleo de fígado de peixe na dieta de suínos observaram mudanças nos ácidos graxos dos fosfolípidos do plasma seminal somente a partir de cinco semanas.



**FIGURA 04.** Perfil dos ácidos graxos  $\omega$ 3 encontrados nas membranas dos espermatozoides dos varrões recebendo diferentes fontes de óleo na alimentação (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Durante o experimento foi observado que os animais recebendo somente farelo de soja e milho juntamente com a suplementação de vitamina E (controle) mudaram o perfil de ácidos graxos, sendo evidenciado aumentos significativos para o  $\alpha$ -linolênico e EPA. Com relação ao fornecimento do óleo de linhaça aos animais, foi observado um aumento significativo ( $P < 0,01$ ) dos ácidos graxos  $\alpha$ -linolênico e EPA e também do DHA ( $P < 0,01$ ).

No tratamento 3 (uso do óleo comercial PUFA<sup>®</sup>), somente o DHA não teve condições de sofrer maior incorporação até a fase final do experimento, ou seja, obteve uma grande incorporação já nas primeiras quatro semanas e o seu perfil seguiu de forma constante até as onze semanas de uso dos óleos.

Finalmente, com a suplementação de óleo de peixe nas rações dos varrões, observamos que os ácidos graxos  $\alpha$ -linolênico e EPA aumentaram significativamente ( $P < 0,05$ ) durante o experimento, sendo que também o DHA apresentou um acréscimo ( $P < 0,01$ ), sendo este bem mais pronunciado, talvez em função da sua maior percentagem na composição química do óleo de peixe.

#### **4.4 Parâmetros seminais após resfriamento**

Os valores médios dos parâmetros de motilidade e vigor espermáticos estão representados nas Tabelas 19 e 20, respectivamente.

**TABELA 19.** Valores médios para motilidade espermática total (%) do sêmen resfriado a 15-18°C durante 24 horas em diluente BTS de varrões consumindo dietas contendo diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004)

Tratamentos	Avaliação									Total
	45	50	55	60	70	75	80	85		
1	Nº	0	0	0	1	1	1	0	1	4
	%	0,00	0,00	0,00	6,25	6,25	6,25	0,00	6,25	25,00
2	Nº	0	0	0	1	2	0	1	0	4
	%	0,00	0,00	0,00	6,25	12,50	0,00	6,25	0,00	25,00
3	Nº	1	1	2	0	0	0	0	0	4
	%	6,25	6,25	12,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	25,00
4	Nº	0	0	0	1	0	1	2	0	4
	%	0,00	0,00	0,00	6,25	0,00	6,25	12,50	0,00	25,00
<b>Total</b>		<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>16</b>
	%	<b>6,25</b>	<b>6,25</b>	<b>12,50</b>	<b>18,75</b>	<b>18,75</b>	<b>12,50</b>	<b>18,75</b>	<b>6,25</b>	<b>100,00</b>

Teste de qui-quadrado (P=0,2330)

**Tratamentos:** 1 = controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo PUFA® + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

Os animais consumindo a dieta com óleo de peixe tiveram uma maior frequência com valores de motilidade maiores que os outros tratamentos, no entanto, não diferiram estatisticamente pelo teste de qui-quadrado. Em um outro trabalho pouco semelhante, Murgas (1999), usando óleo de soja em diferentes proporções, também não conseguiu observar diferenças quanto à motilidade espermática.

**TABELA 20.** Valores médios para vigor espermáticos do sêmen resfriado a 15-18°C durante 24 horas em diluente BTS de varrões consumindo dietas contendo diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004)

Tratamentos	Avaliação			Total	
	2	3	4		
1	Nº	1	2	1	4
	%	6,25	12,50	6,25	25,00
2	Nº	0	2	2	4
	%	0,00	12,50	12,50	25,00
3	Nº	2	2	0	4
	%	12,50	12,50	0,00	25,00
4	Nº	1	2	1	4
	%	6,25	12,50	6,25	25,00
<b>Total</b>		<b>4</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>16</b>
	%	<b>25,00</b>	<b>50,00</b>	<b>25,00</b>	<b>100,00</b>

Teste de qui-quadrado (P=0,6767)

**Tratamentos:** 1 = controle + vitamina E; 2 = ração com 3% de óleo de linhaça + vitamina E; 3 = ração com 3% de óleo PUFA® + vitamina E; 4 = ração com 3% de óleo de peixe + vitamina E.

