

FEITO DO NÍVEL DE ZINCO NA DIETA SOBRE A QUALIDADE SEMINAL E CORRELAÇÃO COM A CONCENTRAÇÃO DE ZINCO CIRCULANTE E NO PLASMA SEMINAL EM TOUROS

AUTORES

ALEXANDRA R. OLIVEIRA¹"; SHEILA S. MORAES¹"; CARLOS E. FERNANDES²"; SIMONE C. P. LOPES¹";
CLEBER O. SOARES¹"; THAIS B. AMARAL¹" & PAULA DE A. B. MIRANDA¹"

¹ Embrapa Gado de Corte, Rodovia BR 262, Km 4, CEP 79002-970, Campo Grande, MS

² FMVZ-UNESP, Botucatu, CEP18618-000, Distrito de Rubião Jr, Botucatu, SP

RESUMO

A concentração (mg/mL) de Zinco (Zn) na circulação sanguínea (ZnS) e no plasma seminal (ZnPS) foi correlacionada com diferentes variáveis seminais de touros Nelore, mantidos desde a desmama em dietas com diferentes níveis de Zinco. Formou-se aleatoriamente quatro grupos que receberam diariamente, durante dois anos, diferentes concentrações de Zinco no sal mineral: grupo 1 (n=4), os animais não receberam Zinco; grupo 2 (n=4), 30mg/kg/dia de Zn orgânico; grupo 3 (n=4), 30mg/kg/dia de Zn inorgânico e grupo 4 (n=4), 60mg/kg/dia de Zn inorgânico. A partir dos 14 meses de idade, os animais foram submetidos quinzenalmente a exame de sêmen e coleta de sangue. Os touros do grupo 1 tiveram menor motilidade, vigor e maior prevalência de defeitos de peça intermediária em relação aos demais grupos. Touros do grupo 3 apresentaram, juntamente com os do grupo 1, maior percentual de defeitos de cauda. No grupo 1, defeitos de cabeça e peça intermediária correlacionaram-se com ZnS ($r=-0,25$ e $-0,30$, respectivamente). Motilidade, defeitos de cabeça e gota citoplasmática proximal correlacionaram-se ($r=0,54$, $-0,48$ e $-0,43$, respectivamente) com ZnPS. No grupo 3 as maiores correlações foram encontradas entre ZnPS e espermatozoides normais ($r=-0,43$), com defeitos de cauda ($r=0,62$) e cabeça ($r=0,48$). As correlações encontradas sugerem importantes alterações na função espermática e possível redução no potencial reprodutivo.

PALAVRAS-CHAVE

bovino, nutrição, reprodução

TITLE

EFFECT OF ZINC LEVEL IN DIET ON SEMINAL QUALITY AND ASSOCIATION WITH CIRCULATING AND
SEMINAL PLASMA ZINC CONCENTRATIONS IN BULLS

ABSTRACT

The concentration (mg/mL) of Zinc in the circulation (ZnC) and seminal plasma (ZnP) was correlated with different seminal variables in Nelore bulls, maintained in diets with different levels of Zinc. Four groups were formed and received daily, for two years, different concentrations of Zinc in the mineral salt: group 1 (n=4), the animals didn't receive Zinc; group 2 (n=4), 30mg/kg/day of organic Zn; group 3 (n=4), 30mg/kg/day of inorganic Zn and group 4 (n=4), 60mg/kg/day of inorganic Zn. At 14 months of age, every 15 days, animals were submitted to semen exam and blood was collected. Bulls of the group 1 showed lower motility, vigor and higher prevalence of middle piece defects, in relation to the other groups. Bulls of the group 3 presented, together with the group 1, higher percentile of tail defects. In the group 1, defects of head and middle piece were correlated with ZnC ($r=-0.25$ and -0.30 , respectively). Motility, defects of head and proximal drop were correlated ($r=0.54$, -0.48 and -0.43 , respectively) with ZnP. In the group 3 the largest correlations were found between ZnP and normal spermatozoa ($r=-0.43$), with tail ($r=0.62$) and head ($r=0.48$) defects. The found correlations suggest important alterations in spermatozoa function and possible reduction on reproductive potential.

