

JULIANA ANDREA PARRA SALINAS

**SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA – ÁCIDO GLUTÂMICO
NA DIETA DE VARRÕES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

P258s Salinas, Juliana Andrea Parra, 1981-
2014 Suplementação de glutamina – ácido glutâmico na dieta de
varrões / Juliana Andrea Parra Salinas. – Viçosa, MG, 2014.
x, 53f. : il. ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Ciro Alexandre Alves Torres.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.40-48..

1. Suíno - Reprodução. 2. Ácido Glutâmico. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia. Programa de
pós-graduação em Zootecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 636.4

JULIANA ANDREA PARRA SALINAS

**SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA – ÁCIDO GLUTÂMICO
NA DIETA DE VARRÕES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 30 de maio de 2014.

Júlio Maria Ribeiro Pupa
(Coorientador)

Giovanni Ribeiro de Carvalho
(Coorientador)

Alysson Saraiva

José Domingos Guimarães

Ciro Alexandre Alves Torres
(Orientador)

Aos meus pais
Blanca Lilia e Octavio (*in memoriam*),
Ao meu Irmão Carlos,
Às pessoas que acreditaram em mim
e me dão o melhor exemplo de vida.

*Não haverá borboletas se a vida
Não passar por longas e
Silenciosas metamorfoses.”*

Rubem Alves

AGRADECIMENTOS

A Deus Pai e à Virgem Maria, por estarem sempre comigo e pelos anjos que sempre encontro no meu caminho.

À minha mãe, pelos conselhos e pela paciência, por acreditar em mim e, com esforço e amor, sempre me apoiar em todas as aventuras da minha vida.

Ao meu irmão, pelo carinho, incentivo, pela amizade e por sempre se orgulhar das minhas conquistas, dando-me força para buscar algo mais.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), por intermédio do Departamento de Zootecnia (DZO), pela oportunidade de realizar o Curso, pelo acolhimento e aprendizado, pelos ensinamentos e pela formação.

Ao Professor orientador Ciro Alexandre Alves Torres, por acreditar em mim e por ter aceitado a missão de ser meu orientador, pelos conselhos, pela paciência, pelo incentivo e pela ajuda nesse período da minha formação.

Ao Dr. Júlio Maria Ribeiro Pupa, por confiar e acreditar em mim, pela oportunidade, pelas informações, pelo auxílio, pelas sugestões e críticas durante a condução desta pesquisa, que foram fundamentais para a realização deste trabalho; pelos conselhos, pela amizade, paciência, pelos sorrisos, pela ajuda na formação profissional e pessoal, pela confiança e pelas experiências transmitidas, pelos bate-papos, pelas músicas, por conceder-me a oportunidade de conhecer mais um país que adoro e porque, de novo, me fez acreditar que os anjos não precisam ter asas...

Ao Professor Alysson Saraiva, pelo tempo, por me escutar, pelos conselhos e pelas sugestões.

Ao Professor Fabyano Fonseca e Silva, pela ajuda durante a análise estatística.

Ao grupo Ajinomoto do Brasil – Animal Nutrition, por ter acolhido este projeto.

Aos Professores José Domingos Guimarães e Giovanni Ribeiro de Carvalho, por terem aceitado o convite para participar da minha banca e pelas valiosas sugestões.

À Senhora Rosana Alvarenga, pela amizade, confiança e por ter-me apresentado uma pessoa muito especial, um verdadeiro anjo sem asas.

Aos proprietários da Granja São Joaquim, em especial ao Senhor João, por ter permitido a realização deste trabalho, pela amizade, bondade e, especialmente, pela acolhida.

À senhora Marília, minha imensa gratidão – você sempre adoçava os meus dias e, com as suas palavras “firme e forte” (de que nunca esquecerei), sempre me deu boa energia –, pelas refeições e palavras que alimentaram meu corpo e minha alma.

À Josi, pelos oportunos conselhos e pela amizade.

À minha amiga e irmã Sandrinha – que sempre, com muita disposição, me ajudou –, pela amizade, companhia, pelo apoio nos momentos de trabalho e pelos divertidos momentos vividos com você, pelo piquenique, pelas músicas e nossas aventuras – você é um anjo!

Ao meu amigo Alex – que sempre me ajudou com muita disposição e confiança –, pela amizade, companhia, pelo apoio nos momentos de trabalho, pela dedicação e pelo companheirismo – você é um anjo!

Aos funcionários da Granja São Joaquim, Ilma, Machadinho, Paulin, Geraldo, Reinaldo, Dione e Marcelo e a todas as pessoas (cujos nomes são difíceis de lembrar todos), pela companhia, pelos sorrisos e pelo apoio.

Aos meus amigos e irmãos do Departamento de Reprodução Animal Erly, Adriana, Carolina, Jovanna, Jurandy, Carlos, Fabricio e Ítalo, pela convivência, pelos conselhos, ensinamentos, pelas sugestões, pela companhia e pelo apoio.

À minha amiga e irmã Christiane Silva Souza – que sempre esteve do meu lado, sempre me ajudando e me incentivando a buscar meus objetivos, além me brindar com a sua sincera amizade –, pelo apoio e pela preocupação, amizade e

valiosa ajuda nesta etapa da minha vida e, assim, por me fazer perceber que não precisamos ter o mesmo sangue para sermos irmãs.

Ao Dr. Hernando Blandón, pela amizade e por não se esquecer de mim, porque a amizade não tem fronteiras.

Ao Sérgio e à Marcela, pelas aventuras, experiências e pela amizade desde os primeiros dias em Viçosa.

Aos meus amigos do Laboratório da Bioquímica Anderson, Chris, Jefferson, pelos picolés pós-almoço; e Pri, Mannu e Celminha, pela acolhida, pelos sorrisos e pelas histórias inesquecíveis.

Ao meu amigo Alfonso, pela amizade e pelo apoio incondicional.

Ao meu amigo Alexander, pelo tempo, pela ajuda na análise estatística e pela amizade.

Ao meu amigo Vinicius, pela ajuda, pelo tempo, pelos conselhos nas análises estatísticas e pela amizade.

A todos os meus amigos, pelos momentos de alegria, pela ajuda, pelo incentivo e pela amizade.

A todos os professores da UFV, em especial aos do DZO, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários do Departamento da Zootecnia Fernanda, Mariana, Rosana, Venâncio e Vinicius, pela valiosa ajuda neste tempo.

Às meninas da minha República, pela ajuda, amizade e companhia e por entenderem as temporadas de ausência.

Às pessoas que me fizeram acreditar que eu, realmente, posso ser ainda melhor.

A todos os anjos sem asas que apareceram em meu caminho nesse tempo, pois nem sempre os anjos precisam ter asas.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho.

SUMÁRIO

| | Página |
|---|--------|
| RESUMO | vii |
| ABSTRACT | ix |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 4 |
| 2.1. Glutamina e Ácido Glutâmico | 5 |
| 2.1.1. Aplicações da glutamina e ácido glutâmico na dieta de animais de produção | 9 |
| 2.2. Aspectos Reprodutivos em Suínos..... | 9 |
| 2.2.1. Produção de sêmen..... | 10 |
| 2.2.2. Estrutura do espermatozoide | 12 |
| 2.2.3. Testículo e espermatogênese..... | 13 |
| 2.2.4. Características físicas e morfológicas do sêmen..... | 14 |
| 2.2.5. Plasma seminal..... | 16 |
| 2.2.6. Uso da glutamina na preservação de sêmen..... | 18 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 19 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 27 |
| 5. CONCLUSÃO | 39 |
| 6. REFERÊNCIAS | 40 |
| APÊNDICE | 49 |
| APÊNDICE A | 50 |

RESUMO

SALINAS, Juliana Andrea Parra, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2014. **Suplementação de glutamina – ácido glutâmico na dieta de varrões.** Orientador: Ciro Alexandre Alves Torres. Coorientadores: Júlio Maria Ribeiro Pupa e Giovanni Ribeiro de Carvalho.

O experimento foi realizado em uma suinocultura de produção comercial, utilizando o ejaculado de 29 varrões de linhagem comercial com idades variando de 10 meses até 5 anos, com o objetivo de avaliar o efeito da adição de 1% de L-glutamina – L-ácido glutâmico na ração sobre a qualidade do sêmen *in natura*. Os animais foram distribuídos em blocos em delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo dois tratamentos: T1 – ração-padrão da granja (RP) e T2 – ração-padrão da granja + 1% de L-glutamina – L-ácido glutâmico (RP±LGln-LGlu). As rações foram fornecidas em forma farelada, formuladas para atender às recomendações para os varrões. As variáveis seminais analisadas foram: volume do ejaculado, concentração, motilidade, vigor e morfologia espermática, porcentagem de espermatozoides vivos e mortos e volume dos testículos. As médias registradas para o volume de sêmen e a motilidade foram $255,32 \pm 6,5$ e $290,57 \pm 9,1$; $87,72 \pm 0,2$; e $89,89 \pm 0,01$, respectivamente nos tratamentos T1 (RP) e T2 (RP±LGln-LGlu). A inclusão de 1% de L-glutamina – L-ácido glutâmico na ração afetou ($P \leq 0,05$) o volume do ejaculado e a motilidade espermática. Em valores absolutos, proporcionou melhoras de 12,3% no volume e de 2,47% na motilidade, em comparação com a ração-padrão da granja.

Os valores médios no T1 (RP) e T2 (RP±LGln-LGlu) para concentração ($79,01 \pm 2,5$ e $77,53 \pm 2,7$), vigor ($3,99 \pm 0,01$ e $3,99 \pm 0,01$), morfologia (células normais $90,1 \pm 0,4$ e $88,59 \pm 0,6$), espermatozoides vivos ($92,43 \pm 1,8$ e $93,23 \pm 2,5$), espermatozoides mortos ($7,56 \pm 0,2$ e $6,84 \pm 0,2$) e volume dos testículos (direito: $668,06 \pm 32$ e $739,27 \pm 31$; esquerdo: $793,40 \pm 36$ e $777,22 \pm 39$, respectivamente no T1 e T2) não apresentaram diferença em relação à RP e RP±Gna-Glu ($P > 0,05$). Não houve interação entre o tratamento e a idade dos animais. A adição de 1% de L-glutamina – L-ácido glutâmico na ração de varrões aumentou o volume do ejaculado e a motilidade das células espermáticas do sêmen *in natura*.

ABSTRACT

SALINAS, Juliana Andrea Parra, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2014. **Glutamine supplementation – Glutamic acid in the diet of boars**. Adviser: Ciro Alexandre Alves Torres. Co-Advisers: Júlio Maria Ribeiro Pupa e Giovanni Ribeiro de Carvalho.

The experiment was conducted in a swine production commercial enterprise, using the semen of 29 boars ages between 10 months and 5 years, from a commercial line. The aim of the study was to evaluate the effect of adding 1% L-glutamine – L-glutamic acid in the diet on boars fresh semen quality. The animals were divided into blocks in a completely randomized design, with two treatments, T1– standard farm diet (RP) and T2- standard farm diet + 1% L-glutamine – L-glutamic acid (RP+LGln-LGlu). Diets were fed in mash form, formulated to meet the recommendations for boars. The seminal variables were: volume of semen, concentration, motility, force and morphology, and percentage of lives and dead sperm cells, and testes volume. The means for semen volume and sperm cells motility, were 255.32 ± 6.5 and 290.57 ± 9.1 ; 87.72 ± 0.2 and 89.89 ± 0.01 respectively for T1 (RP) and T2 (RP+LGln-LGlu) treatments. The 1% L-glutamine – L-glutamic acid add in the diet influenced semen volume and sperm cells motility ($P \leq 0.05$). The mean for T1 (RP) and T2 (RP+LGln-LGlu) treatments were: sperm concentration (79.01 ± 2.5 and 77.53 ± 2.7), force (3.99 ± 0.01 and 3.99 ± 0.01), morphology (normal cells 90.1 ± 0.4 and 88.59 ± 0.6), live spermatozoa (92.43 ± 1.8 and 93.23 ± 2.5), dead

sperm cells (7.56 ± 0.2 and 6.84 ± 0.2) and testicular volume (right: 668.06 ± 32 and 739.27 ± 31 , left: 793.40 ± 36 and 777.22 ± 39) and were not affected by treatments ($P>0.05$). No interaction have been detected between treatment and age. The addition of 1% L-glutamine – L-glutamic acid, on boars diet increased the fresh semen volume and sperm cells motility.

1. INTRODUÇÃO

A importância do reprodutor na atividade suinícola não se resume na sua utilização nos diferentes setores do sistema de produção de suínos ou como estimulador para antecipação da puberdade em leitoas e do estro após o desmame, mas, principalmente, como reprodutor e doador de sêmen. O reprodutor precisa de nutrição específica, pois é responsável por 50% do material genético e, conseqüentemente, da resposta reprodutiva da granja. Apesar das diferenças demonstradas nas exigências nutricionais de suínos entre os diferentes sexos, poucos trabalhos têm sido realizados com varrões.

A nutrição tem sido o componente de maior participação no custo total da produção de suínos. Além disso, o ganho de peso, a conversão alimentar e as características de carcaça e do sêmen, bem como o comportamento sexual, podem ser afetados diretamente pelo tipo e qualidade da nutrição a que os suínos estiverem submetidos. As exigências nutricionais são diferentes para suínos machos castrados e inteiros, sendo importantes não apenas para o crescimento, mas também para os processos reprodutivos. Entre os fatores que afetam a fertilidade dos machos, destacam-se: 1) a temperatura ambiente, 2) o fotoperíodo, 3) as patologias, 4) o manejo e 5) a nutrição. Assim, a produção de espermatozoides e a fertilidade são influenciadas pela alimentação, tanto no período de crescimento quanto no de produção.

Uma forma de estimar a produtividade e a conseqüente lucratividade de um sistema de produção de suínos é a análise do número de leitões desmamados por

fêmea por ano, parâmetro dependente, entre outros fatores, do número de nascidos vivos. Nesse ponto, o varrão contribui, principalmente, como doador de sêmen, seja por monta natural ou inseminação artificial (GONZÁLES, 2010).

A utilização de programas de inseminação artificial (IA) tem aumentado substancialmente, sendo a técnica importante para o melhoramento genético dos animais. O sêmen a ser utilizado para IA deve apresentar características qualitativas e quantitativas que possibilitem a produção de uma dose inseminante de qualidade.

Com a difusão da IA, são necessárias estratégias de manejo e nutrição que permitam estabilizar ou melhorar a fertilidade dos machos e a qualidade do sêmen (ESTIENNE, 2005).

Quando comparado com outras espécies animais ou, mesmo, suínos em outras fases de produção, as pesquisas relacionadas especificamente com a suplementação de aminoácidos para cachaços são limitadas. Uma das razões para isso é que os machos reprodutores representam pequena parcela da população comercial de suínos. Outra razão é que os sistemas de produção antigos utilizavam, predominantemente, a monta natural, e um ejaculado suíno produzia espermatozoides suficientes para emprenhar uma única porca.