Também não foi observada influência dos tratamentos sobre o vigor espermático dos ejaculados após conservação em geladeira por 24 horas. Isto demonstra que os ácidos graxos fornecidos não melhoram a qualidade do sêmen armazenado, talvez por não alterar a integridade das células espermáticas.

#### 4.5 Parâmetros seminais após congelamento

Na Tabela 21 estão representados os valores médios das alterações estruturais de cabeça dos espermatozoides dos ejaculados dos reprodutores recebendo as diferentes fontes de óleo, após 20 dias de congelamento.

**TABELA 21.** Valores médios para alterações totais da cabeça dos espermatozoides do ejaculado de suínos recebendo diferentes fontes de óleo em suas dietas (UFLA, Lavras, MG, 2004).

Tratamentos	Alterações
1	30,38 ab
2	24,13 a
3	42,63 b
4	39,63 ab

Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

**Tratamentos:** 1 = Controle + vitamina E; 2 = Ração com 3% de óleo de linhaça + Vitamina E; 3 = Ração com 3% de óleo PUFA® + Vitamina E; 4 = Ração com 3% de óleo de f + Vitamina E.

Após o descongelamento, os animais que receberam o óleo de linhaça em suas dietas tiveram uma redução significativa ( $P < 0,05$ ) nas alterações da cabeça dos espermatozoides.

Coincidentemente, os tratamentos 3 e 4, que obtiveram uma maior percentagem de alterações da cabeça dos espermatozoides, foram aqueles que apresentaram uma maior percentagem do ácido graxo poliinsaturado DHA. Este comportamento pode ser explicado por alterações físico-químicas que a membrana dos espermatozoides podem experimentar quando a proporção dos

ácidos graxos de suas membranas forem alteradas, como já foi sugerido por Sudheera et al. (1997).

Coniglio (1977), citado por Stubbs & Smith (1984), destaca que, embora com níveis particularmente não muito elevados, os ácidos graxos essenciais de cadeia longa no testículo são de grande importância, uma vez que existem evidências de que esses ácidos graxos têm um papel importante na integridade das membranas testiculares.

Também, como o EPA é um ácido graxo altamente poliinsaturado, pode-se imaginar que a vitamina E utilizada ou os níveis empregados nas rações destes animais não foram totalmente suficientes para evitar lesões celulares por ocasião de peroxidações, conforme observações descritas Niki et al. (1993). Segundo Aitken (1994) e Sikka et al. (1995), estas lesões podem, conseqüentemente, causar baixa fertilidade nos machos.

Embora Maldjian et al. (2001) tenham descrito que mudanças específicas de ácidos graxos (PUFA) nas membranas espermáticas podem promover efeitos benéficos ao sêmen resfriado e congelado de suínos, nas condições em que este experimento foi realizado não foi possível observar melhora na qualidade dos ejaculados processados.

## 5 CONCLUSÕES

Nas condições em que se realizou este experimento, pode-se concluir que:

1. os suínos podem alterar o perfil de ácidos graxos de suas membranas espermáticas, em função da dieta fornecida a estes animais;
2. nas avaliações do sêmen “in natura”, o uso de óleo comercial PUFA<sup>®</sup> e o óleo de peixe nas rações dos animais demonstraram ser mais eficientes para a produção de células espermáticas e para a viabilidade destas células, respectivamente;
3. nas avaliações do sêmen após resfriamento, o uso das fontes de óleos não mostrou capacidade de alterar a qualidade;
4. nas avaliações do sêmen após o congelamento, verificou-se que o uso dos óleos comercial PUFA<sup>®</sup> e o óleo de peixe resultou na piora da integridade das membranas espermáticas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. L.; PRAIT, D. E.; LIN, J. H. et al. Introduction of omega-3 polyunsaturated fatty acids into eggs. **Poultry Science**, Cbampaign, v. 68, , p. 166, 1989. Supplement 1.

AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL-ARC. **The nutrient requeriments of the pig**. Slought: Commonwealth Agricultural Bureau, 1981. 307 p.

ALAKU, O.; STEINBACH, J. Effect of age, season and body weight on reproductive organs weight in male pigs. **Journal of Animal Production Research**, Ottawa, v. 1, n. 2, p. 135-143, 1981

ALBA, L., O.; HERNÁNDEZ, R; RODRIGUEZ, M.; QUINONES, P. Testimetria de cerdos Landrace hasta un afio de edad. **Revista de Salud Animal**, Habana, v. 5, p. 201-204, 1983.

ANDERSON, M. Relationship between GnRH induced maximu, sperm motility and fertility in Ayrshire bons. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 27, n. 2, p. 07-111, 1992.

ARBUCKLE, L. D.; RIOIJX, F. M.; MACKINNON, M. J.; INNIS S. M. Formula a-linolenic (18:3(n-3)) and linoleic (18:2(n-6)) acid influence neonatal piglet liver and brain satured fatty acids, as well as docosahexaenoic acid (22:6(n-3)). **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1125, n. 3, p. 262-267, May 1992.

AYALA, S.; BRENNER, R R. Effect of essential fatty acids in rat reproduction. **Acta physiological of Latin American**, Bethesda, v. 30, p. 1017-1024, 1980.

BARLOW, S.; PIKE, I. H. Humans, animals benefit from omega-3 polyunsaturated fatty acids. **Feedstuffs**, Mineapolis, v. 63, n. 19, p. 18-26, May 1991.

BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; NETO, A. G. F. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Pulo: Edart, 1976. 346 p.

BELDA, M.C.R.; POURCHET -CAMPOS, M. A. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 11, n. 1, p. 5-35, jan./jun. 1991.

BERNDTSON, W. E.; PICKET, B. W. Relationship of absolute number of Sertoli cells to testicular size and spermatogenesis in young beef bulls. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 64, n. 3, p. 241-246, Mar. 1987.

BONET, S. Immature and aberrant spermatozoa in the ejaculate of *Sus domesticus*. **Animal Reproduction Science**. Amsterdam, v. 22, n. 1, p. 6780, Mar. 1990.

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

BUCHANAN, D. S. The crossbred boar. **Pig News and Information**, Wallingford, v. 9, n. 3, p. 269-275, Sept. 1988.

CASTRO, A. C. S.; CARDOSO, F. M.; FRANÇA, L. R.; Effect of puberty and sexual development on daily sperm production and epididymal sperm reserves or Piau boars. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 25, n. 1, p. 83-90, May 1991.

CHAMBAZ, J.; PEPIN, D.; ROBERT, A et al. Protein stimulated enrichment of human platelet membranes in linoleyl-phosphatidylcholines. effect upon adenylate cyclase and fluidity. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 727, n. 2, p. 313-326, 1983.

CHERIAN, G.; SIM, J. S. Dietary *a* linolenic acid alters the fatty acid composition of lipid classes in swine tissues. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 43, n. 11, p. 2911-2916, Nov. 1995.

CHRISTENSEN, A. K. Leydig censo In: HAMILTON, D. W.; GREEP, R. O. **Handbook of Physiology: endocrinology, male reproductive system.** Washington, DC: American Physiological Society, 1975. v. 5, Section 7, p. 57-94.

