

Níveis de Frutose, Ácido Cítrico e Proteína Total no Plasma Seminal de Três Tipos Raciais de Caprinos do Nordeste do Brasil

Raymundo R. Pinheiro; Rui Machado; Aurino A. Simplício; Alice A. Pinheiro

Introdução

A inseminação artificial é uma técnica importante para melhoria do desfrute do rebanho caprino nacional, porém, para o uso adequado dessa técnica, necessita-se de conhecimentos profundos sobre morfologia espermática e da composição bioquímica do sêmen. Quanto à morfologia espermática já foram feitos trabalhos, inclusive no Nordeste (Vilar Filho 1986). Alguns estudos referentes à bioquímica de sêmen de caprinos foram conduzidos no mundo (Roy et al. 1950, Fukuhara & Nishikawa 1972, Igboeli 1974, Varshney et al. 1977, Dundar et al. 1983, El-Sayed et al. 1983, Ali & Mustafa 1986, Mendonza et al. 1989, Roca et al. 1993), enquanto que no Brasil, esta linha de pesquisa tem sido pouco estudada.

O conhecimento dos níveis de componentes bioquímicos do plasma seminal de caprinos é essencial para: o desenvolvimento dos métodos de preservação e congelamento; o diagnóstico de certas alterações testiculares e das glândulas acessórias; fornece bases fisiológicas importantes para o estudo da motilidade e metabolismo espermático. Polakoski & Kkopta (1982) relatam que os constituintes bioquímicos do plasma seminal: podem influenciar o potencial de fertilidade, sendo que alguns constituintes são órgãos específicos e suas concentrações podem ser utilizadas para verificar a capacidade secretória de várias glândulas sexuais, além de apresentar substâncias interessantes e incomuns, algumas das quais não são mensuráveis em qualquer fluido orgânico ou tecido.

A frutose e o ácido cítrico são compostos orgânicos utilizados como índices indiretos da atividade endócrina dos testículos (Glover 1956). Segundo Mann & Lutwak-Mann (1951), os tecidos das glândulas acessórias dos machos convertem, através de um sistema enzimático hormônio dependente, a glicose sérica em frutose, a qual é metabolizada pelas células espermáticas através de uma série de reações constituindo o processo da frutólise. De acordo com Polakoski & Kopta (1982), a frutose, assim como o ácido cítrico e a maioria das proteínas do plasma seminal, são produzidos pela glândula vesicular. Galil & Galil (1982) relatam, também, que a produção de frutose e ácido cítrico pelas glândulas acessórias é regulada por andrógenos.

Lavon & Bournsell (1971) e Moore & Hibbitt (1976) relatam, em suínos, que altas concentrações de proteína no plasma seminal tornam a membrana celular do espermatozoide susceptível ao resfriamento e ao congelamento. Mustafa & Mészáros (1980), trabalhando com bovinos, observaram correlação negativa entre a motilidade progressiva e a concentração de proteína total. Castro & Bach (1993) relataram, ainda, que existem evidências de que as proteínas seminais possam ser responsáveis em parte pela ocorrência de infertilidade das fêmeas. Franceschini et al. (1993) observaram em bovinos, que a proteína total é em média, maior nos animais classificados como de alta congelabilidade.

Este trabalho tem como objetivo determinar os parâmetros normais de frutose, ácido cítrico e proteína total no plasma seminal de três tipos raciais de caprinos, e estabelecer as possíveis variações sazonais destes parâmetros bioquímicos.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado na fazenda sede do Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos, localizada no município de Sobral-CE, a 3° 42' de latitude Sul e 40° 21' de longitude Oeste. Esta região foi classificada por Koppen como Aw de savana caracterizada por um período chuvoso (inverno) de janeiro a junho e um período seco (verão) de julho a dezembro.

Foram utilizados 18 caprinos machos, com idade aproximada de 18 meses ao início do experimento, sendo seis da raça Moxotó, seis ½ sangue Pardo Alpino x Moxotó e seis da raça Pardo Alpina. Os animais foram mantidos em pastagem nativa (caatinga rebaixada) numa taxa de lotação de 1,2 hectare/animal/ano, sendo recolhidos à noite em capril de chão batido, onde tinham acesso livre à água e à suplementação mineral. Foram fornecidas para todos os animais 200g de ração concentrada com 18% de proteína no período seco, a partir da décima-quarta colheita e aumentada para 250g após a 18ª colheita. Esta ração foi administrada até a vigésima-terceira colheita, quando iniciou o período chuvoso. Antes de serem introduzidos no experimento, os animais foram avaliados quanto à condição de hígidez, procedendo-se a um exame clínico geral e andrológico e a exames laboratoriais (hemograma, urinálise e coproparasitológico).