Geralmente, é assumido que a formulação das dietas da fase de gestação de porcas supre as necessidades de aminoácidos, energia, proteína, lisina e metionina para cachaços (CLOSE; ROBERTS, 1993). No entanto, uma alimentação específica para os varrões é de grande importância, confirmando a influência da nutrição sobre o tamanho testicular, produção e reserva espermática, em que testículos maiores estariam correlacionados com concentrações espermáticas elevadas, efeitos sobre o volume do sêmen, motilidade e patologias espermáticas.

Os aminoácidos não essenciais também são importantes e devem ser estudados por serem precursores dos aminoácidos essenciais, além de outras funções biológicas. A L-glutamina (L-Gln) tem sua importância no desempenho de funções biológicas, como a prevenção da atrofia de vilosidades intestinais comum durante o período de desmame de leitões (BURRIN et al., 2000), biossíntese de nucleotídeos, detoxificação de amônia, síntese e degradação proteica, síntese de hexosaminas, transferências de nitrogênio entre órgãos, síntese de glutatona, substrato energético, manutenção do balanço ácido-base, urogênese e gliconeogênese hepáticas e modulação da resposta inflamatória. No entanto, o L-ácido glutâmico (L-Glu ou glutamato) apresenta como principais funções a síntese e degradação proteicas, bem

como substrato para síntese de L-Gln e neurotransmissor no cérebro (BORGES et al., 2008; QUADROS, 2010).

Kruuv e Glofcheski (1992) comprovaram a eficiência do uso de aminoácidos na crioproteção celular, e Kundu et al. (2001) obtiveram êxito no congelamento de espermatozoides caprinos utilizando apenas aminoácidos como crioprotetores e relataram que os melhores resultados foram obtidos com a associação de 40 mM de alanina, 60 mM de glutamina, 20 mM de prolina ou 40 mM de glicerol. Desse modo, sugeriram que essas misturas de aminoácidos como crioprotetores podem ser benéficas para a criopreservação de sêmen de várias espécies (FAGUNDES et al., 2010).

A capacidade da mucosa intestinal em metabolizar glutamina pode ser ainda mais importante durante estados de doenças catabólicas, quando a depleção de L-Gln pode ser mais grave e a nutrição oral, estar interrompida devido à gravidade da doença (SOUBA et al., 1990).

Audet et al. (2004), em experimentos com suínos, afirmaram que os nutrientes via dieta são passados para o sangue e sêmen com eficiência variada, podendo ou não estar associados com alterações da função espermática. Assim, a biodisponibilidade de um elemento pode ser definida como a quantidade do nutriente presente em determinada fonte, que é absorvida para ser utilizada ou metabolizada pelo animal (CLOSE, 2003). Por causa desses fatores, a adição de L-Gln – L-Glu (glutamato) à dieta pode apresentar resultados nas características do ejaculado.

A utilização de L-Gln e L-Glu em dietas já foram descritas por diversos autores, para leitões pós-desmame (WU et al., 1996; KITT et al., 2001; LACKEYRAM et al., 2001) e frangos de corte (MORAN; STILLBOM, 1994; SAKAMOTO, 2009), entretanto existem poucos estudos com varrões. Dessa forma, faz-se necessário o estudo da concentração de L-Gln e L-Glu, que podem ser adicionados às rações, e de seus efeitos sobre a qualidade do sêmen dos varrões.

Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito de 1% de L-Gln – L-Glu adicionado às rações para varrões, e o desempenho reprodutivo dos mesmos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A reprodução dos suínos fêmeas e machos e a sua eficiência são influenciadas pelo desempenho de ambos. A manutenção da fertilidade do reprodutor é, portanto, de grande importância para a eficiência reprodutiva nos diferentes sistemas de produção, principalmente como reprodutor e doador de sêmen. Enquanto uma porca hiperprolífica pode gerar 70-80 leitões durante sua vida útil reprodutiva, o reprodutor pode ser responsável por 500 a 10 mil leitões por ano, dependendo do manejo e frequência de coleta do ejaculado, ou seja, monta natural ou inseminação artificial (CLOSE, 2006). Apesar das diferenças demonstradas nas exigências nutricionais dos suínos nas diferentes fases de produção, poucos trabalhos têm sido realizados com varrões.

Atualmente são realizadas muitas pesquisas buscando melhorar os resultados de fertilidade a campo, sendo a eficiência reprodutiva do rebanho suíno altamente correlacionada com a capacidade reprodutiva (fertilidade) dos machos (FOXCROFT et al., 2008). Assim, é essencial que nas centrais de IA sejam processados somente ejaculados de alta qualidade.

Quando comparado com outras espécies animais ou, mesmo, suínos em outras fases de produção, pesquisas relacionadas especificamente com a suplementação de aminoácidos para varrões são bastante limitadas. Uma das razões que infere nesse processo é o fato de que os varrões representam pequena parte da população da granja comercial de suínos. Outra razão é que nos sistemas de produção se utilizava predominantemente a monta natural e que um ejaculado

contém espermatozoides mais que suficientes para tornar uma fêmea gestante. Com o aumento de utilização da IA serão necessárias estratégias de manejo e nutrição para acrescentar fertilidade e qualidade ao sêmen (ESTIENE et al., 2009).

Deve-se considerar que, na produção comercial, há muitos fatores que podem interferir na biodisponibilidade dos nutrientes fornecidos via dieta, como: a) a presença de micotoxinas; interações minerais x vitaminas; b) estresse por calor; c) armazenamento inadequado de ingredientes que compõem a dieta, como alta temperatura e umidade e presença de metais pesados na dieta; e d) doenças (ESTIENE, 2005). A biodisponibilidade de um elemento pode ser definida como a quantidade do nutriente de determinada fonte, que é absorvida para ser utilizada ou metabolizada pelo animal (CLOSE, 2003). Audet et al. (2004), em experimentos com suínos, afirmaram que os nutrientes via dieta são passados para o sangue e o sêmen, com eficiência variada, e podem ou não estar associados a alterações da função espermática.

2.1. Glutamina e Ácido Glutâmico

A glutamina é um aminoácido do grupo dos aminoácidos dieteticamente não essenciais, devido à sua capacidade de ser sintetizada a partir de outros aminoácidos ou nutriente (BERTECHINI, 2006). É representada pela fórmula química $C_5H_{10}N_2O_3$. A sua estrutura apresenta dois grupos nitrogenados facilmente mobilizáveis, um grupo alfa-amino e uma amida (Figura 1), sendo esses grupos nitrogenados, o que a diferencia dos outros aminoácidos, pois funciona como veículo para intercâmbio tissular de nitrogênio e amônia da periferia para os órgãos viscerais (DARMAUN; HUMBERT, 2000). Contudo, estudos recentes (USDA-DGAC, 2010) evidenciaram que pode ser considerada “condicionalmente essencial” durante processos inflamatórios e situações de estresse, como parto, desmame, lesões, ferimento ou infecções (NEWSHOLME, 2001) ou, no caso de quadros de doença com catabolismo (SMITH; WILMORE, 1990), atua como substrato energético, sendo essencial para células de proliferação rápida ou intensa multiplicação, como células intestinais e linfócitos ativos, macrófagos e células renais (WU et al., 2007; ZAVARIZE et al., 2010). Considerado como o aminoácido livre mais abundante no fluido extracelular do total de aminoácidos livres do corpo, aproximadamente 25% do total dos aminoácidos e mais de 60% do total de aminoácidos livres no músculo

esquelético apresentam grande importância nos processos metabólicos, sendo indispensável para o crescimento da maioria das células e tecidos (PIERZYNOWSKI et al., 2001), participando em processos metabólicos, como a síntese de proteínas, gliconeogênese, transferência de nitrogênio entre os órgãos, a biossíntese de ácido nucleico e a resposta imune, além de participar da síntese de poliaminas, moléculas essenciais para a proliferação, diferenciação e reparo das células epiteliais (WU et al., 2007). É essencial para a síntese de purina e nucleotídeos de pirimidina em todas as células e desempenha papel importante na regulação do equilíbrio ácido-base no organismo através da amoniogênese renal (QUADROS, 2010).

O metabolismo da glutamina acontece por uma única reação catalisada por duas enzimas: a glutamina sintetase e a glutaminase (AQUINO et al., 2013).

A maior parte do glutamato e da glutamina no plasma sanguíneo pode ser sintetizada a partir de aminoácidos de cadeia ramificada e acetoglutarato no músculo esquelético. O glutamato é um substrato para síntese de glutamina pela glutamina sintetase ATP-dependente, enquanto a glutamina é hidrolisada por glutaminase fosfatodependente para gerar glutamato (ANDERSON et al., 2002).

A síntese da glutamina acontece primariamente nos músculos, mas também nos pulmões, fígado, cérebro e, possivelmente, no tecido adiposo (ROWBOTTOM et al., 1996). Os rins, células do sistema imune e o trato gastrointestinal usam a glutamina como substrato energético, enquanto o fígado é o único órgão que tanto a utiliza quanto a produz (NEWSHOLME, 1994).

A glutamina e o glutamato são os principais precursores para a síntese intestinal de arginina, sendo intensivamente catabolizados pelo intestino delgado; doam nitrogênio para a síntese dos nucleotídeos purina e pirimidina e da glutatona. Sua síntese representa vias fisiologicamente importantes para a utilização de glutamina e glutamato, respectivamente (WU, 1998; PIERZYNOWSKI et al., 2001).

A produção de arginina a partir da glutamina ocorre em várias reações, que envolvem a produção de ornitina e citrulina. Assim, a glutamina é importante para manter baixa concentração de amônia pela formação de ureia, mantendo o equilíbrio ácido-base do organismo, evitando distúrbios do sistema nervoso central (FREITAS, 2000).

Os aminoácidos dietéticos são os principais combustíveis da mucosa do intestino delgado e precursores essenciais da síntese intestinal de glutatona, óxido nítrico, poliaminas, nucleotídeos purina e pirimidina e aminoácidos (alanina,

citrulina e prolina). Esses aminoácidos também são obrigatórios para manutenção da integridade da mucosa intestinal (WU, 1998). O trato gastrintestinal é o principal órgão de consumo e de utilização da glutamina. A capacidade da mucosa intestinal em metabolizá-la pode ser ainda mais importante durante as doenças catabólicas ou estresse, quando a depleção de glutamina pode ser mais grave e o consumo de ração pode estar interrompido (SOUBA et al., 1990). Assim, em condições de elevada degradação proteica (infecção, inflamação, início da lactação ou subnutrição), pode atuar como regulador metabólico para aumentar a síntese e reduzir o catabolismo proteico, em que a suplementação exógena pode ser alternativa para suprir as exigências de energia e de nitrogênio do intestino, estresse muscular em que a concentração intracelular é reduzida (resultando em alta degradação de proteína), crescimento rápido dos tecidos e doenças, em que a síntese endógena pode não ser suficiente (ZAVARIZE et al., 2010), mas responsável por regular os níveis de amônia nos tecidos, o que pode ser tóxico para as células corporais.

As células da mucosa do trato digestivo, assim como outras células de proliferação rápida, têm uma exigência que pode envolver o papel da glutamina como fornecedora da metade das necessidades de N para a síntese de purina e pirimidina via ação da carbamoil-fosfato, sintetase II do citosol (LOBLEY et al., 2001). Além disso, são um precursor da síntese de N-acetil-glicosamina e N-acetil-galactosamina, que podem ter papel crítico na síntese intestinal de mucina e, portanto, na manutenção da barreira passiva à invasão bacteriana (KHAN et al., 1999). Também, podem atuar como sinal ou regulador de demandas metabólicas, aumentando a síntese de proteína e diminuindo a degradação de proteína no musculoesquelético, e estimular a síntese de glicogênio no fígado (HAUSSINGER et al., 1994; SMITH, 1990).

O uso da glutamina por outros órgãos do corpo aumenta em resposta ao estresse e, como consequência, o conteúdo plasmático diminui drasticamente. Assim, para restabelecer a concentração, a glutamina existente no músculo esquelético é lançada no sangue, sendo responsáveis pela manutenção das concentrações plasmáticas e por prover outros tecidos com esse aminoácido (ZAVARIZE et al., 2010).

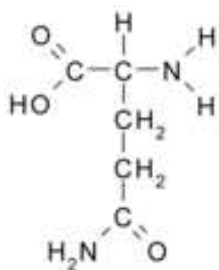
A glutamina e a alanina são as principais moléculas transportadoras de grupamento amino de tecidos extra-hepáticos para o fígado, além de serem importantes aminoácidos glicogênicos em mamíferos. Depois da remoção do

grupamento amino dentro das mitocôndrias do fígado, formam-se o piruvato e o α -cetoglutarato, os quais participam da gliconeogênese (ZAVARIZE et al., 2010). Sendo a glutamina precursora da gliconeogênese, da aminogênese renal e de neurotransmissores, como o ácido α -aminobutírico e o glutamato.

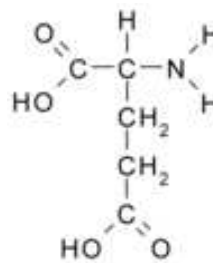
O glutamato, ou L-ácido glutâmico, é um aminoácido de propriedades ácidas que compõe diversos tipos de proteínas dos seres vivos. Trata-se de um aminoácido não essencial ou natural, isto é, por ser produzido a partir de outros compostos celulares. É representado pela fórmula química $C_5H_9NO_4$ e possui um ácido carboxílico como radical na sua estrutura.

A maior parte do glutamato consumido é absorvida rapidamente no intestino delgado, no qual metade é metabolizada, produzindo gás carbônico (CO_2). Também está intimamente ligado aos processos de sínteses de carboidratos e ácidos graxos e pode ser utilizado na síntese proteica ou convertido em α -cetoglutarato ou, ainda, reagir com o piruvato, originando α -cetoglutarato e alanina. A energia gerada pela oxidação do α -cetoglutarato no ciclo de Krebs leva à produção de 30 moles de ATP, o que torna a glutamina substrato energético tão importante quanto a glicose, a qual, por oxidação, libera energia suficiente para a síntese de 36 moles de ATP (ZAVARICE et al., 2010).

O glutamato é o precursor de vários aminoácidos, como glutamina, prolina, gaba, ornitina e arginina, e participa da formação de vários metabólitos.



Fórmula estrutural L-glutamina



Fórmula estrutural L-ácido glutâmico

Figura 1 – Estrutura L-glutamina e L-ácido glutâmico.

Fonte: ZAVARIZE et al., 2010.

2.1.1. Aplicações da glutamina e ácido glutâmico na dieta de animais de produção

A glutamina é o aminoácido livre encontrado em maior concentração no leite de porcas, principalmente após a segunda semana de lactação, e aumenta progressivamente de 0,1 – 4 mM entre 1 e 28 dias de lactação (WU; KNABE, 1994). A glândula mamária das porcas não contém a enzima glutaminase fosfato ativa (O'QUINN et al., 2002) responsável pela hidrólise da glutamina, maximizando a disponibilidade de glutamina recém-sintetizada para a produção de proteínas do leite, aumentando a disponibilidade desse aminoácido e sendo considerada a principal fonte de energia para os enterócitos dos leitões (WU et al., 1995; KIM; WU, 2009). Durante o seu processo de hidrólise, são gerados produtos, como fumarato e aspartato, que podem entrar diretamente no ciclo de Krebs para gerar ATP, evidenciando, assim, o papel da glutamina como substrato energético para os enterócitos, e seu uso na dieta de leitões desmamados tem apresentado resultados positivos na manutenção da estrutura morfológica do intestino no período do desmame. Animais alimentados com 1% de glutamina na primeira semana pós-desmame tiveram melhoria de 25% na conversão alimentar, a qual evitou a atrofia das vilosidades, além de melhorar a resposta imune diante da infecção por *Escherichia coli* (WU et al., 1996).