CLAUS, R; WEILLER, U. Influence of light and photoperiodicity on pig prolificacy. In: FOXCROFT, G. R; COLE, D. I. A.; WEIR, B. I. **Control of Pig Reproduction II.** London: Butterworth Scientific, 1985. p. 185-197.

COURBOULA Y, Y.; MASSABIE, P. Use of sunflower seed in the feeding of growing pigs: effect on performance and backfat composition. **Journées Recherche Porcine France**, Paris, v. 26, p. 207-212, 1994.

DEFINE, R. M. **Determinação por radioimunoanálise, dos níveis séricos de testosterona, FSH, LH, TSH, T3 e T4 em touros da raça Nelore e Holandesa.** 1980. 62 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade ... Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu.

DELL, K. R; SEVERSON, D. L. Effect of cis-unsaturated fatty acids on aortic protein kinase C activity. **Biochemistry Journal**, New York, v. 258, n. 1, p. 171-175, Feb. 1989.

DYERBERG, J.; BANG, H. O.; HJORNE, N. Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 28, n. 9, p. 958-966, Sept. 1975.

EINARSSON, S.; HOLTMAN, M.; LARSSON, K.; SETTERGREN, I.; BANE, A. The effect of two different feed levels on the development of the reproductive organs in boars. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 20, n. 1, p. 1-9, 1979.

FERREIRA, F. M. Comportamento sexual e características espermáticas em suínos jovens. CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. 11., 1995, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: [s. n.], 1995. p. 26-34.

FIALHO, E. T.; LIMA, J. A.F.; SILVEIRA, P. R; CARLESSO, R. B. Avaliação de digestibilidade dos nutrientes de alguns alimentos através de ensaios metabólicos com suínos. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. p. 330-332.

FOOT, R H; MUNKENBECK, N.; GREENE, W. A. Testosterone and libido in Holstein sows of various age. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 59, n. 11, p. 2011-2013, Nov. 1976.

GADELA, B. M. Lipid changes in the plasma membrane of capacitating boar spermatozoa. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 31, n. 1, p. 63-73, June 1996.

GILL, G. N. Biosynthesis, secretion and metabolism of hormones. In: FELIG, P.; BAXTER, J. D. **Endocrinology and metabolism**. 3. ed. New York: MacGraw Hill, 1995. Cap. 4, p. 69-90.

GODINHO, H. P.; CARDOSO, F. M. Peso dos testículos de suínos Yorkshire à puberdade quando a densidade testicular está entre 1,03 e 1,04. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 351-366, dez. 1979.

GOMES, S. Z. **Efeito da inseminação artificial com semen resfriado com diluente Kiew e semen congelado pelo método Hulsemberg/Hannover, sobre a eficiência reprodutiva de porcas**. 1979. 49 p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

GOMES, W. R. Artificial Insemination. In: JOHNSON, A. D.; GOMES, W. R.; VAN DENMARK, N. L. **The testes**. New York: Academic Press, 1970. v. 1, p. 257-279.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**, 4. ed. São Paulo: Manole, 1982. 720 p.

HARPER, H A.; RODWELL, V. W. MAYES, P. A. **Manual de química fisiológica**, 5. ed. São Paulo: Atheneu, 1982. 846 p.

HOCHGRAF, E.; MOKADY, S.; COGAN, U. Dietary oxidized linoleic acid modifies lipid composition of rat liver microsomes and increases their fluidity. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 127, n. 4, p. 681-686, Apr. 1997.

HOMA, S. T.; BROWN, C. A. Changes in linoleic acid during follicular development and inhibition of spontaneous breakdown of germinal vesicles in cumulus-free bovine oocytes. **Journal of Reproduction and Fertility**. Oxford, v. 94, n. 1, p. 153-160, Jan. 1992.

HWANG, D. H.; CARROLL, A. E. Decreased formation of prostaglandins derived from arachidonic acid by dietary linolenate in rats. **American Journal of Clinical Nutrition**. Baltimore, v. 33, n. 6, p. 590-597, June 1986.