As colheitas de sêmen, em número de 26, foram realizadas, de 14 em 14 dias durante um período de um ano. As colheitas de ordens 1 a 11 e 23 a 26 foram realizadas no período chuvoso, enquanto que as de ordens 12 a 22 no período seco, em vagina artificial modelo curto (Mies Filho 1965), na presença de uma fêmea em estro. As amostras de sêmen foram centrifugadas e no plasma seminal foram avaliados os níveis de frutose, ácido cítrico e proteína total.

A dosagem de frutose foi realizada imediatamente após a centrifugação da amostra seminal, de acordo com a reação de Seliawanoff descrita por Mann (1948). Para determinação do ácido cítrico, utilizou-se a metodologia descrita por Saffran & Densteot (1948). A determinação de proteína total foi feita de acordo com o método do biureto.

O delineamento experimental e a fórmula matemática utilizados no trabalho estão de acordo com a metodologia empregada por Gill (1978) e Leal (1979).

Resultados e Discussão

A análise dos dados obtidos no período chuvoso e seco, distintamente (Tabela 1), mostrou que os níveis de frutose, ácido cítrico e proteína total apresentaram valores estatisticamente inferiores ($p < 0,05$) no período seco.

TABELA 1 - Valores médios e desvios padrões dos parâmetros bioquímicos do sêmen de caprinos nas épocas chuvosa e seca.

| Parâmetros Bioquímicos | Época Chuvosa | Época Seca |
|------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Frutose (mg/dl) | 679,20 ± 18,8 ^a | 340,80 ± 21,8 ^b |
| Ácido Cítrico (mg/dl) | 461,40 ± 10,6 ^a | 338,40 ± 12,3 ^b |
| Proteína Total (g/dl) | 4,27 ± 0,08 ^a | 3,41 ± 0,1 ^b |

* Médias que para a mesma determinação forem seguida de letras diferentes são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

A Tabela 2 apresenta as dosagens bioquímicas seminais de acordo com o tipo racial. O nível de frutose do tipo racial $\frac{1}{2}$ sangue Pardo Alpina x Moxotó ($\frac{1}{2}$ PA x Mo) foi estatisticamente inferior ($p < 0,05$) a raça Moxotó.

TABELA 2 - Valores médios e desvios padrões dos parâmetros bioquímicos do sêmen de três tipos raciais de caprinos do Nordeste do Brasil.

| Parâmetros Bioquímicos | Tipos Raciais | | |
|-------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | Pardo Alpina | $\frac{1}{2}$ PA x Mo | Moxotó |
| Frutose (mg/dl) | 471,3 +/- 47,9 ^{ab} | 454,8 +/- 54,9 ^a | 604,3 +/- 48,5 ^b |
| Ac. Cítrico (mg/dl) | 387,8 +/- 28,1 ^a | 379,1 +/- 32,0 ^a | 432,8 +/- 29,5 ^a |
| Proteína Totais (mg/dl) | 3,73 +/- 0,15 ^a | 3,96 +/- 0,21 ^a | 3,84 +/- 0,16 ^a |

* Médias que para a mesma determinação forem seguidas de letras diferentes são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

Na Tabela 3, analisando-se a interação tipo racial x época com relação as dosagens bioquímicas, constatou-se que o nível de frutose não diferiu no período chuvoso entre as diferentes raças, já no período seco, observou-se na raça Moxotó, dosagens superiores ($p < 0,05$) ao das outras raças. Quanto aos valores de ácido cítrico seminal da raça moxotó verificou-se, no período chuvoso, que foram mais elevado que da raça Pardo Alpina, enquanto que na época seca os níveis de ac. cítrico da raça moxotó foram mais elevados em relação ao tipo racial $\frac{1}{2}$ PA x Mo. Não se verificou diferença significativa ($P > 0,05$) quanto à proteína total na interação raça x época.