Lackeyram et al. (2001), suplementando dietas à base de milho e farelo de soja com 0,8% de glutamina, observaram aumento no ganho de peso corporal, no peso do intestino delgado e no crescimento de outros órgãos viscerais em leitões submetidos ao desmame precoce aos 10 dias de idade. As dietas na fase de creche suplementadas com 1% preveniram a atrofia das vilosidades do jejuno, melhoraram a conversão alimentar sete dias após o desmame (WU et al., 1996) e proporcionaram melhorias na eficiência alimentar do 14° ao 21° dia pós-desmame (KITT et al., 2001).

2.2. Aspectos Reprodutivos em Suínos

Os machos suínos apresentam a puberdade aproximadamente de 20 a 24 semanas de idade, quando apresentam uma série de alterações histológicas caracterizadas pelo aumento no diâmetro e comprimento dos túbulos seminíferos, na

formação do lúmen tubular e início da divisão das células espermáticas. Nessa etapa, a qualidade do sêmen do reprodutor jovem ainda não é boa, contendo grande quantidade de espermatozoides anômalos, pouco volume seminal e concentração do ejaculado comparado com reprodutores adultos. A capacidade fertilizante do sêmen do reprodutor pode ser alcançada quando este tem aproximadamente 28 a 30 semanas de vida (MARTINEZ, 1998), sendo os machos considerados pós-púberes de 8 a 12 meses e, como adultos, a partir de 1 ano de idade (ALKIM, 2010).

2.2.1. Produção de sêmen

Na qualidade da produção de sêmen, os seguintes fatores devem ser levados em consideração:

- **Idade** – A qualidade do sêmen é baixa após a puberdade, mas vai aumentando até alcançar um máximo de 24 a 29 meses de idade, quando se verificam valores máximos de volume e concentração (FERREIRA, 1995; MARTINEZ, 1998). No período de 12 até 35 meses de idade, a qualidade do ejaculado melhora e tende a ficar estável após esse período e começa a diminuir (MARTINEZ, 1998). Os estudos feitos por Smital (2009) evidenciaram diferença na produção espermática entre raças, e as médias do número total de espermatozoides/ejaculado variaram de 92×10^9 até 116×10^9 espermatozoides por ejaculado. Além disso, a produção espermática aumenta rapidamente, acompanhando a idade do varrão durante os três primeiros anos, atingindo o valor máximo e declinando posteriormente; as características seminais também estão relacionadas com a frequência das coletas, em que a concentração e o número de espermatozoides são restabelecidos após cinco a sete dias de descanso após a última coleta.
- **Frequência do ejaculado** – A frequência com que os machos são coletados deve levar em conta a produção espermática dos animais, a produção individual e a demanda de sêmen do doador, visto que a produção espermática varia de acordo com os varrões, época do ano, idade, grau de condição corporal e tamanho dos testículos (CORRÊA et al., 1999). Curtos intervalos de dias entre os ejaculados causam a diminuição na qualidade do sêmen, sendo mais prejudicial na concentração espermática. Estudos realizados com coletas a cada 24 h e depois

de cinco dias de descanso, entre a primeira e a segunda ejaculação, mostraram 46,9% menos espermatozoides, e, se a coleta continuasse por uma vez ao dia, no sexto dia haveria 80,2% de células a menos, em comparação com o primeiro ejaculado após o descanso. Quando os varrões tiveram o sêmen coletado mais de duas vezes ao dia, eles apresentaram quase 70% a menos de células espermáticas, em comparação com a primeira ejaculação. Os varrões que tiveram repouso sexual por mais de 25 dias podem ter como resultado a presença de células de maior idade no ejaculado, as quais possuem baixa capacidade de fertilização. Machos adultos podem ser submetidos a duas coletas semanais ou duas a três coletas a cada 15 dias, sem comprometimento de sua capacidade de produção espermática, enquanto machos jovens podem ser coletados uma vez por semana sem comprometimento do número de espermatozoides ejaculados (SILVEIRA; SCHEID, 2003).

- **Temperatura** – Há uma variação considerável da resposta do estresse por calor de um reprodutor para outro, mas, se um animal é suscetível a esse estresse, terá aumento nas formas anormais das células espermáticas, motilidade e volume do ejaculado reduzido. Os efeitos adversos do estresse aparecem geralmente de sete a 14 dias após o início do aumento da temperatura. Após um período de estresse térmico, a recuperação da qualidade do sêmen pode levar de cinco a oito semanas.
- **Genética** – A raça e linhagem genética dos reprodutores têm efeitos mínimos sobre a fertilidade e tamanho da leitegada, no entanto há diferenças na qualidade do sêmen e maturação sexual (precocidade dos animais) entre as diferentes linhagens e raças. Os animais híbridos, cuja precocidade de crescimento e o desempenho são evidentes (ABRAHÃO, 2006), possuem vantagens na motilidade espermática, volume do ejaculado e número de células espermáticas quando têm menos de oito meses de vida, mas essas diferenças com animais puros são mínimas na idade adulta (MARTINEZ, 1998).
- **Nutrição** – Uma ingestão dos nutrientes inadequados mostra diminuição na libido e nas características seminais. Animais jovens são mais sensíveis a problemas relacionados com má nutrição do que aqueles já adultos; em algumas

circunstâncias, os danos que podem sofrer (geralmente retardo no desenvolvimento sexual, atraso no atingimento da puberdade, demora no desenvolvimento da genitália externa e consequente supressão da espermatogênese) podem repercutir em toda a sua vida reprodutiva (VALENCA et al., 2007).

2.2.2. Estrutura do espermatozoide

O espermatozoide é produzido dentro dos túbulos seminíferos dos testículos no processo chamado de espermatogênese. Durante a divisão das células, na fase mitótica as células germinativas sofrem uma série de divisões, aumentando, assim, a população de espermatogonias. A fase meiótica é dividida em duas, ocorrendo sem duplicação de DNA com o objetivo de produzir células haploides. Na fase final, conhecida como espermiogênese, termina com a formação do acrossoma, condensação nuclear, perda da maior parte do citoplasma, desenvolvimento do flagelo e rearranjo das mitocôndrias; assim, o resultado final é uma célula altamente especializada, sendo sua principal função a hereditariedade com fornecimento do genoma haploide masculino após o processo de fecundação do oócito (MORTIMER, 1997). O espermatozoide maduro consiste de três regiões morfofuncionais distintas: cabeça, peça intermediária e cauda, sendo unidas pelo anel posterior, o *anulus*, e encapsuladas por uma membrana plasmática simples.

A cabeça do espermatozoide possui o núcleo, acrossomo e pequena quantidade de estruturas do citoesqueleto e citoplasma. Na porção anterior do núcleo, está localizado o acrossoma, estrutura derivada do complexo de Golgi, que possui enzimas hidrolíticas envolvidas no processo de fecundação e oferece proteção ao DNA contra choques mecânicos (NEILL et al., 2006). É composto por duas membranas, interna e externa, e pelo conteúdo acrossômico, o qual é liberado em forma de vesículas durante a reação acrossomal, visto que ocorre fusão entre as membranas plasmáticas e a acrossomal externa (FLESCH; GADELLA, 2000). A cromatina do núcleo espermático é altamente condensada, sendo as histonas substituídas por proteínas com carga altamente positiva, chamadas de protaminas (MILLER et al., 2010), que deixam a estrutura mais compacta, com volume minimizado e estável para o transporte (KIERSZENBAUM, 2001).

A peça intermediária compõe a região entre a cabeça e a peça principal da cauda espermática. Nela estão localizadas as mitocôndrias da célula, em número de aproximadamente 100, dispostas de forma helicoidal (HALLAP et al., 2005). As mitocôndrias são responsáveis pela regulação de cálcio intracelular, ROS (KROEMER et al., 1997), e fosforilação oxidativa que gera o ATP, requerido primariamente para a motilidade espermática (LAFFALDANO et al., 2005).

A cauda é composta pelo axonema, estrutura composta de dois microtúbulos conectados, circundados por outros nove pares de túbulos, sendo essa estrutura chamada de padrão (9+2) (INABA, 2003). Ligada à subunidade A dos pares de microtúbulos está a dineína, proteína motora, que é uma das responsáveis pela contratibilidade, visto que transforma energia química (ATP) em energia cinética pelo deslizamento relativo entre os pares de microtúbulos, levando ao movimento flagelar (MORTIMER et al., 1997).

2.2.3. Testículo e espermatogênese

Os testículos têm dupla função, sendo espermatogênese e esteroidogênese. São órgãos pares revestidos por uma espessa cápsula conjuntiva, albugínea, a qual envia septos a partir do mediastino testicular para o interior, dividindo o testículo em lóbulos. O parênquima testicular consiste na parte funcional dos testículos e apresenta dois compartimentos: o tubular e o intersticial ou intertubular (RUSSELL et al., 1990). O primeiro, os túbulos seminíferos, constitui a maior parte do testículo, ocupando, na maioria dos mamíferos, de 70% a 90% do parênquima testicular (FRANÇA; GODINHO, 2003), responsável pela produção dos espermatozoides, os quais se conectam pelas duas extremidades à rede testicular, localizada na região do mediastino testicular de onde o conteúdo tubular é direcionado para dentro dos ductos eferentes e do epidídimo. Os túbulos seminíferos são constituídos a partir de sua porção externa para a interna, de túnica própria, epitélio seminífero e lume. Na túnica própria podem ser observadas as células mioides ou peritubulares, a lâmina basal e as fibras colágenas. Dois tipos celulares de origens diferentes estão presentes no epitélio seminífero: as células de Sertoli, de origem somática e as células germinativas ou espermatogênicas (FAWCETT et al., 1973; FRANÇA; GODINHO, 2003.) As secreções epididimárias possuem fatores de maturação que induzem o potencial para motilidade progressiva, alteração de mecanismos metabólicos, perda

da gota plasmática durante a sua migração pela cauda e alterações na membrana plasmática, acrossoma e conteúdo nuclear.

O epidídimo ainda possui a função dispersora dos espermatozoides devido à presença de uma antiaglutinina, cuja deficiência produz a aglutinação dos espermatozoides (MIES FILHO, 1975). Pelos ductos deferentes, os espermatozoides são transportados da cauda do epidídimo até a uretra pélvica. Adjacente à uretra pélvica estão às glândulas sexuais acessórias: glândulas vesiculares, próstata e glândulas bulbouretrais. As glândulas vesiculares são responsáveis pela maior parte do fluido do sêmen suíno contendo substratos energéticos, a próstata tem como função neutralizar a acidez das secreções vaginais, dá as características de odor ao sêmen e as glândulas bulbouretrais secretam a fração gelatinosa do sêmen suíno.

A porção terminal do sistema urogenital é a uretra peniana, que é de localização no pênis e via de micção e ejaculação (HAFEZ, 1995).

Há relação direta entre o peso testicular e a produção espermática (OLAR et al., 1983; FRANÇA; RUSSELL, 1998), quanto maior o testículo, maior a produção de espermatozoides.

Comparado com outros sistemas bem conhecidos de autorrenovação (como epiderme, epitélio do intestino e medula óssea) do corpo animal, na maioria das espécies a espermatogênese é considerada como a que tem maior número de divisões durante o seu desenvolvimento; e, assim como em suínos, ovinos, ratos e camundongos, uma espermatogônia-tronco passa por aproximadamente sete divisões mitóticas antes de se diferenciar em espermatócito. Na maioria das espécies investigadas, entre 4 e 40 milhões de espermatozoides são produzidos diariamente por grama de testículo; no suíno, esse valor encontra-se na faixa de 25 milhões (FRANÇA; GODINHO, 2003). As medidas testiculares variam de acordo com o peso, a idade e a raça, sendo menores nos machos híbridos, em comparação com os de raças puras, da mesma idade (CBRA, 2013).

2.2.4. Características físicas e morfológicas do sêmen

- **Volume de sêmen**

O volume do ejaculado varia de 150 a 300 mL (PINART et al., 1999; ROZEBOOM, 2000), sendo essa condição sujeita a variações pelas características individuais e condições ambientais (SETCHELL, 1991). Os estudos feitos por Smital

(2009) evidenciaram diferenças entre raças quanto ao volume da fração rica do ejaculado, sendo esta de até 95 mL, em média.

O volume total do ejaculado aumenta com o avançar da idade do varrão, enquanto a concentração espermática diminui (MARTINEZ, 1998; JANKEVICIUTE; ZILINSKAS, 2002).

- **Motilidade e vigor espermáticos**

A motilidade espermática é o parâmetro mais utilizado para avaliar a qualidade do ejaculado. Os ejaculados com menos de 70% de espermatozoides móveis (CBRA, 2013) são menos férteis quando comparados com aqueles que apresentam motilidade maior que 70%. O método clássico de julgamento da motilidade permite estimar a qualidade do movimento do flagelo e a vitalidade celular; apesar da natureza subjetiva da avaliação, a motilidade espermática tem correlação positiva com a fertilidade. A análise de sêmen por computador fornece informação acurada, precisa e significativa do movimento e realiza uma análise objetiva da motilidade.

- **Morfologia espermática**

A avaliação da morfologia espermática fornece um bom indicativo da capacidade reprodutiva do macho, porém a avaliação de um único ejaculado não fornece indicação da capacidade de produção e da qualidade do sêmen. Dependendo da característica espermática que se deseja avaliar, faz-se necessária a avaliação de quatro a nove ejaculados do mesmo reprodutor, para se estabelecer uma correlação de 80% com a capacidade real de produção de sêmen do varrão.

A morfologia espermática pode-se classificar em defeitos maiores (por exemplo, gota proximal, cabeça pequena anormal etc.) e defeitos menores (por exemplo, gota distal, cabeça pequena normal etc.) em termos dos efeitos adversos na fertilidade do macho.

Os defeitos maiores são aqueles associados com problemas da fertilidade, caracterizados como defeitos primários, em que o defeito pode ocorrer durante o processo de espermatogêneses. Os defeitos menores são considerados de menor importância sobre a fertilidade; podem ocorrer após a espermatogênese (CHENOWETH, 2005).

- **Concentração**

O número total de espermatozoides no ejaculado pode refletir a capacidade de produção espermática pelos testículos e a capacidade de armazenamento do sistema de ductos (AX et al., 2004). Os valores médios de concentração espermática em suínos é de 30 a 60 bilhões de espermatozoides/ejaculado (CBRA, 2013).