JEYANDRAN, R. S.; VAN DER VEN, H. H.; PEREZ-PELAEZ, M. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other sperm characteristics. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 70, n. 2, p. 219-228, Mar. 1984.

JIANG, Z.; SIM, J. S. Effects of feeding flax and two types of sunflower seeds on fatty acid composition of yolk lipid classes. **Poultry Science**, Champaign, v. 70, n. 12, p. 2467-2475, Dec. 1991.

JOHNSON, L. A.; ALBERS, I. G.; WILLENS, C. M. T. Use of boar spermatozoa for artificial insemination I. Fertilizing capacity of fresh and frozen spermatozoa in sows on 36 farms. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 52, n. 7, p. 1130-1136, July 1981.

KEMP, B. Nutritional strategy for optimal semen production in boars. **Pig News and Information**, Wallingford, v. 12, n. 4, p. 555-558, Dec. 1991.

KEMP, B. The influence of energy and protein intake on the reproductive performance of the breeding boar; a review. **Animal Reproduction Science**. Amsterdam, v. 20, n. 2, p. 103-115, Aug. 1989.

KEMP, B.; BAKKER, L. A.; VERSTEGEN, M. A. The effect of semen collection frequency and food intake on semen production in breeding boars. **British Society Animal Production**, London, v. 52, n. 2, p. 355-341, Apr. 1991.

KEMP, B.; VERSTEGEN, N. W. A. Nutrition and sperm production. **Reproduction Domestic Animals**, Amsterdam, v. 12, p. 287-296, 1991. Supplement 1

KENNEDY, B. W.; WILKINS, J. N. Boar, breeds and environmental factors influencing semen characteristics of boar used in artificial insemination. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 64, n. 4, p. 833-843, Dec. 1984.

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

KNAP, P. W. Performance of purebred Dutch Yorkshire boars versus crossbred (Belgian Landrace X Dutch Yorkshire) boars. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 16, n. 1, p. 51-64, Jan. 1987.

LARSON, K.; MALMGREN, L.; EINARSSON, S. Exposure of boars to elevated ambient temperature—consequences for hormone secretion, sperm morphology and fertility. **Pig News and Information**, Wallingford, v. 9, n. 1, p. 27-30, Mar. 1988.

LEIBTSEDER, I. The effect of nutrition on the composition of animal fat. **Animal Research and Development**, Tübingen, v. 45, n. 1, p. 46-58, 1997.

MARTIN RILLO, S.; MARTINEZ, E.; GARCIA ARTIGA, C.; DE ALBA, C. Boar semen evaluation in practice. **Reproduction Domestic Animal**, Berlin, v. 31, n. 3, p. 519-526, Sept. 1996

MATHEWS, K. R.; HOMER, D. B.; THIES, F.; CALDER, P. C. Effect of whole linseed (*Linum usitatissimum*) in the diet of finishing pigs on growth performance and on the quality and fatty acid composition of various tissues. **British Journal of Nutrition**, London, v. 83, n. 6, p. 637-643, June 2000.

MAYES, P. A. Transporte e armazenamento de lipídeos. In: MURRA, Y. R. K.; GRANNER, D. K.; MAYES, P. A.; RODWELL, V. W. **Harper: bioquímica**. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 1990. 705 p.

MIES FILHO, A. **Reprodução dos animais domésticos e inseminação artificial**, Porto Alegre: Sulina, 1982. v. 5, 380 p.

MORROW, D. A. **Current therapy in theriogenology 2:** diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in small and large animals. New York: Saunders, 1986. 1143 p.

MOSS, T. A.; MELROSE, D. R.; REED, H. C. Spermatogenesis, semen and artificial insemination. In: COLE, D. J. A. **Fertility in domestic animals.** 1978. p. 59-106.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of swine.** 10. ed. Washington: National Academy of Science, 1998. 189 p.