KEYWORDS

bovine, nutrition, reproduction

INTRODUÇÃO

Resultados de análises de forrageiras nativas e cultivadas das áreas de cerrado, realizadas no laboratório da Embrapa Gado de Corte, demonstraram que 90% das amostras apresentam teores de Zinco (Zn) abaixo do nível considerado mínimo (20 ppm) para um bom desempenho animal (Moraes, 2001). Embora o Zn participe diretamente do desenvolvimento do aparelho reprodutivo, poucos estudos têm sido considerados nos bovinos, especialmente em touros jovens mantidos a campo.

No macho, a maior parte do Zn é secretada pela próstata e possui ação direta sobre a atividade endócrina tecidual e moduladora da produção de radicais livres no plasma seminal. Durante a espermiogênese, o Zn liga-se aos grupamentos sulfídricos das cisteínas auxiliando na compactação e proteção à oxidação das protaminas, proteínas responsáveis pelo empacotamento do DNA espermático (Denny & Ashworth, 1991). Aproximadamente 90% do seu conteúdo está localizado na peça intermediária e cauda do espermatozóide (fibras densas externas) (Henkel et al., 1999). A medida que os espermatozoides progridem no epidídimo, o conteúdo de Zn nas fibras densas externas diminui, permitindo maior oxidação na bainha mitocondrial e, conseqüentemente, aquisição da motilidade progressiva (Henkel et al., 2003).

O objetivo deste estudo foi determinar o padrão seminal de touros jovens com diferentes níveis de Zn na dieta e correlacioná-lo com as concentrações de Zn na circulação sanguínea e plasma seminal.

MATERIAL E MÉTODOS

Bezerros Nelore (n= 16) foram desmamados com idade entre 7 e 8 meses e mantidos em regime extensivo na Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS. Os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos e receberam diariamente durante dois anos, diferentes concentrações de Zinco misturado ao sal mineral, como segue: grupo 1 (n=4), os animais não receberam Zinco; grupo 2 (n=4), 30mg/kg/dia de Zn orgânico; grupo 3 (n=4), 30mg /kg/dia de Zn inorgânico e grupo 4 (n=4), 60mg/kg/dia de Zn inorgânico. A partir dos 14 meses de idade, os tourinhos foram submetidos quinzenalmente a exame andrológico e colheita de sangue para monitoramento da qualidade seminal e determinação das concentrações de Zn na circulação e no plasma seminal.

O sêmen foi colhido por eletro-ejaculação sendo que imediatamente após estimou-se a motilidade (%) e vigor (0-5) em lâmina e lamínula sob microscopia de campo claro. Amostras diluídas em formol-salino tamponado 1% foram avaliadas posteriormente para morfologia espermática em microscopia de contraste de fase (preparações úmidas, 1000x) onde era determinado o percentual em 100 células/lâmina de espermatozoides morfolologicamente normais, defeitos de cabeça (piriforme, cratera, subdesenvolvido, micro e macrocefálico e contorno irregular), acrossomo (granular, vesiculoso, destacado e dobrado), peça intermediária (fraturada, dobrada, hipoplásica, engrossada e desnuda), gota citoplasmática proximal, cauda (fortemente dobrada, retro-axial), cabeça destacada (contorno e forma normais).

As amostras (1,0 mL) de sangue (plasma) e de plasma seminal foram colhidas em frascos estéreis (Nalgene) e centrifugadas a 3.000 rpm durante 20 minutos. Posteriormente, foram diluídas em 4 mL de água deionizada e procedeu-se a leitura da concentração de Zn (mg/mL) em espectrofotômetro de absorção atômica (0,8 seg., comprimento de onda de 213,7 nm).