- **Aglutinação espermática**

A aglutinação espermática é observada quando o espermatozoide se liga a outro pela cabeça ou cauda, o que em condições normais não deveria ocorrer, mas, quando está presente de forma frequente, pode sugerir causa imunológica de infertilidade (ALKIM, 2010). Yeste et al. (2008) evidenciaram que a armazenagem do sêmen por um longo período pode induzir a aglutinação dos espermatozoides. Outras possíveis causas são a variação da temperatura e a contaminação bacteriana (ROZEBOOM, 1999).

2.2.5. Plasma seminal

O plasma seminal é fluido complexo, composto de água, íons inorgânicos, ácido cítrico, açúcares, sais orgânicos, prostaglandinas e número variado de proteínas que agem como substâncias-tampão, permitindo uma osmolaridade adequada e um pH próximo de 7,0 (ALKMIN, 2010). O plasma seminal é oriundo de epidídimo, ductos deferentes, ampolas, próstata, glândulas vesiculares e bulbouretrais (LITTLE; HOLYOAK, 1992), sendo um mediador essencial para as funções espermáticas *in vivo*, desde a ejaculação até a fertilização.

O contato dos espermatozoides com as diferentes substâncias que compõem o plasma seminal ocorre de forma sequencial. No decorrer do trânsito espermático no epidídimo, sua membrana plasmática sofre grande remodelação, tanto na composição proteica quanto de fosfolipídios. Assim, enquanto a maior parte das proteínas testiculares será eliminada ou sofrerá degradação mediante a ação de diversas enzimas proteolíticas, grande número de novas proteínas secretadas pelo epidídimo, principalmente da cabeça e do corpo, será integrada à membrana espermática nesse transcurso (GATTI et al., 2004).

Na ejaculação, os espermatozoides procedentes do epidídimo entram em contato com diferentes secreções oriundas das glândulas vesiculares, próstata e

bulbouretrais, as quais são específicas e altamente variáveis entre indivíduos da mesma espécie, assim como entre ejaculados de um mesmo indivíduo. Também, pode variar em: diferentes processos patológicos, estações do ano ou estados fisiológicos do animal (PÉREZ-PÉ et al., 2001; CARDOZO et al., 2006).

A importância do plasma seminal está relacionada com todos os fenômenos relacionados aos espermatozoides, aos órgãos sexuais da fêmea e durante a fecundação, funções de nutrição, proteção, regulação da motilidade e capacitação espermáticas, de reconhecimento e união entre gametas, além de sua ação sobre os órgãos genitais da fêmea, produzindo aumento das contrações uterinas, associado a uma modulação da resposta imune e a um relaxamento do istmo tubárico (JOHNSON et al., 2000).

As glândulas sexuais acessórias respondem pela produção de maior parte do volume do ejaculado e, entre suas secreções, encontram-se componentes minerais, como o zinco, com propriedades estabilizadoras de macromoléculas e antibacterianas (STRZEZEK et al., 1987); o íon cálcio, que participa dos processos de capacitação espermática e reação acrossômica; açúcares, como frutose, inositol, ácido cítrico e ácido ascórbico, que proporcionam energia para o metabolismo da célula (VOLGLMAYR; AMANN, 1973; FREI et al., 1990); os aminoácidos (ácido glutâmico, carnitina, taurina, hipotaurina), que atuam como fonte de energia e de proteção contra substâncias reativas ao oxigênio; e as enzimas (proteases, acrosinas, nucleases, fosfatases ácida e alcalina e superóxido dismutase), que participam da liquefação seminal, penetração do oócito pelo espermatozoide, digestão de espermatozoides mortos e lesados e proteção contra substâncias oxigênio reativas (ZINI et al., 1993).

Ainda, os estudos relacionados com a influência do plasma seminal sobre a fisiologia e fertilidade dos espermatozoides indicaram resultados contraditórios, a exemplo de alguns que demonstram que a adição de plasma seminal ao meio que contém os espermatozoides pode reduzir a fisiologia e fertilidade espermáticas (DOTT et al., 1979; MOORE et al., 2005; AKCAY et al., 2006). Outros estudos apontaram que a adição do plasma seminal em determinadas etapas da manipulação espermática estabiliza a célula, evitando a ocorrência do processo de capacitação e melhorando, dessa forma, a viabilidade e a sua capacidade fecundante (MAXWELL; JOHNSON, 1999; BARRIOS et al., 2000; GARTNER et al.; 2001; VADNAIS et al.; 2007).

2.2.6. Uso da glutamina na preservação de sêmen

Os aminoácidos são moléculas carregadas, sendo possível que eles interajam eletrostaticamente com os grupos fosfato dos fosfolipídios da membrana plasmática do espermatozoide, formando, assim, uma camada sobre superfície da célula, protegendo-a contra choques térmicos (EL-SHESHTAWY et al., 2008). Esse fator pode contribuir para a capacidade de manter a integridade da membrana acrossomal dos espermatozoides, durante o processo de criopreservação (FAGUNDES, 2008).

Combinações de alguns aminoácidos têm sido empregadas na criopreservação de sêmen, como a glutamina, histidina, metionina, betaína, prolina, cisteína, alanina e glicina (MERCADO et al., 2009; JUNNILA, 2000; COYAN et al., 2010; LINDEBERG et al., 1999; PEÑA et al., 1998; EL-SHESHTAWY et al., 2008). A eficácia de alguns aminoácidos na crioproteção celular é comprovada (KRUUV; GLOFCHESKI, 1992). Kundu et al. (2001) obtiveram êxito no congelamento de espermatozoides caprinos utilizando apenas aminoácidos, como crioprotetores, e relataram que os melhores resultados foram obtidos com a associação de 40 mM de alanina, 60 mM de glutamina, 20 mM de prolina ou 40 mM de glicina com glicerol e dimetilsulfóxido. Desse modo, esses autores sugeriram que essa mistura de crioprotetores pode ser benéfica para a criopreservação de sêmen de várias espécies. Khlifiaoui et al. (2005) verificaram que a adição de 50 mM de glutamina mais 2,5% de glicerol aumenta a motilidade espermática equina, em comparação com outros meios crioprotetores contendo apenas glicerol.

Mercado et al. (2009) verificam que a adição de 80 mM de glutamina e 2% de glicerol aumentou a motilidade dos espermatozoides dos suínos pós-descongelação. No entanto, o efeito crioprotetor é dependente da concentração de glicerol do extensor de congelação e é apenas evidente quando a concentração de glicerol é reduzida.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em uma granja comercial de ciclo completo, localizada no Município de Urucânia, MG, Brasil, no período de dezembro de 2013 a março de 2014 (verão), com projeto aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFV). O município está localizado a 20° 19' 03" de latitude Sul e 42° 44' 53" a Oeste de Greenwich, altitude média é de 436 m, temperatura média anual de 20,9 °C, índice pluviométrico anual de 1.203 mm e clima do tipo CWA (inverno seco e verão chuvoso) pela classificação de Köppen.

Foram utilizados 29 varrões da linhagem DanBred (DB genética suína), com idades variando de nove meses a cinco anos, totalizando 449 amostras. Os animais foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados, e em que cada indivíduo foi tomado como unidade experimental. O critério para a formação dos grupos (blocos) foi a idade dos animais, assim:

- | | | |
|------------|--------------|------------|
| • Bloco 1. | ≤ 1 ano | 2 Animais |
| • Bloco 2. | > 1 – 2 anos | 4 Animais |
| • Bloco 3. | > 2 – 3 anos | 3 Animais |
| • Bloco 4. | > 3 – 4 anos | 14 Animais |
| • Bloco 5. | ≥ 4 anos | 6 Animais |

Alojados em um único galpão para todos, em baias individuais (3,90 x 2,16 m), em galpão de alvenaria, piso de concreto, com telhado coberto por telha de barro e bebedouro automático tipo chupeta. Os varrões receberam água *ad libitum* durante todo o período experimental, e a ração foi fornecida de forma controlada, sendo 2,0 kg/dia, dividida em dois tratos, cada um de 1,0 kg, de manhã e à tarde.

A composição das rações experimentais é apresentada na Tabela 1.

A temperatura e a umidade relativa do ar foram mesuradas, utilizando-se *Datalogger* de Temperatura e Umidade modelo HT 500, o qual foi mantido na metade do galpão, à meia altura do corpo dos animais. As temperaturas máxima e mínima e a umidade foram monitoradas, diariamente, durante todo o período experimental.

O experimento foi composto por dois tratamentos, assim:

T1: Ração-padrão da granja para reprodutores (RP).

T2: Ração-padrão da granja para reprodutores com a adição de 1,0% de L-glutamina – L-ácido glutâmico (RP+Gln-Glu).

E duas fases, em que:

Fase 1: Os animais foram alimentados com RP (T1) por um período de oito semanas.

Fase 2: Os mesmos animais foram alimentados com RP+Gln-Glu (T2), durante um período de oito semanas.

Os níveis nutricionais calculados nas rações experimentais são apresentados na Tabela 2.

Tabela 1 – Composição da ração padrão (RP) da granja e ração com adição de 1% de L-glutamina – L-ácido glutâmico (RP+Gln-Glu) para varrões

| Ingredientes, kg | RP | RP+Gln-Glu |
|--|--------------|-------------------|
| Milho | 677,260 | 667,260 |
| Soja, farelo | 195,000 | 195,000 |
| Trigo, farelo | 90,000 | 90,000 |
| Fosfato bicálcico | 15,500 | 15,500 |
| Calcário 38% | 9,000 | 9,000 |
| Sal | 5,000 | 5,000 |
| Adsorvente micotoxinas ¹ | 2,000 | 2,000 |
| L-glutamina + L-ácido Glutâmico ² | | 10,000 |
| L-lisina | 0,940 | 0,940 |
| DL-metionina | 1,255 | 1,255 |
| L-treonina | 0,295 | 0,295 |
| Mistura de minerais orgânicos ³ | 1,000 | 1,000 |
| Mistura de vitaminas Reprodução ⁴ | 1,000 | 1,000 |
| Minerais para suínos ⁵ | 1,000 | 1,000 |
| Colina 60% cloreto | 0,600 | 0,600 |
| Antioxidante | 0,150 | 0,150 |
| Total kg | 1.000 | 1.000 |

Contendo: Mycosorb¹, Aminogut², Bioplex Matriz³ – Ferro – 150,0 g; zinco – 150,0 g; cromo – 1,0 g; selênio – 1,0 g; por 1.000 g; Rovimix Suínos reprodução⁴ – Vit. A, 10.000.000 UI.; Vit D₃ 2.000.000 U.I.; Vit E, 50.000 U.I.; Vit. B₁, 2,0 g; Vit B₂, 6,0 g; Vit. B₆, 3,0 g; Vit. B₁₂, 0,03 g; ácido nicotínico 30,0 g; ácido pantotênico, 10,0 g; Vit. K₃, 2,0 g; ácido fólico, 3,0 g; biotina, 0,2 g; Vit. C, 30 g; selênio, 300,0 mg; e excipiente q.s.p. 1.000 g, Roligomix Suínos⁵ – Ferro, 100,0 g; cobre, 10,0 g; cobalto, 1,0 g; manganês, 160,0 g; zinco, 100,0 g; iodo, 1,5 g; e excipiente q.s.p. 500 g.

Tabela 2 – Níveis nutricionais calculados na ração-padrão (RP) da granja e na ração com adição de 1% de L-glutamina – L-ácido glutâmico (RP+Gln-Glu) para varrões

| Nutrientes | Unidade | RP | RP+Gln-Glu |
|-------------------------|---------|----------|------------|
| Proteína bruta | g/kg | 149,400 | 155,800 |
| Extrato etéreo | g/kg | 30,300 | 30,300 |
| Fibra bruta | g/kg | 32,000 | 32,000 |
| Cálcio | g/kg | 8,000 | 8,000 |
| Fósforo total | g/kg | 6,500 | 6,500 |
| Fósforo disponível | g/kg | 4,000 | 4,000 |
| Energia metabolizável | KCAL/K | 3.105,27 | 3.105,275 |
| Energia digestível | KCAL/K | 3.281,74 | 3.281,737 |
| L-glutamina | g/kg | | 1,000 |
| L-ácido glutâmico | g/kg | | 1,000 |
| Lisina total | g/kg | 8,400 | 8,400 |
| Lisina digestível | g/kg | 7,400 | 7,400 |
| Metionina digestível | g/kg | 3,500 | 3,500 |
| Met+cisteína digestível | g/kg | 6,000 | 6,000 |
| Treonina digestível | g/kg | 5,500 | 5,500 |
| Triptofano digestível | g/kg | 1,700 | 1,700 |
| Valina digestível | g/kg | 6,700 | 6,700 |
| Colina | g/kg | 1,390 | 1,390 |
| Ácido linoleico | g/kg | 16,000 | 16,000 |
| Sódio (total) | g/kg | 2,200 | 2,200 |

As avaliações da morfologia dos testículos foram feitas por um único avaliador e levaram em consideração a medida do tamanho dos testículos. Realizaram-se as medidas de comprimento e largura dos testículos direito (CTD e LTD) e do esquerdo (CTE e LTE), tomadas *in vivo* com o auxílio de paquímetro (CBRA, 2013). Para o cálculo do volume testicular, utilizou-se a fórmula descrita por Owsianny et al. (1998):

$$V = 4/3 \pi a b^2$$

em que:

V: volume testicular (mL);

a: 1/2 comprimento testicular (cm); e

b: 1/2 largura testicular (cm).

Os ejaculados foram obtidos por uma única pessoa, conforme o mapa de coletas da granja, tendo como média uma coleta/semana/varrão, sendo o método utilizado o da mão enluvada (CBRA, 2013), em sala apropriada com o uso de manequim fixo.

O sêmen foi coletado em copo térmico plástico contendo uma sacola, protegido da variação da temperatura e da luz, coberto por camada dupla de filtro para a separação da fração gelatinosa do sêmen. Imediatamente após a coleta, as amostras foram encaminhadas ao laboratório, onde uma única pessoa foi encarregada da avaliação do volume, motilidade, vigor, aspecto, concentração, morfologia, pH, espermatozoides vivos ou mortos (teste supravital), seguindo-se as recomendações estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (2013).

Avaliações macroscópicas

- 1. Volume** – De cada ejaculado visualmente avaliado e pesado na balança de precisão, sem a fração gelatinosa, e o resultado expresso em mililitros (mL).
- 2. Aspecto** – Avaliado visualmente, levando em consideração a densidade e a concentração do sêmen, segundo a seguinte classificação:
 - Aquoso.
 - Opalescente.
 - Leitoso.
 - Cremoso.
- 3. Cor** – Avaliada, levando em consideração a seguinte classificação:
 - Branco.
 - Marfim.
 - Marrom claro.

Avaliações microscópicas

- 1. Concentração** – O ejaculado foi mensurado na câmara de *Neubauer*, sendo retirada uma amostra de sêmen com o auxílio de uma pipeta de 0,05 mL (1:100) para ser adicionado a 5 mL da solução formol salina tamponada 0,9%. Após a homogeneização, pequena gota da amostra foi depositada em

cada um dos retículos da câmara de *Neubauer*, e os espermatozoides presentes em cinco quadros dispostos em diagonal de cada retículo foram contados em microscópio óptico com aumento de 400x. A concentração total do ejaculado foi expresso em número de espermatozoides $\times 10^9$.