NIKOLOPOULOU, M.; SOUCEK, D. A.; VARY, I. C. Lipid composition of the membrane released after an in vitro acrosome reaction of epididymal boar sperm. **Lipids**, Champaign, v. 21, n. 9, p. 566-570, Sept. 1986

NUNES, I. J. **Nutrição Animal Básica.** Belo Horizonte: UFMG, 1995. 98 p.

NUNES, I. J. **Nutrição Animal Básica.** Belo Horizonte: Breder, 1995. 333 p.

OLOMU, I. M.; BARACOS, V. E. Determination optimum level of fat inclusion in broiler diets. **Feeder's Day Report**, v. 69, p. 46-48, 1990.

OBA, E. **Estudo das características quantitativas e qualitativas do soro sanguíneo e do sêmen de bovinos Nelore em diferentes idades.** 1985. 65 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu.

OWSIANNY, J.; KAWECKA, M.; CZARNECKI, R.; ROZYCKI. Relation between the size of testes and the quantitative parameters of the semen of young boars. **Pig News and Information**, Wallingford, v. 19, n. 2, p. 57-60, June 1998.

PAQUIGNON, M.; BUSSIÈRE, I. BARITEAU, F. Effective of frozen boar semen under practical conditions inseminations. **Theriogenology**, Los Altos, v. 14, n. 3, p. 217-226, 1980.

PECK, M. D. Interaction of lipids with immune function I: Biochemical effects of dietary lipids on plasma membranes. **Journal of Nutrition Biochemistry**, London, v. 5, n. 10, p. 466-478, Oct. 1994.

POST, T. B.; CHRISTENSEN, H. R. Testosterone variability and fertility in bulls. **Theriogenology**, Los Altos, v. 6, n. 6, p. 615-616, 1976.

REIS, F. T. Colheita, avaliação e manipulação do ejaculado de suínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 21, n. 3, p. 22-29, 1997.

ROSA, F. C. **Teor de ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 no peito e na coxa de frangos de corte alimentados com rações contendo três fontes de óleos**. 1999. 93 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ROSTAGNO, H. S.; SILVA, D. I.; COSTA, P. M. A.; FONSECA, J. B.; SOARES, P. R. **Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos: tabelas brasileiras**. Viçosa, MG: UFV, 2000. 60 p.

SAS. SAS/STAT Software. **Guide for personal computers**. Inc, Cary, New York, 1985.

SCHEID, I. R. **Manual de Inseminação Artificial de Suínos: procedimentos e métodos no laboratório**. Concórdia: CNPSA/EMBRAPA, 1993. 48 p.

SCHINCKEL, A. P.; JOHNSON, R. K.; ZIMMERMAN, R. Testicular growth in boars of different genetics lines and its relationships to reproductive performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 56, n. 7, p. 1065-1069, July 1983.

SMITH, W. L. The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action. **Biochemistry Journal**, New York, v. 259, n. 2, p. 315-324, Apr. 1989.

SEPECHT-OVERHOLT, S.; ROMANS, J. R.; MARCHELLO, M. J.; IZARD, R. S.; CREWS, M. G.; SIMON, D. M.; COSTELLO, W. J.; EVENSON, P. D. Fatty acid composition of commercially manufactured omega-3 enriched pork products, haddock and mackerel. **The Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 9, p. 2335-2343, Sept. 1997.

SPRECHER, H. Biochemistry of essential fatty acids. **Proceeding Lipid Research**. London, v. 20, n. 1, p. 13-22, 1981.

STUBBS, C. D.; SMITH, A. D. The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acids composition in relation to membrane fluidity and function. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 779, n. 1, p. 89-137, 1984.

SUDHEERA, S. D.; JAMES, W. L.; FALCONER, I.; GARG, M. L. Prevention of cardiac arrhythmia by dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids and their mechanism of action. **The Journal of Nutrition. Philadelphia**, Bethesda, v. 127, n. 4, p. 383-393, Apr. 1997.

