



# CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS, CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS SEMINAIS E TESTOSTERONEMIA DE CARNEIROS SANTA INÊS DURANTE O PRIMEIRO ANO DE VIDA.



Carlos E.A. Souza<sup>1\*</sup>; Arlindo A.A. Moura<sup>1</sup>; José T.A. Oliveira<sup>2</sup>; Airton A. Araújo<sup>3</sup>; Alethéia C.B. Lima<sup>1</sup>; José N.M. Neiva<sup>1</sup>

1 – Departamento de Zootecnia – Universidade Federal do Ceará ([amoura@ufc.br](mailto:amoura@ufc.br)/[carizia@yahoo.com](mailto:carizia@yahoo.com))

2 – Departamento de Bioquímica – Universidade Federal do Ceará ([jtaolive@ufc.br](mailto:jtaolive@ufc.br))

3 – Faculdade de Veterinária – Universidade Estadual do Ceará ([aaaraujo@zipmail.com](mailto:aaaraujo@zipmail.com))

\*Correspondência: Departamento de Zootecnia – UFC Av. Mister Hull s/n Campus do Pici  
Fortaleza – Ceará – 60.021-970 – e-mail: [duca@fortalnet.com.br](mailto:duca@fortalnet.com.br)

## Protein concentration in the seminal plasma and testosterone concentration of Santa Ines hairy rams over the first year of life

Live weight (LW), testicular biometry (scrotal circumference (SC), testicular diameter (TD) and length (TL)), age at puberty (AP), seminal parameters as well as seminal plasma protein contents and blood testosterone concentrations were determined in 16 rams between 8 and 42 weeks of age (wk.). The LW increased linearly over the studied period, but SC, TD and TL tended to stabilize after 32 wk. AP occurred at 24 wk., preceded by the appearance of the first spermatozoa in ejaculate by two weeks. Seminal parameters improved until adult levels at 42 wk. Protein contents in seminal plasma increased from 3.00 to approximately 20.00 mg/ml over the period. Testosterone concentrations increased until a peak at 36 wk, tending to stabilize thereafter. Protein contents in seminal plasma and testosterone concentrations increased in parallel, indicating that, after puberty, this hormone could be responsible for the expression of androgen-dependent proteins, contributing to the improvement of the seminal parameters.

### Introdução

O uso de reprodutores testados e com alta capacidade fertilizante é de grande importância para garantir boa eficiência reprodutiva e produção de cordeiros. Desse modo, a busca por indicadores da fertilidade de reprodutores tem sido o alvo de diversos estudos nos últimos anos. A motilidade e morfologia espermática, junto com a circunferência escrotal são as características mais frequentemente utilizadas para avaliar o potencial reprodutivo (Godfrey et al., 1990; Correa et al., 1997). Contudo, Smith et al. (1981) não encontraram relação entre nenhum parâmetro de avaliação da qualidade seminal individualmente e a fertilidade, indicando que esta deveria ser estimada pela combinação dos vários parâmetros. De fato, estes parâmetros têm capacidade limitada na avaliação da fertilidade potencial de reprodutores (Rodriguez-Martinez & Larsson, 1998; Zhang et al., 1998). Mesmo técnicas

sofisticadas, como a análise computadorizada da motilidade e o teste de integridade acrossômica, embora auxiliem a avaliação do sêmen, não apresentam alta correlação com os índices de fertilidade (Januskauskas et al., 2000ab; Kjaestad et al., 1993).

Portanto, a observação de que reprodutores com características seminais semelhantes ainda podem apresentar diferenças de 20 a 25% nos índices de fertilidade (Larson & Miller, 2000) tem estimulado a busca por outros marcadores de fertilidade (Henault & Killian, 1996).

O plasma seminal contém secreções de origem testicular, epididimária e das glândulas sexuais acessórias (Evans & Maxwell, 1987), do qual os espermatozoides adquirem inúmeras proteínas durante o trânsito epididimário e na ejaculação, e que podem influenciar sua capacidade fecundante (Miller et al., 1990; Yanagimachi, 1994; Maxwell et al., 1999)

A liberação pulsátil de LH e testosterona inicia-se quando o animal atinge a puberdade e persistem até a maturidade (Kiser et al., 1976). A testosterona tem sido implicada na secreção do hormônio do crescimento (GH) (Millard, 1989) e do fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) (Coxan et al., 1990), dois hormônios responsáveis pela taxa de crescimento e composição corporal (Ford & Klindt, 1989), bem como está relacionada à expressão do comportamento sexual masculino (Roselli et al., 2002). Os níveis plasmáticos de testosterona estão ainda relacionados ao diâmetro testicular (Yarney & Sanford, 1993), ao desbridamento peniano (Eloy & Santa Rosa, 1998) e aos processos espermatogênicos (Evans et al., 1996). Portanto, os objetivos deste trabalho foram avaliar a concentração de proteína no plasma seminal, bem como os níveis séricos de testosterona, associados aos parâmetros seminais e de crescimento testicular ao longo do primeiro ano de vida em carneiros da raça Santa Inês.