2. **Vivos ou mortos** – Sua porcentagem foi avaliada utilizando o método de coloração supravital Eosina-Negrosina (CBRA, 2013). Após homogeneizar uma gota de sêmen *in natura* com uma gota de corante, fez-se o esfregaço sobre a lâmina e, depois de após 30 seg de secagem, foi analisado em microscópio óptico com aumento de 1.000x, sob óleo de imersão. Foram contabilizadas 100 células espermáticas, em que as células íntegras permaneceram sem corar (vivas), e as com danos na membrana coraram-se de rosa-avermelhado (mortos).
3. **Motilidade espermática** – Foi avaliada depositando uma gota de sêmen entre a lâmina e a lamínula, pré-aquecidas a 38 °C. A amostra foi observada em microscópio óptico, com aumento de 200x e 400x (CBRA, 1998). Foram realizados dois exames por ejaculado, sendo observados mínimo cinco campos microscópicos por lâmina. Os resultados foram expressos em percentual de células espermáticas móveis.
4. **Vigor espermático** – Este foi observado em uma gota de sêmen. Para isso, colocou-se uma gota de sêmen sobre uma lâmina previamente aquecida a 38 °C e observada ao microscópio óptico, com objetiva de 200x. Utilizou-se uma classificação de 0 a 5, em que 0 é a ausência de movimento progressivo e 5 representa um movimento progressivo vigoroso.
5. **Morfologia espermática** – Utilizou-se o método de preparação úmida, utilizando 5 mL de solução formol salina tamponada a 0,9% e adição de 0,05 mL de sêmen à solução. Após a homogeneização, colocou-se uma gota da amostra entre lâmina e lamínula, a qual foi submetida à avaliação morfológica dos espermatozoides, em microscópio de contraste de fase, com aumento de 1.000x, utilizando óleo de imersão e contando um total de 200 células. As patologias foram quantificadas em defeitos de cabeça, peça intermediária e cauda e agrupadas em defeitos maiores e defeitos menores (BORTOLOZZO et al., 2005; CHENOWETH, 2005; CBRA, 2013).

6. pH – Do sêmen, foi avaliado utilizando papel indicador do pH (BORTOLOZZO; WENTZ, 2005). Após a coleta do sêmen, o papel indicador foi submergido na amostra do ejaculado, e a variação da cor foi avaliada imediatamente na escada colorimétrica, tendo em conta a escada de 1 a 14, em que 1 é muito ácido e 14 é muito alcalino.

O número de doses inseminantes (contendo 3×10^9 células espermáticas por dose), em que cada ejaculado pode ser dividido, foi calculado considerando os parâmetros de volume, concentração espermática e seguindo o seguinte modelo:

$$ND = \frac{NCT \times VTE}{NCD \times 10^9}$$

em que:

ND = número de doses;

NCT = número de células/mL $\times 10^6$;

VTE = volume total do ejaculado; e

NCD = número de células/dose.

O volume final de todas as doses foi:

$$VFD = ND \times VD$$

em que:

VFD = volume final das doses (sêmen + diluente);

ND = número de doses; e

VD = volume da dose.

O volume total de diluente necessário foi calculado assim:

$$VTD = VFD - VTE$$

As características quantitativas (volume, concentração, morfologia, motilidade, vigor, aglutinação, pH, espermatozoide vivos e mortos) foram avaliadas seguindo o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + b_1 (t_{ijkl} - t) + e_{ijkl}$$

em que:

Y_{ijkl} = observação do tratamento **i**, no bloco **j**, na coleta **k**, do animal **l**;

μ = média, constante geral;

α_i = efeito do tratamento **i**;

β_j = efeito do bloco **j**;

b_1 = coeficiente da regressão linear;

t_{ijkl} = intervalo de coleta do tratamento **i**, no bloco **j**, na coleta **k**, do animal **l**;

t = intervalo da coleta (média); e

e_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação.

As características aspecto e cor do ejaculado foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado a 5% de significância. Os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação entre médias pelo teste F, considerando-se 1% e 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* estatístico Statistical Analysis System, versão 9,0 (SAS).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias das temperaturas mínimas e máximas registradas no interior do galpão mantiveram-se durante o período experimental entre 22,2 °C (20 °C a 25 °C) e 30,2 °C (25 °C a 32 °C), respectivamente, e umidade relativa entre 45,9 e 92%, caracterizando o período de chuvas. Estienne (2000) encontrou valores de temperatura e umidade semelhantes, cujas pesquisas têm indicado que o tempo mínimo de exposição e temperatura crítica do ar para que a produção de células espermáticas seja afetada é de 72 h e 29,44 °C, respectivamente. Contudo, não houve influência na produção de células espermáticas.

As médias obtidas das medidas testiculares, valores da biometria e volume testicular estão apresentadas nas Tabelas 3 e 4.

Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os valores médios de biometria e volume testicular (direito e esquerdo) dos reprodutores alimentados com uma ração-padrão e ração padrão + 1,0% de glutamina – L-ácido glutâmico (Tabela 5).

A suplementação de 1,0% de glutamina – L-ácido glutâmico não afetou as características comprimento, largura e volume testicular dos varrões nas diferentes idades.

Tabela 3 – Valores médios da biometria e volume dos testículos de varrões com diferentes idades (anos) alimentados com ração-padrão (Média±EPM)

| Idade | Testículo direito | | | Testículo esquerdo | | |
|---------|---------------------|-----------------|----------------|---------------------|-----------------|----------------|
| | Comprimento (cm) | Largura (cm) | Volume (mL) | Comprimento (cm) | Largura (cm) | Volume (mL) |
| ≤ 1 | 15,8±0,6 | 8,9±0,01 | 661,8±5,8 | 15,8±0,3 | 9,9±0,6 | 823,5±86,2 |
| > 1 – 2 | 15,5±0,4 | 8,5±0,3 | 594,9±53 | 15,9±0,4 | 9,6±0,2 | 770,0±21 |
| > 2 – 3 | 16,2±0,3 | 10,1±0,5 | 889,6±109 | 17,0±0,4 | 10,4±0,4 | 983,5±92 |
| > 3 – 4 | 15,6±0,2 | 8,5±0,3 | 606,1±44,4 | 16,2±0,3 | 9,0±0,2 | 700,7±41 |
| ≥ 4 | 16,0±0,5 | 9,4±0,4 | 760,0±56 | 16,5±0,4 | 10,1±0,2 | 919,9±97 |

(P>0,05) pelo teste F.

Tabela 4 – Valores médios da biometria e volume dos testículos de varrões com diferentes idades (anos) alimentados com ração-padrão + 1,0% de glutamina – L-ácido glutâmico (Média±EPM)

| Idade | Testículo direito | | | Testículo esquerdo | | |
|--------|---------------------|-----------------|----------------|---------------------|-----------------|----------------|
| | Comprimento (cm) | Largura (cm) | Volume (mL) | Comprimento (cm) | Largura (cm) | Volume (mL) |
| ≤1 | 15,9±0,2 | 8,7±0,5 | 633,7±63 | 16,4±0,5 | 9,9±0,9 | 858,8±178 |
| >1 – 2 | 15,4±0,2 | 9,6±0,4 | 754,6±74 | 15,4±0,3 | 9,6±0,2 | 754,5±47 |
| >2 – 3 | 14,9±0,8 | 10,3±0,5 | 849,1±113 | 16±0,6 | 11,3±0,3 | 1077±94 |
| >3 – 4 | 15,1±0,4 | 9,14±0,3 | 676,9±49 | 15,4±0,3 | 9,2±0,2 | 700,6±33 |
| ≥4 | 17,0±0,3 | 9,1±0,3 | 752,4±63 | 17,3±0,4 | 10,2±0,5 | 946,9±103 |

(P>0,05) pelo teste F.

Tabela 5 – Comprimento, largura e volume testicular de varrões alimentados com ração-padrão (RP) ou ração-padrão + 1,0% de glutamina – L-ácido glutâmico (RP+Gln-Glu) (Média±EPM)

| Característica | RP | | RP+Gln-Glu | |
|------------------|----------------|--|------------|--|
| | Direito | | | |
| Comprimento (cm) | 15,77±0,2 | | 15,78±0,2 | |
| Largura (cm) | 8,90±0,2 | | 9,29±0,3 | |
| Volume (mL) | 668,06±32 | | 739,27±31 | |
| Esquerdo | | | | |
| Comprimento (cm) | 16,33±0,2 | | 16,12±0,2 | |
| Largura (cm) | 9,55±0,2 | | 9,39±0,2 | |
| Volume (mL) | 793,40±36 | | 777,22±39 | |

(P>0,05) pelo teste F.

O desenvolvimento testicular é um parâmetro utilizado nos Programas de Melhoramento Genético e está altamente correlacionado com o volume seminal e as características espermáticas dos reprodutores. As dimensões dos testículos e epidídimo têm grande correlação com a idade, desenvolvimento e peso corporal, em reprodutores suínos jovens, as medidas dos testículos e seu volume são correlacionados positivamente com o peso testicular (OBERLENDER et al., 2010).

Os resultados obtidos da avaliação das características do ejaculado como volume e concentração espermática são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Volume e concentração espermática do ejaculado do sêmen fresco de varrões alimentados com ração-padrão (RP) e ração-padrão + 1,0% de glutamina – L-ácido glutâmico (RP+Gln-Glu) (Média±EPM)

| Característica | RP | | RP+Gln-Glu | |
|--|-------------------------|------|-------------------------|------|
| | Média±EPM | CV | Média±EPM | CV |
| Volume (mL) | 255,32±6,5 ^b | 2,54 | 290,57±9,1 ^a | 3,13 |
| Concentração espermática (x10 ⁹) | 79,01±2,5 ^a | 3,16 | 77,53±2,7 ^a | 3,48 |

(a, b) As médias na mesma linha com letras sobrescritas diferentes diferem entre si (P<0,05), pelo teste F.

Os varrões alimentados com ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico, durante o período experimental, apresentaram, em média, 12,13% mais volume de ejaculado, em comparação com o volume do ejaculado, quando os animais foram alimentados com ração-padrão. Com o incremento do volume, é sugerido aumento do plasma seminal, que por sua vez é produzido pelas glândulas sexuais acessórias. Entre essas glândulas, têm-se as vesículas seminais responsáveis pela maior parte da produção do plasma (60%), a próstata e as glândulas bulbouretrais, que secretam água e mucos. O resultado observado pode ter ocorrido em função do aumento da capacidade das células de captar água para o meio intracelular (QUADROS, 2010), que pode ser induzida pelo uso da ração com adição de glutamina. Desse modo, é possível que as secreções produzidas pelas vesículas seminais fossem acumuladas dentro da glândula e expelidas na ejaculação, durante as contrações da musculatura lisa (GREENSPAN; GARDNER, 2006). A glutamina pode ter efeito semelhante na glândula mamária no período de lactação e nas glândulas sexuais acessórias, no momento da ejaculação, em ambos os casos, pode-se apresentar um estado catabólico leve (MANSO et al., 2012), em que a glutamina pode atuar como regulador metabólico, aumentar a síntese e reduzir o catabolismo proteico (LOBLEY et al., 2001).

O aumento do volume do plasma seminal é desejável, visto que este é rico em antioxidantes, oferecendo proteção ao espermatozoide, compensando a sua baixa disponibilidade de enzimas antioxidantes, além de proteger as células espermáticas dos danos induzidos quando elas são submetidas a processo de refrigeração de sêmen, ajudando a proteger o espermatozoide contra os danos pelos radicais livres sobre a sua motilidade, viabilidade e integridade do DNA (MAIA; BICUDO, 2009).

Em estudos realizados com espermatozoides livres de plasma seminal, Jones et al. (1979) observaram que, após sucessivas lavagens, o espermatozoide humano produz mais malonaldeído e a adição de plasma seminal ou de antioxidantes ao espermatozoide lavado suprime tanto a peroxidação lipídica quanto o declínio na motilidade espermática, indicando que a presença do plasma seminal evita a lipoperoxidação, o que demonstra a importância do volume do plasma seminal.

O resultado verificado está de acordo com o reportado por alguns autores (MARTINEZ, 1998; JANKEVICIUTE; ZILINSKAS, 2002), em que o volume total do sêmen tendeu a aumentar no dos tratamentos com o avançar da idade dos reprodutores. Entretanto, na análise da interação idade x tratamento, para o volume

do sêmen, não foi observado que o volume do sêmen fosse influenciado pela idade e tipo de ração, ou seja, independentemente da idade, o volume de sêmen aumentou ($P>0,05$) (Tabela 7).

Tabela 7 – Resumo da análise da interação idade x ração do volume do ejaculado de varrões alimentados com uma ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico

| Fonte de variação | Soma de Quadrados | Grau de liberdade | Quadrado médio | P-Valor |
|--------------------|-------------------|-------------------|----------------|---------|
| Tratamento | 48415,49 | 1 | 48415,49 | 0,0390 |
| Idade | 2098964,75 | 4 | 524741,18 | <0,0001 |
| Idade x Tratamento | 9193,31 | 1 | 2298,32 | 0,9364 |
| Tempo | 149016,19 | 1 | 149016,19 | 0,0003 |
| Erro | 4958077,64 | 443 | 11294,02 | |
| Total | | 449 | | |

Pode-se evidenciar o aumento do volume do sêmen em cada idade analisada (Figura 2), o que evidenciou que a suplementação com glutamina – L-ácido glutâmico aumenta o volume do sêmen; assim, a ação da glutamina não é igual em varrões jovens e adultos.

A mudança no volume do ejaculado, relacionada com a idade, refletiu a adição na ração-padrão com 1% de glutamina – ácido glutâmico na ração. Além da influência da alimentação, o resultado está de acordo com o reportado por autores como Martinez (1998) e Jankeviciute e Zilinskas (2002), em que o volume total do ejaculado aumenta com o avança da idade dos varrões.

Ao final do experimento, os varrões suplementados com 1% glutamina – L-ácido glutâmico produziram 11,70% mais doses inseminantes (Tabela 8, Figura 3).