WARNANTS, N.; VAN OECKEL, M. I.; BOUCQUÉ, C. V. Incorporation of dietary polyunsaturated fatty acids into pork fatty tissues. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. 9, p. 2478-2490, Sept. 1999.

WHITTEMORE, C. **The science and practice of pig production**. Singapura: Long Scientific & technical, 1993. 564 p.

WILSON, E. R.; JOHNSON, R. K.; WETTEMANN, R. P. Reproductive and testicular characteristics of purebred and crossbred boars. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 44, n. 3, p. 939-944, 1977.

YAQOUB, P.; SHERRINGTON, E. J.; JEFFERY, N. M.; SANDERSON, P.; HARVEY, D. J.; NEWSHOLME, E. A.; CALDER, P. C. Comparison of the effects of a range of dietary lipids upon serum and tissue lipid composition in the rat. **International Journal Biochemistry Cell Biology**, Oxford, v. 27, n. 3, p. 297-310, Mar. 1995.

YOUNG, L. D.; LEYMASTER, K. A.; LUNSTRA, D. D. Genetic variation in testicular development and its relationships to female reproductive traits in swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 63, n. 1, p. 1726, July 1986.

YU, J. G.; CHENG, S. P.; YEN, H. Y. Effect of aminoacids supplemented diets on semen characters of boars. **Journal Chinese Society Animal Science**, Beijing, v. 14, n. 1, p. 27-35, 1985.

## ANEXOS

	<b>Pág.</b>
<b>TABELA 01A.</b> Resumo da análise de variância do perfil de ácidos graxos dos ejaculados dos suínos ( $\alpha$ -linolênico, EPA e DHA) (UFLA, Lavras-MG, 2004). .....	<b>72</b>
<b>TABELA 02A.</b> Resumo da análise do desdobramento da interação entre os efeitos do uso dos óleos nas dietas e da época de análise do perfil de ácidos graxos nos ejaculados (UFLA, Lavras-MG, 2004). .....	<b>72</b>
<b>TABELA 03A.</b> Resumo da análise de variância dos parâmetros histológicos dos reprodutores suínos alimentados com diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras-MG, 2004). .....	<b>73</b>
<b>TABELA 04A.</b> Resumo da análise de variância para os parâmetros seminais de volume, concentração e NTC dos reprodutores suínos alimentados com diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras-MG, 2004). .....	<b>73</b>
<b>TABELA 05A.</b> Resumo da análise de variância para as alterações morfológicas total e de cabeça dos espermatozoides dos ejaculados de reprodutores suínos alimentados com diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras-MG, 2004). .....	<b>74</b>
<b>TABELA 06A.</b> Resumo da análise de variância para alterações totais da cabeça após descongelamento do sêmen de reprodutores suínos alimentados com diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras-MG, 2004). .....	<b>74</b>

**TABELA 01A.** Resumo da análise de variância do perfil de ácidos graxos dos ejaculados dos suínos ( $\alpha$ -linolênico, EPA e DHA) (UFLA, Lavras, MG, 2004).

FV	GL	Quadrado médio		
		$\alpha$ -Linolênico	EPA	DHA
Tratamento (T)	3	1,204279 <sup>NS</sup>	0,573879 <sup>NS</sup>	91,293014 <sup>**</sup>
Data (D)	1	36,548575 <sup>**</sup>	16,233657 <sup>**</sup>	68,609604 <sup>*</sup>
T*D	3	0,615656 <sup>NS</sup>	0,224503 <sup>NS</sup>	78,831168 <sup>**</sup>
Erro	20	0,511586	0,223628	11,397506
<b>CV (%)</b>		<b>47,99</b>	<b>44,49</b>	<b>24,35</b>

\*\* - P<0,01; \* - P<0,05; NS – não significativo.

**TABELA 02A.** Resumo da análise do desdobramento da interação entre os efeitos do uso dos óleos nas dietas e da época de análise do perfil de ácidos graxos nos ejaculados (UFLA, Lavras, MG, 2004).