TABELA 3 - Valores médios e desvios padrões dos parâmetros bioquímicos do sêmen de três tipos raciais de caprinos com relação ao período do ano.

| Parâmetros Bioquímicos | Pardo Alpino | | $\frac{1}{2}$ Pardo x Moxotó | | Moxotó | |
|------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | Chuvosa | Seca | Chuvosa | Seca | Chuvosa | Seca |
| Frutose (mg/dl) | 641,7 ± 31,6 ^a | 300,9 ± 38,2 ^b | 675,4 ± 32,2 ^a | 234,1 ± 37,4 ^b | 721,2 ± 33,1 ^a | 487,3 ± 37,9 ^c |
| A. Cítrico (mg/dl) | 437,5 ± 17,8 ^a | 338,0 ± 21,3 ^{bd} | 475,8 ± 18,1 ^{ac} | 300,3 ± 20,9 ^b | 488,9 ± 19,0 ^c | 376,7 ± 24,0 ^d |
| Prot. Total (g/dl) | 4,08 ± 0,12 ^a | 3,37 ± 0,16 ^b | 4,42 ± 0,15 ^a | 3,49 ± 0,18 ^b | 4,30 ± 0,13 ^a | 3,37 ± 0,18 ^b |

* Médias seguidas de letras diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Durante o período seco, compreendido entre as colheitas n^o 11 e 23, para as determinações no plasma seminal, os níveis de frutose, ácido cítrico e proteína total mostraram-se inferiores ($p < 0,05$) ao período chuvoso. Observou-se, também neste período, uma elevação dos valores a partir da colheita n^o 14, para proteína total e ácido cítrico, e da colheita n^o 8 para os níveis de frutose.

Os níveis de frutose e ácido cítrico encontrados neste trabalho, no período chuvoso (641,7 ± 31,6 mg/100ml e 437,5 ± 17,8 mg/100ml, respectivamente) foram similares aos achados por El-Sayed et al. (1983) em caprinos da raça Baladi (806,11 mg/100ml e 484,02 mg/100ml); Mendonza et al. (1989) em animais da raça Angora (875 ± 97 mg/100ml e 331 mg/100ml) e Roca et al. (1993) em bodes Murciana-Granadia (792,56 ± 113,14 mg/100ml e 295,73 ± 5,40 mg/100ml) e superiores aos achados por Ali & Mustafa (1986) em caprinos nubianos (213,5 ± 35,6 mg/100ml e 68,8 ± 12,1 mg/100ml).

Os valores médios de proteína encontrados no período chuvoso (4,27 ± 0,08 g/100ml) foram superiores aos relatados por Duncar et al. (1983) em caprinos da raça Angora (2,99 ± 0,28 g/100ml).

A variação sazonal observada nos níveis de proteína total, frutose e ácido cítrico no plasma seminal variou de acordo com a variação pluvial e conseqüentemente variação na disponibilidade de alimentos. Este fato foi comprovado quando foi oferecido aos animais uma suplementação alimentar no período seco (200g de ração concentrada com 18% de proteína por animal a partir do 14^a colheita e aumentada para 250g após a 18^a colheita), onde verificou-se aumento nos níveis de frutose, ácido cítrico e proteína total no plasma seminal. Acredita-se que a quantidade e qualidade dos alimentos no período de estiagem não foram suficientes para suprir as necessidades nutricionais dos animais e, conseqüentemente, os valores bioquímicos seminais mostraram-se reduzidos no período seco. Os animais da raça Moxotó representam excesso e mantiveram os níveis de frutose estatisticamente superiores ($p < 0,05$) aos tipos raciais Pardo Alpino e ½ sangue Pardo Alpino x Moxotó, o que pode indicar uma melhor adaptação ao meio ambiente.

De acordo com Moule et al. (1966) a idade, os constituintes alimentares, o manejo, a frequência de ejaculação e o volume do ejaculado, influenciam a variação dos níveis de frutose no plasma seminal. Estes autores não conseguiram detectar qualquer flutuação nos níveis de frutose de carneiros mantidos em dieta alimentar constante e sobre ciclos luminosos normais ou invertidos, mas quando a ingestão de alimentar foi reduzida em 30% houve uma queda rápida nos níveis de frutose seminal. Relatam, também, que as alterações sazonais nos constituintes do plasma seminal estão correlacionadas com a quantidade e qualidade das forragens, e que os níveis de frutose são mais afetados por uma ração energética do que protéica.