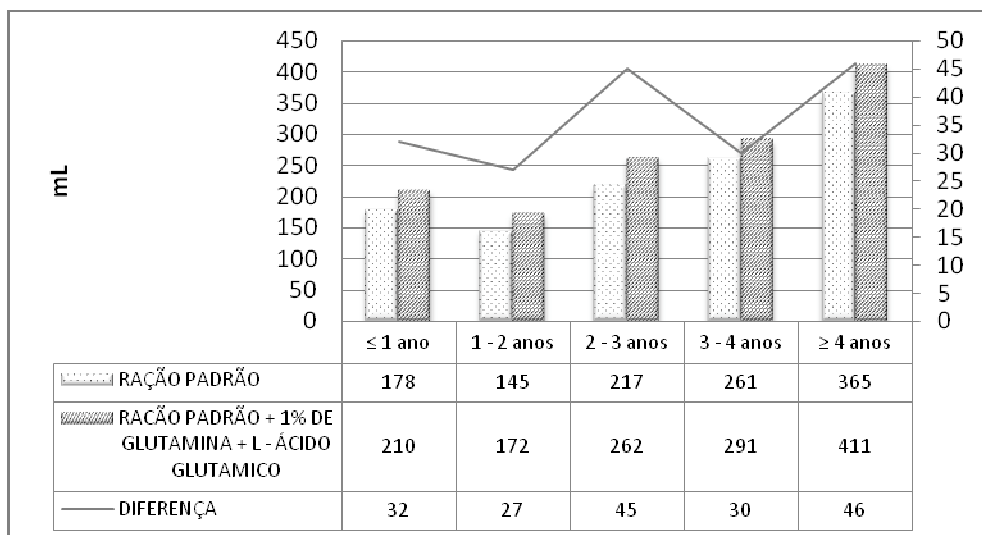


Figura 2 – Valores médios do volume do ejaculado de varrões de diferentes idades, alimentados com uma ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico.

Tabela 8 – Número de doses inseminantes produzidas por varrões alimentados com ração-padrão (RP) e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico (RP+Gln-Glu) (Média±EPM)

| Tratamento | Média do nº de doses | CV |
|-------------|------------------------|------|
| RP | 14,95±0,4 ^b | 2,67 |
| RP+Gln-Glu) | 16,70±0,5 ^a | 2,99 |

(a, b) As médias na mesma coluna com letras sobrescritas diferentes diferem entre si ($P < 0,05$), pelo teste F.

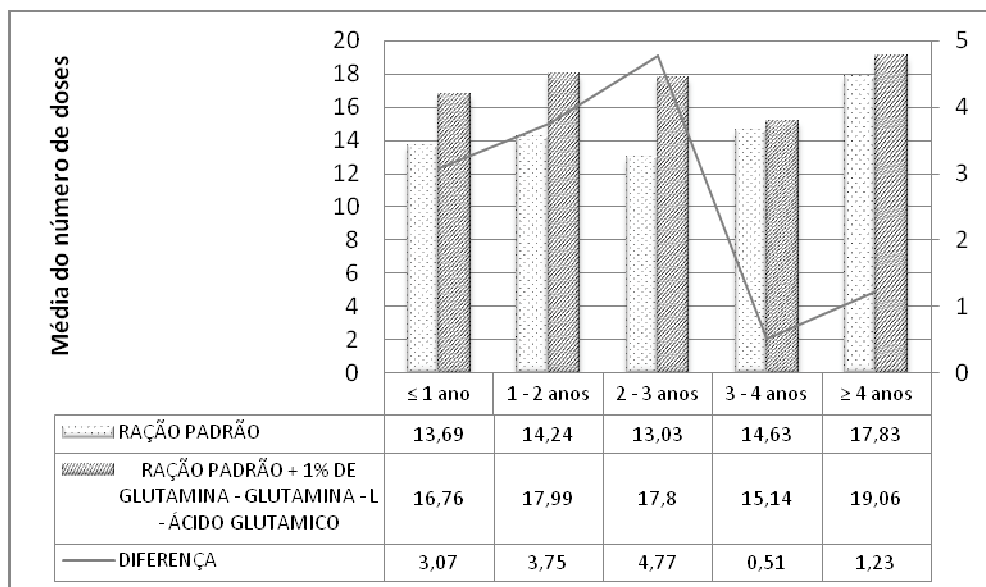


Figura 3 – Média do número de doses inseminantes produzidas por varrões de diferentes idades alimentados com ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico.

Durante o experimento, uma dose inseminante constituiu-se de diluente e sêmen de 100 mL contendo 3×10^9 milhões de espermatozoides. O aumento na quantidade de volume do ejaculado reflete uma diminuição do diluente no preparo das doses. Assim, quando os animais foram alimentados com a ração-padrão, necessitou-se, em média, 17,07 mL de sêmen para a preparação de cada dose inseminante. Já quando foram alimentados com ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico, foram necessários 17,4 mL de sêmen para a preparação de cada dose.

Conseqüentemente, o volume médio de diluidor necessário para produzir uma dose inseminante de 100 mL, de cada tratamento, foi de 82,90 mL e 82,60 mL, nos animais alimentados com a ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico, respectivamente.

A concentração de células espermáticas total não apresentou diferença ($P > 0,05$) quando comparada com os animais nas diferentes faixas etárias que receberam a ração-padrão e a ração-padrão + 1% de glutamina – l-ácido glutâmica (Figura 4).

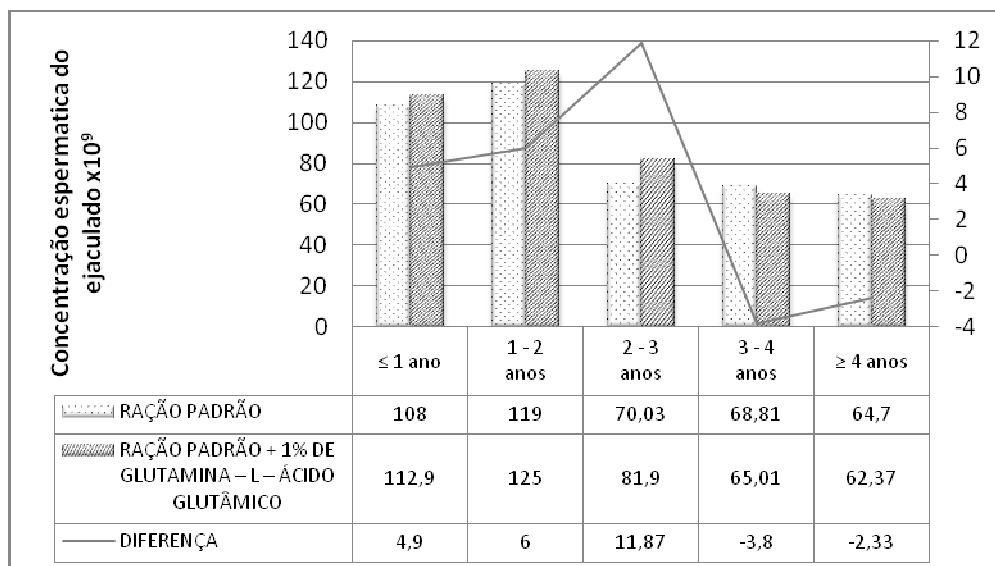


Figura 4 – Concentração de células espermáticas do sêmen de varrões de diferentes idades, alimentados com ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico.

A concentração espermática total do ejaculado foi, contudo, 10% maior, em valor absoluto, nos animais que receberam alimentação com ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico. Tal fato pode ter ocorrido em função do aumento de espermatozoides produzidos, visto que a glutamina atua como substrato energético para as células de intensa multiplicação, fornecendo ATP para o *turnover* da proteína intracelular, transporte de nutrientes através da membrana plasmática, crescimento e migração celular, assim como para manutenção da integridade da célula (WU et al., 2007).

A glutamina também é precursora de poliaminas (putrescina, espermina e espermidina), que participam da proliferação celular (WU, 1998), sendo o maior grupo ativo de poliaminas no plasma seminal, a espermina e a espermidina. Acredita-se que o nível de espermina no plasma seminal apresenta alguma relação com a concentração e motilidade espermática (SOUZA et al., 1999). Desse modo, é possível que a concentração e motilidade tenham sido influenciadas pela adição de glutamina – ácido glutâmico na ração dos animais.

A motilidade espermática apresentou diferença ($P < 0,05$) ao comparar os animais que receberam a ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico (Tabela 9). Os varrões, durante o período em que foram alimentados com a

ração-padrão, apresentaram, em média, incremento de 2,47% na porcentagem de motilidade espermática, no período alimentado com a ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico. De acordo com CBRA (2013), o sêmen deve apresentar motilidade $\geq 70\%$ para ser utilizado em programas de IA. A proposição está de acordo com os relatos de Maia e Bicudo (2009), em que, com o incremento da motilidade, sugere-se aumento da proteção do espermatozoide ao dano pelos radicais livres sobre a sua motilidade, viabilidade, produção de energia e integridade do DNA, o que pode estar associado ao efeito antioxidante da glutamina-ácido glutâmico.

Ao avaliar as características seminais como vigor, tipo de movimento, aglutinação e pH do sêmen *in natura* não foi observado diferença ($P > 0,05$), ao comparar o grupo de animais alimentados com a ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico (Tabela 9). O que coincide com resultados de estudos feitos com a adição de outros aminoácidos na ração. Prado (2002), ao comparar os efeitos de inclusão de lisina e energia digestível em rações para suínos machos, não observou diferença ($P > 0,05$). Louis et al. (1994), trabalhando com níveis de proteína e combinações entre níveis de proteína e energia em rações, não observaram efeito no tipo de movimento, vigor e pH. Al-Hakim et al. (1970), estudando os fatores que afetam o conteúdo de aminoácidos no plasma seminal bovino e sua relação com a fertilidade, motilidade e vigor, não encontraram diferenças significativas.

Tabela 9 – Motilidade, vigor, tipo de movimento, aglutinação e pH do sêmen fresco de varrões alimentados com uma ração-padrão (RP) e ração-padrão + 1,0% de glutamina – L-ácido glutâmico (RP+Gln-Glu) (Média±EPM)

| Característica | RP | CV | RP+Gln-Glu | CV |
|----------------------------|------------------------|-----------|-------------------------|-----------|
| Motilidade espermática (%) | 87,72±0,2 ^b | 0,23 | 89,89±0,01 ^a | 0,01 |
| Vigor (0-5) | 3,99±0,01 ^a | 0,25 | 3,99±0,01 ^a | 0,21 |
| Tipo de movimento (0-5) | 4,00±0,01 ^a | 0,25 | 4,00±0,01 ^a | 0,25 |
| Aglutinações (1-3) | 0,92±0,1 ^a | 10,90 | 0,77±0,1 ^a | 12,99 |
| pH | 6,98±0,01 ^a | 0,14 | 6,94±0,01 ^a | 0,14 |

(a, b) As médias na mesma linha com letras sobrescritas diferentes diferem entre si ($P < 0,05$), pelo teste F.

Bucak et al. (2009), ao avaliarem o efeito da glutamina como antioxidante sobre a motilidade e viabilidade do espermatozoide caprino pós-descongelamento, não observaram diferença na porcentagem de acrossomos danificados e espermatozoides anormais após a adição de antioxidantes (glutamina e ácido hialurônico). No entanto, Maia e Bicudo (2009) observaram que a adição de glutamina no diluidor promoveu aumento na motilidade espermática e na integridade da membrana plasmática.

Apesar de não ter sido verificada diferença entre os valores de aglutinação, verificou-se que os animais que receberam as rações suplementadas com a glutamina apresentaram 16,30% menos células aglutinadas, o que tem relação com o aumento do volume do ejaculado. De acordo com Bortolozzo et al. (2008), a aglutinação espermática, quando muito intensa, causa dificuldade e erros na avaliação da concentração, independentemente do método utilizado, sendo motivo de descarte do ejaculado. Os resultados obtidos com o fornecimento da ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico se mostraram importantes, visto que é desejável o menor grau de aglutinação para que haja maior quantidade de espermatozoides móveis e viáveis, melhorando, assim, possivelmente os resultados de fertilidade.

Em relação à morfologia espermática, a ração-padrão e a ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico não influenciaram os percentuais de defeitos maiores e menores (Tabela 10). Stevermer et al. (1961) e Murgas et al. (1999) não observaram diferenças quanto à motilidade, concentração e porcentagem de células morfológicamente anormais, concluindo que variações na nutrição não provocam efeitos na espermatogênese.

Tabela 10 – Características das células espermáticas de sêmen fresco de varrões alimentados com ração-padrão (RP) e ração-padrão + 1,0% de glutamina – L-ácido glutâmico (RP+Gln-Glu) (Média±EPM)

| Característica | RP | RP+Gln-Glu |
|---------------------------|-----------|-------------------|
| Células normais (%) | 90,1±0,4 | 88,59±0,6 |
| Defeitos maiores (%) | 5,49±0,3 | 5,9±0,4 |
| Defeitos menores (%) | 4,32±0,3 | 5,17±0,4 |
| Espermatozoides vivos (%) | 92,43±1,8 | 93,23±2,5 |

(P>0,05) entre si, pelo teste F.

Na Tabela 11 estão descritos os resultados da análise da cor do sêmen pelo teste Qui-quadrado. Verifica-se, nessa tabela, que a maior porcentagem dos ejaculados (96,56% e 96,60%) apresentaram cor marfim. Tal fato está de acordo com o descrito por Bortolozzo et al. (2005), em que a cor normal do ejaculado suíno pode variar do branco ao marfim, dependendo das características individuais dos varrões. Isso é compatível em animais maduros sexualmente e adultos da espécie em questão.

Tabela 11 – Influência da coloração do sêmen *in natura* de varrões alimentados com ração-padrão (RP) e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico (RP+Gln-Glu)

| | Branco (%) | Marfim (%) | Marrom Claro (%) |
|------------|-------------------|-------------------|-------------------------|
| RP | 3,44 | 96,56 | 0 |
| RP+Gln-Glu | 2,92 | 96,60 | 0,49 |

Teste Qui-quadrado com 5% de probabilidade de erro.

O aspecto do sêmen dos animais avaliados não apresentou diferença ($P>0,05$) entre os tratamentos. Observou-se a predominância do aspecto leitoso dos ejaculados (Tabela 12).

Tabela 12 – Efeito da alimentação sobre o aspecto do sêmen *in natura* de varrões que receberam ração-padrão (RP) e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico (RP+Gln-Glu)

| Tratamento | Aquoso (%) | Opalescente (%) | Leitoso (%) | Creoso (%) |
|-------------------|-------------------|------------------------|--------------------|-------------------|
| RP | 5,84 | 19,24 | 73,54 | 1,37 |
| RP+Gln-Glu | 2,92 | 34,46 | 62,14 | 0,49 |

Teste Qui-quadrado com 5% de probabilidade de erro.

As médias do intervalo em dias entre coletas do ejaculado, seguindo o mapa de coletas da granja, estão apresentadas na Figura 5.