As médias obtidas para cada variável seminal foram comparadas pela análise de variância (teste de Duncan, $p < 0,05$), modelo inteiramente ao acaso, ajustado (covariável) para o peso do animal e data da colheita. O método de Pearson (ajustado para peso e data da colheita) foi usado para estabelecer a correlação entre variáveis seminais e concentrações de Zinco circulantes e no plasma seminal.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito das diferentes concentrações de zinco na dieta afetou significativamente a qualidade seminal (tabela 1). Touros sem Zn (grupo 1) ou com 30 mg/kg/dia de Zn inorgânico (grupo 3) apresentaram menor prevalência de espermatozoides morfolologicamente normais. Porém, a variação foi mais marcante no grupo 1 para motilidade e defeitos de peça intermediária, com

predominância de formas fraturadas e do tipo dag; e cauda, com predominância dos tipos retro-axial e fortemente dobrada. Isto reafirma a participação e a importância do zinco na composição das fibras densas mitocôndriais na peça intermediária (Henkel et al., 1999) e subsequente decréscimo da atividade bioquímica espermática (Chandler et al., 2000). Adicionalmente, os resultados mostram a necessidade de redirecionar a suplementação a base de Zn, especialmente para touros em crescimento.

Embora as médias das concentrações de Zn na circulação e plasma seminal entre grupos não tenham sido diferentes ($p>0,05$), a correlação com as variáveis seminais foi significativa para defeitos específicos encontrados no espermograma dos touros (tabela 2). Esta análise permite observações diretas (pontuais), uma vez que considera a concentração do Zn e a característica seminal em cada indivíduo. Além dos defeitos de peça intermediária para os grupos 1 e 2 ($r=-0,30$, $p<0,05$), os defeitos de cabeça correlacionaram-se ($p<0,05$), no grupo 1, com a concentração de Zn na circulação sanguínea ($r=-0,25$) e plasma seminal ($r=-0,48$), indicando que a elevação destes defeitos esteve presente nos touros com menor concentração de Zn, especialmente para as amostras do plasma seminal. Assim, é possível que a baixa disponibilidade de Zn na alimentação tenha induzido defeitos de origem testicular. Alterações desta natureza são frequentemente encontradas nos quadros degenerativos, porém neste caso, sugere a deficiência direta de Zn que age como um co-fator para transcrição de proteínas intimamente associadas à organização e compactação da cromatina nuclear durante a espermiogênese (Denny & Ashworth, 1991). Para outros defeitos como os de gota citoplasmática proximal (grupo 1, $r=-0,43$, $p<0,05$), defeitos de cauda e cabeça destacada (grupo 3, $r=0,62$ e $r=0,48$, respectivamente) os resultados mostram que além dos níveis de Zn e morfologia espermática, a interação com a função secretora epitelial nos diferentes segmentos do epidídimo também deve ser considerada (Henkel et al., 2003).

CONCLUSÕES

Touros jovens criados ou mantidos em condições extensivas, suplementados com até 30 mg/kg/dia de Zn inorgânico estão suscetíveis a alterações no espermograma. As correlações entre as concentrações circulantes e no plasma seminal entre Zinco e variáveis seminais, sugerem importantes alterações na função espermática, sugestivas de redução do potencial reprodutivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHANDLER, J.E., HARRISON, C.M., CANAL, A. M. Spermatozoal methylene blue reduction: an indicator of mitochondrial function and its correlation with motility. *Theriogenology*, v. 54, p. 261-271. 2000.
2. DENNY, P., ASHWORTH, A. A zinc finger protein-encoding gene expressed in the post-meiotic phase of spermatogenesis. *Gene*, v. 106. p. 221-227. 1991.
3. HENKEL, R., BALDAUF, C., SCHILL, W-B. Resorption of the element zinc from spermatozoa by the epididymal epithelium. *Reproduction Domestic Animals*, v. 38, p.97-101. 2003
4. HENKEL, R., BITTNER, J., WEBER, R., HÜTHER, F., MISKA, W. Relevance of zinc in human sperm flagella and its relation to motility. *Fertility and Sterility*, v. 71, n. 6. p. 1138-1143. 1999.
5. MORAES, S. S. Avaliação da deficiência sub-clínica de Zinco em vacas de cria e relação com a higidez de seus bezerros. Comunicado Técnico, COT Nº 65 agosto de 2001, capturado em março de 2004:<http://www.cnpqc.embrapa.Br>.