Mittal (1985) verificou, em ovinos da raça Marwari, aumentos significativos nos níveis de frutose e ácido cítrico na época de melhor disponibilidade de alimentos e que a sazonalidade não tem significativo efeito sobre estas dosagens. Galil & Galil (1982) observaram, também, no plasma seminal de ovinos do deserto do Sudão, que no período chuvoso os níveis de frutose e ácido cítrico foram estatisticamente superiores, entretanto este correlacionam o aumento do nível de frutose com a temperatura ambiental. Wildeus et al. (1984) trabalhando com bovino observaram que a concentração de frutose no plasma seminal é influenciada pela nutrição. Relatam, ainda, que por este trabalho ter sido conduzido numa região de baixa latitude não existiu ação do fotoperiodismo. Roca et al (1993), trabalhando com animais em regiões de média latitude constataram que os níveis de frutose e ácido cítrico no sêmen de caprinos criados com um regime alimentar constante foram significativamente superiores no verão e outono e atribuíram este fato à variação do nível da testosterona induzido pelas alterações do fotoperiodismo.

Perera (1976), trabalhando com ovinos, observou que as diferenças nos níveis de frutose estavam associadas com variações similares nas taxas hormonais de androgenos, onde a magnitude e a frequência dos picos de testosterona sérica foram mais altos durante a estação de monta.

Quanto aos valores bioquímicos por tipo racial, verificou-se que os animais da raça Moxotó apresentaram valores médios de frutose mais elevados ao tipo racial ½ sangue Pardo Alpino x Moxotó e Pardo Alpino indicando, provavelmente, uma maior adaptabilidade às variações quantitativas e qualitativas dos alimentos da região semi-árida. Não corroborando com os achados de Igboeli (1974), que não verificou diferença estatisticamente significativa entre os níveis de frutose seminal dos tipos raciais Nativo ($632,1 \pm 91,6$ mg/100ml) e Boer ($597,3 \pm 58,4$ mg/100ml).

Conclusões

- A raça Moxotó mostrou-se, com relação aos componentes bioquímicos, mais adaptada à estação seca do Nordeste do Brasil, pois possui níveis superiores de frutose e ácido cítrico no plasma seminal.
- A época chuvosa provavelmente, influencia em virtude da maior disponibilidade de alimento, na manutenção dos níveis bioquímicos seminais nos caprinos.

Referências Bibliográficas

- ALI, B.H.; MUSTAFA, A.I. Semen characteristics of Nubian goats in the Sudan. **Animal Reproduction Science**, v.12, p.63-68, 1986.
- CASTRO, T.A.M.G.; BACH, E.E. Ação da temperatura nas proteínas do plasma seminal durante estocagem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10, 1993, Belo Horizonte. **Anais**. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1993. v.2. p.312.
- DUNCAR, Y.; TEKIN, N.; ALTINTAS, A. Semen frutose and frutolysis and some chemical constituents in seminal plasma from Angora goats. **Lalahan Zootekni Arastirma Enstitüsü Dergisi**, v.23, n.3-4, p.100-113, 1983.
- EL-SAYED, M. A. I.; SEIDA, A. A.; GHALLAB, A. M.; Some semen characteristics of baladi male goats. **Assiut Veterinary Medical Journal**, v.10, n.20, p.167-171, 1983.
- FRANCESCHINI, P. H.; LIMA, V. F. M. H.; RODRIGUES, L. H.; KOIVISTO, M. B.; SOARES, L. C. V.; SILVA, C.; LEZIER, D. H. Avaliação de alguns constituintes do plasma seminal em touros da raça Nelore e sua possível relação com a congelabilidade do semen. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10, 1993, Belo Horizonte. **Anais**. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1993. v.2. p.311.