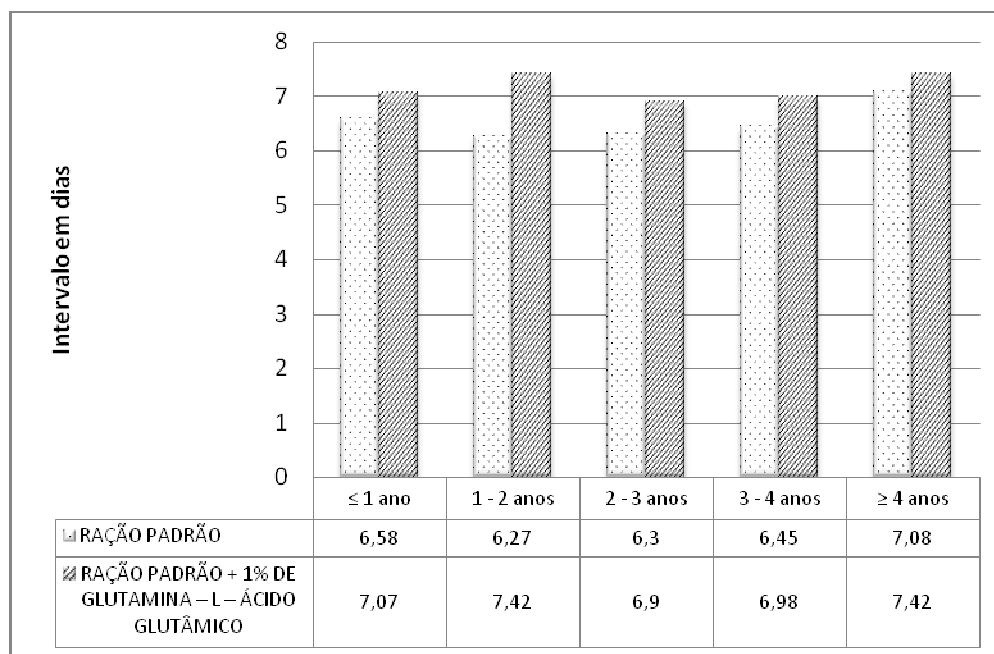


Figura 5 – Intervalo, em dias, entre coletas de ejaculados em varrões de diferentes idades alimentados com ração-padrão (RP) e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico.

Os resultados não foram influenciados pelos dias do mapa de coletas da granja. Segundo Silveira e Scheid (2003), machos adultos podem ser submetidos a duas coletas semanais ou a duas a três coletas a cada 15 dias, sem que haja comprometimento de sua capacidade de produção espermática, enquanto machos jovens podem ser submetidos a coletas uma vez por semana, sem que ocorra alteração no número de espermatozoides.

5. CONCLUSÃO

A adição de 1% de glutamina – Ácido glutâmico na ração de varrões aumentou o volume do ejaculado e a motilidade das células espermáticas do sêmen *in natura*.

6. REFERÊNCIAS

AKCAY, E.; REILAS, T.; ANDERSON, M. Effect of seminal plasma fractions on stallion sperm survival after cooled storage. **J. Vet. Med.**, v. 53, p. 481-485, 2006.

AL-HAKIM, M. K.; GRAHAM, E. F.; SCHMEHL, M. L. Free amino acids and amino compounds in bovine seminal plasma. **Journal of Dairy Science**, v. 53, p. 84-88, 1970.

ALKMIN, D. V. **Efeito da fração do ejaculado e do método de conservação sobre as características físicas do sêmen suíno e a fertilidade de fêmeas**. 2010. Tese (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

AMANN, R. P. Sperm production rates. In: JOHNSON, A. D.; GOMES, W. R.; VANDEMARK, N. L. **The testis**. New York: Academic Press, 1970. p. 433-482.

ANDERSON, P. M.; BRODERIUS, M. A.; FONK, K. C.; TSUI, K. N. T.; CHEW, S. T.; IP, Y. K. Glutamine synthetase expression in liver, muscle, stomach, and intestine of *Bostrichthys sinensis* in response to exposure to a high exogenous ammonia concentration. **Journal of Experimental Biology**, v. 205, p. 2053-2065, 2002.

ALLRICH, R. D.; CHRISTENSON, R. K.; FORD, J. J.; ZIMMERMAND, D. R. Puberal development of the boar: age-related changes in testicular morphology and *in vitro* production of testosterone and oestradiol-17 β . **Biology of Reproduction**, v. 28, p. 902-909, 1983.

AUDET, I.; LAFOREST, J. P.; MARTINEAU, G.; MATTE, J. J. Effect of vitamin supplements on some aspects of performance, vitamin status and semen quality in boars. **J. Anim. Sci.**, v. 82, p. 626-633, 2004.

AUDET, I.; BERUBÉ, N.; BAILEY, J. L.; LAFOREST, J. P.; QUESNEL, H.; MATTE, J. J. Effects of dietary vitamin supplementation and semen collection frequency on hormonal profile during ejaculation in the boar. **Theriogenology**, v. 71, p. 334-41, 2009.

AX, R. L.; DALLY, M.; DIDION, B. A.; LENZ, R. W.; LOVE, C. C.; VARNER, D. D.; HAFEZ, B.; BELLIN, M. E. Semen evaluation. In: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reproduction in farm animals**. 7. ed. [S.l. : s.n.], 2004. p. 365.

BARRIOS, B.; PÉREZ-PÉ, R.; GALLEGO, M. Seminal plasma proteins revert the cold-shock damage on ram sperm membrane. **Biology Reproduction**, v. 63, p. 1531-1537, 2000.

BERTECHINI, A. G. Metabolismo de proteínas. In: **Nutrição de monogástricos**. 1. ed. Lavras, MG: UFLA, 2006. p. 101-127.

BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I.; BENNEMANN, P. E.; BERNARDI, M. L.; WOLLMANN, E. B.; FERREIRA, F. M.; NETO, G. B. **Inseminação artificial na suinocultura tecnificada**. Porto Alegre, RS: Suinocultura em Ação, 2005.

BORTOLOZZO, F. P.; BERNARDI, M. L.; BENNEMANN, P. E.; WENTZ, I. Inseminação artificial em suínos. In: GONÇALVES, P. B.; FIGUEIREDO, J. R.; FIGUEIREDO, FREITAS, V. J. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. Campinas, SP: Varela, 2008. p. 125-144.

BUCAK, M. N.; SARIOZKAN, S.; TUNCER, P. B.; ULUTAS, P. A.; AKAÇADAG, H. I. Effect of antioxidants on microscopic semen parameters, lipid peroxidation and antioxidant activities in Angora goat semen following cryopreservation. **Small Rumin Res.**, v. 81, p. 90-95, 2009.

BURRIN, D. G.; STOLL, B.; JIANG, R.; CHANG, X.; HARTMANN, B.; HOLTS, J. J.; GREELEY, G. H.; REEDS, P. J. Minimal enteral nutrient requirements for intestinal growth in neonatal pigs: how much is enough? **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 71, p. 1603-1610, 2000.

CARDOZO, J. A.; FERNÁNDEZ-JUAN, M.; FORCADA, F. et al. Monthly variations in ovine seminal plasma proteins analysed by two dimensional polyacrilamide gel electrophoresis. **Theriogenology**, v. 66, p. 841-850, 2006.

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

CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3. ed. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2013.

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

CLOSE, W. H.; ROBERTS, F. G. **Recent developments in PIG nutrition 2**. COLE, D. J. A.; HARESINH, W.; GARNSWORTHY, P. C. Nottingham, U. K.: Nottingham University Press, p. 347-68, 1993.

CLOSE, W. H.; COLE, D. J. A. **Nutrition of sows and boars**. Nottingham, U. K.: Ed. Nottingham University Press, p. 257-291, 2001

CLOSE, W. H. Trace mineral nutrition in pigs revisited: meeting production and environmental objectives. **Rec. Adv. Anim. Nutr**, n. 14, p. 133-42, 2003.

CLOSE, W. H. The role of the boar in maximising reproduction: effects of nutrition and management. In: TAYLOR-PICKARD, J. A.; NOLLET, L. Nutritional approaches to arresting the decline in fertility of pigs and poultry. **Proceedings from Alltech's technical seminar series**. The-Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2006. p. 93-112.

CORRÊA, M. N.; VIVIAN, J. C.; XAVIER, E. G.; ROLL, V. F. B.; CORRÊA, E. K.; DESCHAMPS, J. C. Manejo reprodutivo de machos suínos. Disponível em: <http://www.ufpel.tche.br/pigpel/publicacoes/1999/1999_12.pdf>. Acesso em: 5 abr. 2014.

DARMAUND, D.; HUMBERT, B. Does the fate of enterally administered glutamine depend on its molecular form? Bound versus free amino acid. **Nutrition**, v. 16, n. 11-12, p. 1101-1102, 2000.

DOTT, H. M.; HARRISON, R. A.; FOSTER, G. C. The maintenance of motility and surface properties of epididymal spermatozoa from bull, rabbit and ram in homologous seminal and spididymal plasma. **Journal Reproduction and Fertility**, v. 55, p. 113-124, 1979.

ESTEINE, M. J.; HARPER, A. F.; TIDEWATER, A. R. E. C.; KNIGHT, J. K. Enhanced fertility in boars fed diets supplemented with Sel-Plex® selenium. **Technical Articles-PigIndustry**, 2009.

ESTIENNE, M. J. Maximizing boar productivity with optimum trace mineral supplementation. **Symposium "Redefining Trace Mineral Nutrition"**: Supplementation strategies for modern diets and genetics. [S.l. : s. n. t.], 2005.

FAGUNDES, B.; STRAGGIOTTI, J. F. S.; SHIMOYA, A.; NUDES, I. C. C.; VALENTE, G. S.; FRAGA, M. V. T. Adicao de alanina, glicina e glutamine ao meio crioprotetor seminal de garanhões Mangalarga Marchador. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 2, p. 279-284, 2010.

FAWCETT, D. W.; NEAVES, W. B.; FLORES, M. N. Comparative observations on intertubular lymphatic and organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. **Biol. Reprod.**, v. 9, p. 500-532, 1973.

FRANÇA, L. R.; GODINHO, C. C. Testis morphometry seminiferous epithelium cycle length and daily sperm production in domestic cats. **Biol. Reprod.**, v. 68, p. 1554-1561, 2003.

FRANÇA, L. R.; RUSSELL, L. D. The testis of domestic animals. In: REGADERA, J.; MARTINEZ-GARCIA. Male reproduction. **A multidisciplinary overview**. Churchill Livingstone: Madrid, 1998. p. 197-219.

FERREIRA, F. M. Comportamento sexual e características espermáticas em suínos jovens. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1995. p. 26-34.

FLESCHE, F. M.; GADELLA, B. M. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1469, p. 197-235, 2000.

FOXCROFT, G. R.; DYCK, M. K.; RUIZ-SANCHEZ, A. et al. Identifying useable semen. **Theriogenology**, v. 70, p. 1324-1336, 2008.

FREI, B.; STOCKER, R.; ENGLAND, L. Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 264, p. 155-163, 1990.

FREITAS, J. J. S. Glutamina e o sistema nervoso. In: CURI, R. Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte. **Sprint**, Rio de Janeiro, 2000. p. 131-148.

FU, W. J.; HAYNES, T. E.; KOHLI, R.; HU, J. B.; SHI, W.; SPENCER, T. E.; CARROLL, R. J.; MEININGER, C. J.; WU, G. Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. **Journal of Nutrition**, v. 135, p. 714-721, 2005.

GARNER, D. L.; THOMAS, C. A.; GRAVANCE, C. G. Seminal plasma addition attenuates the dilution effects on bovine sperm. **Theriogenology**, v. 56, p. 31-40, 2001.

GREENSPAN, F. S.; GARDNER, D. G. **Endocrinologia básica e clínica**. 7. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006.

GATTI, J. L.; CASTELLA, S.; DACHEUX, F. et al. Post-testicular sperm environment and fertility. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 82, p. 321-339, 2004.

GONZÁLEZ, V. C. **Efeito da suplementação intramuscular de vitaminas e minerais sobre a criopreservação do sêmen de cachacos**. 2010. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2010.

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

HALLAP, T.; NAGY, S.; JAAKMA, U.; JOHANNISSON, A.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Mitochondrial activity of frozen-thawed spermatozoa assessed by MitoTracker Deep Red 633. **Theriogenology**, v. 63, p. 2311-2322, 2005.

HAUSSINGER, D.; LANG, F.; GEROK, W. Regulation of cell function by cellular hydration state. **Am. J. Physiol.**, v. 267, p. E343-E355, 1994.

INABA, K. Molecular Architecture of the Sperm Flagella: Molecules for Motility and Signaling. **Zoolog. Sci.**, v.20, p.1043-1056, 2003.

JANKEVICIUTE, N.; ZILINSKAS, H. Influence of some factors on semen quality of different breeds of boars. **Veter. Zootech**, v. 19, p.15-19, 2002.

JOHNSON, L. A.; WEITZE, K. F.; FISER, P. et al. Storage of boar semen. **Anim. Reprod Sci.**, v. 62, p. 143-172, 2000.

JONES, R.; MANN, T.; SHERINS, R. Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa, spermicidal properties of fatty acid peroxides, and protective action of seminal plasma. **Fertil Steril**, v. 31, p. 531-537, 1979.

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

KHAN, J.; LIBOSHI, Y.; CUI, L.; MASA, M.; SANDO, K.; TAKAGI, Y.; OKADA, A. Alanyl-glutamine-supplemented parenteral nutrition increase luminal mucus gel and decreases permeability in the rat small intestine. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, silver Spring, v. 23, n. 1, p. 24-31, 1999.

KIERSZENBAUM, A. L. Transition nuclear proteins during spermiogenesis: unrepaired DNA breaks not allowed. **Mol. Reprod. Dev.**, v. 4, p. 357-358, 2001.

KITT, S. J.; MILLER, P. S.; LEWIS, A. J.; FISCHER, R. L. Effects of diet and crystalline glutamine supplementation of growth performance and small intestine morphology of weanling pigs. **J. Animal Science**, v. 79, 2001. Suppl 1.

KOVACS, A.; FOOTE, R. H. Viability and acrosome staining of bull, boar and rabbit spermatozoa. **Biotechnic and Histochemistry**, London, v. 67, n. 3, p. 119-24, 1992.

KROEMER, G.; ZAMZAMI, N.; SUSIN, S. A. Mitochondrial control of apoptosis. **Immunol. Today**, v. 18, p. 44-51, 1997.

KRUUV, J.; GLOFCHESKI, D. J. Protective effects of amino acids against freeze-thaw damage in mammalian cells. **Cryobiology**, v. 29, p. 291-295, 1992.

KUNDU, C. N.; DAS, K.; MAJUMDER, G. C. Effect of amino acid on goat cauda epididymal sperm cryopreservation using a chemically defined model system. **Cryobiology**, v. 42, p. 21-27, 2001.

LACKEYRAM, D. Y.; YUE, X.; FAN, M. Z. Effects of dietary supplementation of crystalline L-glutamine on the gastrointestinal tract and whole body growth in early-weaned piglets fed corn and soybean meal-based diets. **J. Animal Science**, v. 79, 2001. Suppl. 1.

LI, P.; YIN, Y. L.; LI, D. F.; KIM, S. W.; WU, G. Amino acids and immune function. **The British Journal of Nutrition**, v. 98, p. 237-252, 2007.

LITTLE, T. V.; HOLYOAK, G. R. Reproductive anatomy and physiology of the stallion. **Veterinary Clinical N Animal-Equine Practice**, v. 8, p. 1-30, 1992.

LOBLEY, G. E.; HOSKIN, S. O.; MCNEIL, C. J. Glutamine in animal science and production. **J. Nutr.**, v. 131, p. 255S-2531S, 2001.

MAIA, M. S.; BICUDO, S. D. Radicais livres, antioxidantes e função espermática em mamíferos: uma revisão. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 33, n. 4, p. 183-193, 2009.