FV	GL	Quadrado médio		
		$\alpha$ -Linolênico	EPA	DHA
Tratamento/1	3	0,049695 <sup>NS</sup>	0,090674 <sup>NS</sup>	56,691163 <sup>**</sup>
Tratamento/2	3	1,770240 <sup>*</sup>	0,707709 <sup>*</sup>	113,433020 <sup>**</sup>
Data/1	1	12,475013 <sup>**</sup>	5,056200 <sup>**</sup>	6,937813 <sup>NS</sup>
Data/2	1	5,645400 <sup>**</sup>	2,760817 <sup>**</sup>	52,510417 <sup>*</sup>
Data/3	1	16,733112 <sup>**</sup>	7,372800 <sup>**</sup>	2,702812 <sup>NS</sup>
Data/4	1	3,542017 <sup>*</sup>	1,717350 <sup>*</sup>	242,952067 <sup>**</sup>
Erro	20	0,511596	0,223628	11,397506
<b>CV (%)</b>		<b>47,99</b>	<b>44,49</b>	<b>24,35</b>

\*\* - P<0,01; \* - P<0,05; NS – não significativo.

**TABELA 03A.** Resumo da análise de variância dos parâmetros histológicos dos reprodutores suínos alimentados com diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004).

FV	GL	Quadrado médio	
		Diâmetro	Espessura
Tratamento	3	0,001575 *	0,117942 <sup>NS</sup>
Bloco	5	0,000322	0,011850
Erro	15	0,000430	0,048114
<b>CV (%)</b>		<b>9,43</b>	<b>8,34</b>

\*\* - P<0,01; \* - P<0,05; NS – não significativo.

**TABELA 04A.** Resumo da análise de variância para os parâmetros seminais de volume, concentração e NTC dos reprodutores suínos alimentados com diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004).

FV	GL	Quadrado médio		
		Volume	Concentração	NTC
Tratamento (T)	3	0,996010 **	0,271561 <sup>NS</sup>	2,311745 **
Bloco	5	0,514383 **	1,424118 *	2,431947 **
Dias (D)	6	0,245315 <sup>NS</sup>	0,571150 <sup>NS</sup>	0,273213 <sup>NS</sup>
T*D	18	0,146308 <sup>NS</sup>	0,298687 <sup>NS</sup>	0,412923 <sup>NS</sup>
Erro	135	0,115314	0,349443	0,352757
<b>CV (%)</b>		<b>53,14</b>	<b>49,89</b>	<b>14,93</b>

\*\* - P<0,01; \* - P<0,05; NS – não significativo.

**TABELA 05A.** Resumo da análise de variância para as alterações morfológicas total e de cabeça dos espermatozoides dos ejaculados de reprodutores suínos alimentados com diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004).

FV	GL	Quadrado médio	
		Total	Cabeça
Tratamento (T)	3	1,4355943 <sup>NS</sup>	0,7774315 <sup>NS</sup>
Bloco	4	2,6870990 <sup>NS</sup>	0,2916036 <sup>NS</sup>
Dias (D)	6	7,7654218 <sup>**</sup>	6,8750714 <sup>**</sup>
T*D	18	1,6086734 <sup>NS</sup>	0,6763639 <sup>NS</sup>
Erro	108	1,6114619	0,9607726
<b>CV (%)</b>		<b>42,63</b>	<b>87,59</b>

\*\* - P<0,01; \* - P<0,05; NS – não significativo.

**TABELA 06A.** Resumo da análise de variância para alterações totais da cabeça após descongelamento do sêmen de reprodutores suínos alimentados com diferentes fontes de óleo (UFLA, Lavras, MG, 2004).

FV	GL	Quadrado médio
Tratamento	3	288,729167*
Bloco	3	22,854167
Erro	9	56,743056
<b>CV (%)</b>		<b>22,03</b>

\*\* - P<0,01; \* - P<0,05; NS – não significativo.