41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia

19 de Julho a 22 de Julho de 2004 - Campo Grande, MS

Tabela 1. Médias ajustadas e efeito da concentração de Zinco (mg/mL) na dieta de touros Nelore sobre diferentes variáveis seminais.

Variável seminal	Grupo			
	1	2	3	4
Motilidade	49,8 ± 2,91 ^A	65,1 ± 3,04 ^B	67,2 ± 2,91 ^B	65,0 ± 2,96 ^B
Vigor	2,6 ± 0,16 ^A	3,5 ± 0,17 ^B	3,7 ± 0,16 ^B	3,6 ± 0,17 ^B
Morfologia				
Normais	63,8 ± 2,43 ^A	81,3 ± 2,53 ^B	70,5 ± 2,43 ^A	77,8 ± 2,47 ^B
Defeitos de cabeça	5,8 ± 0,47 ^A	4,6 ± 0,49 ^A	4,7 ± 0,47 ^A	3,4 ± 0,48 ^B
Defeitos de Peça Intermediária	8,5 ± 0,70 ^A	2,4 ± 0,73 ^{BC}	4,9 ± 0,70 ^C	3,4 ± 0,72 ^C
Defeitos de acrossomo	1,6 ± 0,53 ^A	2,2 ± 0,55 ^A	1,2 ± 0,53 ^A	1,3 ± 0,54 ^A
Gota Citoplasmática Proximal	1,6 ± 0,17 ^A	0,4 ± 0,18 ^B	0,4 ± 0,17 ^B	0,3 ± 0,17 ^B
Defeitos de Cauda	13,6 ± 1,45 ^A	7,8 ± 1,52 ^B	11,7 ± 1,45 ^A	9,7 ± 1,48 ^B
Cabeça Destacada	6,3 ± 1,23 ^A	4,9 ± 1,22 ^A	5,5 ± 1,25 ^A	5,5 ± 1,22 ^A
Zn				
Circulação sanguínea	0,72 ± 0,02 ^A	0,75 ± 0,02 ^A	0,66 ± 0,04 ^A	0,72 ± 0,02 ^A
Plasma seminal	1,53 ± 0,23 ^A	1,46 ± 0,17 ^A	1,87 ± 0,21 ^A	1,41 ± 0,21 ^A

Grupo:1=sem Zinco; 2=30mg/kg/dia de Zn orgânico; 3=30mg /kg/dia de Zn inorgânico e 4, 60mg/kg/dia de Zn inorgânico. Letras distintas entre colunas representam diferença significativa ($p < 0,05$, Duncan); ± epm.

Tabela 2. Correlação parcial¹ entre variáveis seminais e concentração de zinco (mg/mL) na circulação sanguínea e plasma seminal em touros Nelore de acordo com os diferentes grupos experimentais.

Variáveis seminais	Grupo							
	1		2		3		4	
	C	PS	C	PS	C	PS	C	PS
Motilidade	ns	0,54*	ns	0,36*	ns	ns	ns	0,48*
Vigor	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,62**
Morfologia								
Normais	ns	ns	ns	0,38*	-0,31*	-0,43*	ns	ns
Defeitos de cabeça	-0,25*	-0,48*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Defeitos de PI	-0,30*	ns	ns	ns	-0,30*	ns	ns	ns
Defeitos de acrossomo	ns	ns	ns	-0,40*	ns	ns	ns	ns
GCP	ns	-0,43*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Defeitos de Cauda	ns	ns	ns	-0,53**	ns	0,62**	ns	ns
Cabeça Destacada	ns	ns	ns	ns	0,43**	0,48*	ns	ns

¹ dados ajustados para peso individual e data da colheita; Grupos: 1, sem Zn; 2, 30mg/kg/dia de Zn orgânico; 3, 30mg /kg/dia de Zn inorgânico e 4, 60mg/kg/dia de Zn inorgânico; C, circulação sanguínea; PS, plasma seminal; PI, anormalidades de peça intermediária; GCP, gota citoplasmática proximal; ns, não significativo ($p > 0,05$); * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.