MARTINEZ, R. G. Principales factores que afectan la reproducción en el cerdo. **Ciencia Veterinária**, p.187-222, 1998.

MAXWELL, W. M. C.; EVANS, G.; MORTIMER, S. T.; GILLAN, L.; GELLATLY, E. S.; McPHIE, C. A. Normal fertility in ewes after cervical insemination with froze-thawed spermatozoa supplemented with seminal plasma. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 11, p. 123-126, 1999.

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

MILLER, D.; BRINKWORTH, M.; ILES, D. Paternal DNA packaging in spermatozoa: more than the sum of its parts? DNA, histones, protamines and epigenetics. **Reproduction**, v. 139, p. 287-301, 2010.

MOORE, A. I.; SQUIRES, E. L.; GRAHAM, J. K. Effect of seminal plasma on the cryopreservation of equine spermatozoa. **Theriogenology**, v. 63, p. 2372-2381, 2005.

MORAN, JR. E. T.; STILLBOM, H. L. Responses of broilers to glutamic acid when given reduced CP feeds high and low potassium. **Poultry Science**, v. 73 74, 1994. Suppl. 1.

MORRIS, JR., S. M. Arginine: beyond protein. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, p. 508S-512S, 2006.

MORTIMER, S. T. A critical review of the physiological importante and analysis of sperm movement in mammals. **Hum. Reprod. Update**, v. 3, n. 5, p. 403-439, 1997.

MRUK, D. D.; CHENG, Y. Sertoli-sertoli and sertoli-germ. Cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. **Endocr. Rev.**, v. 25, n. 5, p. 747-806, 2004.

MURGAS, L. D. S. **Desempenho reprodutivo de varrões híbridos alimentados com rações suplementadas com óleo de soja como fonte de ácidos graxos**. 199. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 1999.

NEILL, J. D.; PLANT, T. M.; PFAFF, D. W.; CHALLIS, J. R. G.; KRETZER, D. M.; RICHARDS, J. S.; WASSARMAN, P. M. **Knobil and Neill's physiology of reproduction**. 3. ed. Elsevier, 2006.

NEWSHOLME, P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? **J. Nutr.**, v. 131, p. 2515S-2522S, 2001.

NRC – Nutrient requirements of swine (10th revised ed.) **National Academy Press**. Washington, DC, 2012.

OBERLENDER, G.; MURGAS, L. D.; LIMA, D.; GAGGINI, T.; ZANGERONIMO, M. G. Alterações endócrinas em reprodutores suínos de alto desempenho. – Relato de caso. **Ciê. Anim. Bras.**, v. 11, n. 1, p. 245-250, 2010.

OLAR, T. T.; AMANN, R. P.; PICKETT, B. W. Relationship among testicular size, daily production and output of spermatozoa and extragonadal spermatozoa reserves of the dog. **Biol. Reprod.**, v. 29, p. 1114-1120, 1983.

O' DWYER, S. T.; SCOTT, T.; SMITH, R. J. 5-fluorouracil toxicity on small intestine mucosa but not white blood cells is decreased by glutamine. **Clin. Res.**, v. 387a, p. 10-16, 1987.

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**, v. 19, n. 2, p. 57-60, 1998.

PÉREZ-PÉ, R.; BARRIOS, B.; MUIÑO-BLANCO, T. et al. Seasonal differences in ram seasonal plasma revealed by partition in an aqueous two-phase system. **J. Chromat. B.**, v. 760, p. 113-121, 2001.

PIERZYNOWSKI, S. G.; PIRDRA, V. J. L.; HOMMEL-HANSEN, T.; STUDZINSKI, T. Glutamine in gut metabolism. In: PIVA, A.; KNUDSEN, K. E. B.; LINDBERG, J. E. **Gut Environment of Pigs**. Nottingham: University Press, 2001. p. 43-62.

PINART, E.; CAMPS, R.; BRIZ, M. et al. Unilateral spontaneous abdominal cryptorchidism: structural and ultrastructural study of sperm morphology. **Animal Reproduction Science**, v. 49, p. 247-268, 1998.

PINART, E.; SANCHO, S.; BRIZ, M. et al. Characterization of the semen quality of postpuberal boars with spontaneous unilateral abdominal cryptorchidism on the right side. **An. Reprod. Sci.**, v. 55, p. 269-278, 1999.

QUADROS, M. **Efeito da suplementação de glutamina na ração de tilápia do Nilo sobre o desempenho e resistência à infecção bacteriana**. 2010. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2010.

REEDS, P. J.; BURRIN, D. G. Glutamine and the bowel. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 2505-2508, 2001.

RHOADS, J. M.; NIU, X. M.; ODLE, J.; GRAVES, L. M. Role of mTOR signaling in intestinal cell migration. **American Journal of Physiology**, v. 291, p. 510-517, 2006.

ROZEBOOM, K. J.; TROEDSSON, M. H. T.; MOLITOR, T. W. et al. The effect of spermatozoa and seminal plasma on leukocyte migration into the uterus of gilts. **J. Anim. Sci.**, v. 77, p. 2201-2206, 1999.

ROZEBOOM, K. J. Evaluating of boar semen quality. **Animal Science Facts**, ANS00 – 812S, p. 1-7, 1/06/2000. Disponível em <http://www.ncsu.edu/project/swine_extension/publications>. Acesso em: 2 fev. 2014.

RUSSELL, L. D.; REN, H. P.; SINHA-HIKIN, I.; SCHULZE, W.; SINHA-HIKIN, A. P. A comparative study in twelve mammalian species of volume densities, volumes and numerical densities of selected testis components, emphasizing those related to the Sertoli cell. **Am. J Anat.**, v. 188, p. 21-30.

SAKAMOTO, M. I. **Desempenho, desenvolvimento e atividade enzimática da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com glutamina e nucleotídeos**. 2009. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2009.

SETCHELL, B. P. Male reproductive organs and semen. In: CUPPS, P. T (Ed.). **Reproduction in domestic animals**. California: Academic Press Inc., San Diego, 1991.

SILVA, L. C. **L-glutamina e L-glutamato em dietas para tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2008. 50 f. Tese (Doutorando em Zootecnia – Produção Animal/UEM) – Universidade Estadual de Maringá/UEM, Maringá, PR, 2008.

SILVEIRA, R. S.; SCHEID, I. **Qualidade de sêmen no processo de inseminação artificial**. 2003. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_artigos/artigos_v5s83u1k.html>. Acesso em: 19 fev. 2014

SMITAL, J. Effects influencing boar semen. **Animal Reproduction Science**, v. 110, p. 335-346, 2009.

SMITH, R. J.; WILMORE, D. W. Glutamine nutrition and requirements. **J. Parent. Enter. Nutr.**, v. 14, p. 94S -99S, 1990.

SMITH, R. J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. **J. Parent. Enter. Nutr.**, v. 14, p. 40S-44S, 1990.

SOUBA, W. W.; HERSKOWITZ, K.; SALLOUM, R. M.; CHEN, M. K.; AUSTGEN, T. R. Gut glutamine metabolism. **J. Parent. Enter. Nutr.**, v. 14 (4 suppl.), p. 45S-50S, 1990.

STRZEZEK, J.; HOPFER, E.; ZABORNIAK, A. Zinc-ion dependent protein in boar semen. II Effects on sperm motility and antibacterial properties. **Animal of Reproduction Science**, v. 13, p. 133-142, 1987.

TAUDOU, G.; WIART, J.; PIAIJEL, J. Influence of amino acid deficiency and tRNA aminoacylation on DNA synthesis and DNA polymerase activity during secondary immune response in vitro. **Mol. Immunol.**, v. 20, p. 255, 1983.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA) – DIETARY GUIDELINES ADVISORY COMMITTEES (DGAC), 2010. **Report of the DGAC on the Dietary Guidelines for Americans**. 2010. Part D, Section 4: Protein. Disponível em: <<http://www.cnpp.usda.gov/DGAs2010-DGACReport.htm>>. Acesso em: 1º maio 2014.

VOGLMAYR, J. K.; AMANN, R. P. Glucose metabolism and lipid synthesis of cauda epididymal and ejaculated bull spermatozoa in the presence of selected androgens. **Acta Endocrinol.**, v. 73, p. 196, 1973.

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

WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. **Journal of Nutrition**, v. 128, p.1249-1252, 1998.

WU, G.; MEIR, S. B., KNABE, D. A. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. **Journal of Nutrition**, v. 126, p. 2578-2584, 1996.

WU, G.; KNABE, D. A.; YAN, W.; FLYNN, N. E. Glutamine and glucose metabolism in enterocytes of the neonatal pig. **American Journal Physiology**, v. 37, p. 334-342, 1995.

WU, G.; BAZER, F. W.; DAVIS, T. A.; JAEGER, L. A.; JOHNSON, G. A.; KIM, S. W.; KNABE, D. A.; MEININGER, C. J.; SPENCER, T. E.; YIN, Y. L. Important roles of the arginine Family amino acids in swine nutrition and production. **Livestock Science**, v. 112, p. 8-22, 2007.

YAN, L.; QIU-ZHOU, X. Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture**, v. 256, p. 389-394, 2006.

YESTE, M.; BRIZ, M.; PINART, E. et al. Boar spermatozoa and prostaglandin F2 α : Quality of boar sperm after the addition of prostaglandin F2 α to the short-term extender over cooling time. **Animal Reproduction Science**, v.108, p. 180-195, 2008.

ZAVARIZE, K. C.; MENTEN, J. F. M.; TRALDI, A. B.; SANTAROSA, J.; DA SILVA, C. L. S. Utilização de glutamina na nutrição de mo nosogástricos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 109, p. 573-576, p. 5-10, 2010.

ZINI, A.; DE LAMIRANDE, E.; GAGNON, C. Reactive oxygen species in semen of infertile patients: level of superoxide dismutase and catalase-like activities in seminal plasma and spermatozoa. **International Journal Andrology**, v. 16, p. 183-188, 1993.

APÉNDICE

APÊNDICE A

Tabela 1A – Resumo da análise de variância do volume de sêmen de varrões alimentados com uma ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico

| FV | SQ | GL | QM | P Valor |
|------------|-------------|-----------|------------|----------------|
| Tratamento | 80591,920 | 1 | 80591,920 | 0,0076 |
| Bloco | 2101888,221 | 4 | 525472,055 | <0,0001 |
| Tempo | 146471,42 | 1 | 146471,42 | 0,0003 |
| Erro | 4967270,958 | 443 | 11212,801 | |
| Total | | 449 | | |

Tabela 2A – Resumo da análise de variância da concentração de células espermáticas no sêmen de varrões alimentados com uma ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico

| FV | SQ | GL | QM | P Valor |
|------------|-------------|-----------|------------|----------------|
| Tratamento | 340,7794 | 1 | 340,7794 | 0,5991 |
| Bloco | 205441,7158 | 4 | 51360,4290 | <0,0001 |
| Tempo | 7242,2805 | 1 | 7242,2804 | 0,0157 |
| Erro | 545494,6981 | 443 | 1231,3650 | |
| Total | | 449 | | |

Tabela 3A – Resumo da análise de variância da motilidade das células espermáticas do sêmen de varrões alimentados com uma ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico

| FV | SQ | GL | QM | P Valor |
|------------|-----------|-----------|-----------|----------------|
| Tratamento | 527,9079 | 1 | 527,9079 | <0,0001 |
| Bloco | 33,1542 | 4 | 8,2885 | 0,0827 |
| Tempo | 6,1521 | 1 | 6,15 | 0,2149 |
| Erro | 1766,6090 | 443 | 3,9878 | |
| Total | | 449 | | |

Tabela 4A – Resumo da análise de variância do tipo de movimento dos espermatozoides de sêmen de varrões alimentados com uma ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico

| FV | SQ | GL | QM | P Valor |
|------------|-----------|-----------|-----------|----------------|
| Tratamento | 0,0011 | 1 | 0,0011 | 0,4744 |
| Bloco | 0,0021 | 4 | 0,0005 | 0,9178 |
| Tempo | 0,0032 | 1 | 0,0032 | 0,2273 |
| Erro | 0,9903 | 443 | 0,0022 | |
| Total | | 449 | | |

Tabela 5A – Resumo da análise de variância do vigor dos espermatozoides do sêmen de varrões alimentados com uma ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico

| FV | SQ | GL | QM | P Valor |
|------------|-----------|-----------|-----------|----------------|
| Tratamento | 0,0001 | 1 | 0,0001 | 0,9381 |
| Bloco | 0,0127 | 4 | 0,0031 | 0,9721 |
| Tempo | 0,0135 | 1 | 0,0135 | 0,4599 |
| Erro | 10,9515 | 443 | 0,0247 | |
| Total | | 449 | | |

Tabela 6A – Resumo da análise de variância da aglutinação dos espermatozoides do sêmen de varrões alimentados com uma ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico

| FV | SQ | GL | QM | P Valor |
|------------|-----------|-----------|-----------|----------------|
| Tratamento | 1,5636 | 1 | 1,5636 | 0,7790 |
| Bloco | 53,2536 | 4 | 13,3134 | 0,6123 |
| Tempo | 3,8593 | 1 | 3,8593 | 0,6594 |
| Erro | 8788,3133 | 443 | 19,8381 | |
| Total | | 449 | | |

Tabela 7A – Resumo da análise de variância do pH do sêmen de varrões alimentados com uma ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico

| FV | SQ | GL | QM | P Valor |
|------------|-----------|-----------|-----------|----------------|
| Tratamento | 0,1692 | 1 | 0,1692952 | 0,0467 |
| Bloco | 0,0890 | 4 | 0,02225 | 0,7190 |
| Tempo | 0,0153 | 1 | 0,0153159 | 0,5489 |
| Erro | 18,8593 | 443 | | |
| Total | | 449 | | |

Tabela 8A – Resumo da análise da interação bloco x tratamento para volume de sêmen de varrões alimentados com uma ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico

| FV | SQ | GL | QM | P Valor |
|--------------------|-------------|------------|------------|----------------|
| Tratamento | 48415,490 | 1 | 48415,49 | 0,0390 |
| Bloco | 2098964,75 | 4 | 524741,188 | <0,0001 |
| Bloco x Tratamento | 9193,313 | 1 | 2298,32 | 0,9364 |
| Tempo | 149016,193 | 1 | 149016,19 | 0,0003 |
| Erro | 4958077,644 | 443 | 11294,02 | |
| Total | | 449 | | |

Tabela 9A – Resumo da análise da interação bloco x tratamento para concentração de células espermáticas em sêmen de varrões alimentados com uma ração-padrão e ração-padrão + 1% de glutamina – L-ácido glutâmico

| FV | SQ | GL | QM | P Valor |
|--------------------|-------------|------------|------------|----------------|
| Tratamento | 14,4650 | 1 | 14,4650 | 0,9139 |
| Bloco | 204454,4773 | 4 | 51113,6193 | <0,0001 |
| Bloco x Tratamento | 2317,3889 | 1 | 579,3472 | 0,7591 |
| Tempo | 6935,3135 | 1 | 6935,3135 | 0,0183 |
| Erro | 543177,3092 | 443 | 1237,3059 | |
| Total | | 449 | | |