- FUKUHARA, R.; NNISHIKAWA, Y. Effects of various substrates on respiration, glycolysis and motility of goat spermatozoa. **Japan Journal Zootechny Science**, v.44, n.5, p.271-274, 1972.
- GALIL, K.A.A.; GALIL, A.K.A. Seasonal variation in some characteristics of seminal plasma of Sudan desert sheep in the tropics. **Journal Agricultural Science**, v.99, p. 45-49, 1982.
- GILL, F. L. **Design and analysis of experiments in the animal and medical sciences**. Ames: The Iowa State University Press. 1978. v.2.
- GLOVER, T.D. The effect of scrotal insulation and the influence of breeding season upon fructose concentration in semen of the ram. **Journal of Endocrinology**, v.13, p.235-242, 1956.
- IGBOELI, G. A comparative study of the semen and seminal characteristics of the two breeds of goats. **Eastern African Agricultural Forage Journal**, v.40, n.2, p.132-137, 1974.
- LAVON, V.; BOURSNEILL, J.C. Characterization of boar seminal plasma vesicular secretion and epididymal plasma proteins by gel disc eletroforesis and isoeletric focusing on polyacrylamide. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.27, p.227-232, 1971.
- LEAL, M.L.S. **Análise de dados com medidas repetidas**. Brasília: Universidade de Brasília. 1979. 99p. Tese Mestrado.
- MANN, T. Fructose content and fructolysis in semen; practical application on the evaluation of semen quality. **Journal of Agricultural Science**, v.38, n.3, p.323-331, 1948.
- MANN, T. LUTWAK-MANN, C. Secretory function of male accessory organs of reproduction in mammals. **Physiological Reviews**, v.31 p.27-55, 1951.
- MENDOZA, I.G.; WHITE R.; CHOW, P. Studies of chemical components of angora goats seminal plasma. **Theriogenology**, v.32, n.3, 1989.
- MIES FILHO, A. New model of on artificial vagina for rams. **Animal Breeding Abstract**, v.33, n.1, p.96, 1965.
- MITTAL, J.P. A study on sexual season of Marwari sheep of Rapsthan desert. **Indian Veterinary Journal**, v.62, n.3, p.247-248, 1985.
- MOORE, H. D. M.; HIBBITT, K. C. S. The binding of labelled basic proteins by boar spermatozoa. **Journal Reproductive Fertility**, v.46, p.71-76, 1976.
- MOULE, G.R.; BRADEN. A.W.H.; MATTNER, P.E. Effects of season, nutrition and hormone treatment on the fructose content os ram semen. **Australian Journal of Agricultural Reseach**, v.17, n.6, p.923-931, 1966.
- MUSTAFA, A.R.; MÉSZÁROS, I. Interrelationship between the total protein content of bovine seminal plasma and behaviour of the spermatozoa after freezing-and-thawing. **Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae**, v.28, n.4, p.403-408, 1980.
- PERERA, B. M. A. O. Effects of vasectomy on fructose level in the ejaculate of rams. **Research in Veterinary Science**, v.21, n.3, p.368-369, 1976.
- ROCA, J.; MARTÍNEZ; VÁZQUEZ, J. M. Seasonal variation in fructose and citric acid in seminal plasma of Murciano-Granadina goats. **Small Ruminant Research**, v.10, p.219-226, 1993.
- ROY, A.; HARNIC, Y. R.; LUKTURE, S. N.; BHATTACHARYA, S.; BHATTACHARYA, P. Studies on the reducing substances in semen. 1. Concentration of fructose, ascorbic acid and total reducing substance in ejaculated semen of buffalo bull, ram, buck and cock. **Indian Journal of Dairy Science**, v.3, p.42, 1950.
- SAFFRAN, H.; DENSTEOT, O.F. A rapid method for the determiantion of citric acid. **Journal of Biological Chemical Bulletin**, v.175, n.2, p.849-855, 1948.
- VILAR FILHO, A.C. **Estudo das características externas dos testículos e do sêmen de caprino (*Capra hircus* L.) criados na região semi-árida do Estado da Paraíba**. São Paulo: Universidade de São Paulo. 1986. 87p. Tese Mestrado.

VARSHNEY, V. R.; SENGUPTA, B. P.; PANDEY, M. D. A note on some chemical constituents of goats sēmen. *Indian Journal Animal Science*, v.47, n.7, p.427-429, 1977.

WILDEUS, S.; HOROYD, R. G.; ENTWISTLE, K. W. Patterns of puberal development in Sahiwal and Brahman cross bulls in tropical Australia. 1- Growth and semen characteristics. *Theriogenology*, v.22, n°4, p.361-373, 1984.