### Experimental

Os Dezesseis cordeiros da raça Santa Inês, utilizados nesse experimento foram criados em confinamento no Setor de Estudos em Forragicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará recebendo alimentação segundo os requerimentos do NRC (1985) e acesso livre a água e mistura mineral de modo a expressar todo o seu potencial produtivo e reprodutivo. Foram mensurados o peso vivo (PV), a circunferência escrotal (CE), o comprimento (CT) e diâmetro testicular (DT) ao longo do primeiro ano de vida. A idade à puberdade foi definida como o

momento do desprendimento total entre o pênis e a mucosa do prepúcio (Moura et al., 1999; Souza et al., 2000). Após o início desse desprendimento, foram realizadas coletas de sêmen por eletroejaculação, visando determinar a idade de aparecimento dos primeiros espermatozoides no ejaculado, e a qualidade seminal dos animais. Para tanto, analisou-se o volume ejaculado, a motilidade massal (MM), o percentual de espermatozoides móveis (MOT) e progressivamente móveis (MOP), o vigor espermático e o percentual de espermatozoides morfologicamente anormais (Freitas & Nunes, 1992).

Após a avaliação seminal, o sêmen foi centrifugado a 1000g por 10 minutos e o sobrenadante foi utilizado para a determinação da concentração de proteína (Bradford, 1976).

Foram realizadas coletas de sangue nas fases pré-púbere (10 e 22 semanas), púbere (30 e 36 semanas) e pós-púbere (42 semanas) e as concentrações plasmáticas de testosterona determinadas através de rádioimunoensaio (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, USA), com uma sensibilidade de 0,04 ng/ml.

### Resultados e Discussões

O peso vivo (PV) dos animais aumentou de  $12,31 \pm 0,65$  kg às 8 semanas (sem.) de idade para  $52,88 \pm 1,76$  kg às 42 sem. Do mesmo modo, a circunferência escrotal evoluiu de  $9,48 \pm 0,46$  cm para  $31,97 \pm 0,37$  cm no mesmo intervalo. O comprimento e diâmetro testicular tiveram comportamento semelhante ao da circunferência escrotal (Tabela 1).

Tabela 1 – Parâmetros de desenvolvimento corporal e testicular em carneiros da raça Santa Inês no estado do Ceará ao longo do primeiro ano de vida (média  $\pm$  erro-padrão)

Parâmetro	Idade (semanas)				
	8	16	24	32	40
Peso vivo (kg)	12,31 $\pm$ 0,65	20,03 $\pm$ 0,92	29,45 $\pm$ 1,29	41,10 $\pm$ 1,48	50,49 $\pm$ 1,68
Circunferência escrotal (cm)	9,78 $\pm$ 0,46	16,31 $\pm$ 0,77	23,09 $\pm$ 0,80	28,81 $\pm$ 0,64	31,44 $\pm$ 0,34
Comprimento testicular (cm)	2,64 $\pm$ 0,11	4,08 $\pm$ 0,19	6,57 $\pm$ 0,22	8,85 $\pm$ 0,26	9,71 $\pm$ 0,14
Diâmetro testicular (cm)	1,83 $\pm$ 0,09	2,59 $\pm$ 0,20	4,52 $\pm$ 0,16	5,52 $\pm$ 0,22	5,77 $\pm$ 0,10

O potencial das medições testiculares, particularmente a CE, como critério de seleção para melhoria da fertilidade em carneiros já foi demonstrado (Land, 1973; Matos et al., 1992).

Por ser uma característica cuja herdabilidade varia de moderada a alta, a CE como critério de seleção promove resposta rápida e eficiente para a fertilidade de machos e fêmeas (Lobo, 1996). Yarney & Sanford

(1993) afirmam que o diâmetro testicular em idades específicas pode dar indicação confiável, a longo prazo, do desempenho reprodutivo do adulto. Toe et al. (2000) afirmam que a herdabilidade das medições de CE, comprimento e diâmetro testicular em ovinos tropicais aos 6 meses de idade não difere daquela aos 12 meses, de modo que a seleção com base nesses parâmetros pode ser feita em animais jovens, tendo efeitos benéficos sobre a precocidade.

A idade à puberdade ocorreu em média às 24,44 ± 0,66 sem., com peso de 30,88 ± 0,96 kg, cerca de 60% do peso a 1 ano de idade. Estes valores são próximos aos encontrados por Moura et al. (1999) e Souza et al. (2000; 2001), para animais deslanados e aos encontrados por Hochereau-de-Reviere et al. (1987), Yarney & Sanford (1993) para

animais de origem européia. O desbridamento peniano foi precedido pelo aparecimento dos primeiros espermatozoides no ejaculado (22,94 ± 0,99 sem.) e dos primeiros espermatozoides móveis (24,31 ± 1,02 sem.). Valentim et al. (1995), trabalhando com cordeiros da raça Churra observaram que os primeiros espermatozoides nos ejaculados desses animais ocorreram apenas às 26 sem., período mais tardio comparado aos nossos animais.

Os parâmetros seminais evoluíram de valores muito baixos no início da puberdade, até valores compatíveis com a atividade reprodutiva (Fonseca et al., 1992) às 42 sem. (Tabela 2).

Tabela 2 – Parâmetros seminais em carneiros da raça Santa Inês no estado do Ceará ao longo do primeiro ano de vida (média ± erro-padrão)

Parâmetro	Idade (semanas)				
	16	24	32	40	42
Volume ejaculado (ml)	0,23±0,03	0,40±0,09	0,97±0,16	1,51±0,16	1,91±0,16
Motilidade massal (0-5)	0,00±0,00	1,43±0,62	2,40±0,46	2,84±0,35	3,38±0,27
Motilidade (%)	0,00±0,00	35,71±10,66	53,67±9,47	69,38±5,81	76,25±2,39
Motilidade progressiva (%)	0,00±0,00	1,43±1,43	47,00±9,73	59,69±6,93	66,25±4,55
Vigor (0-5)	0,00±0,00	1,86±0,53	2,57±0,47	3,22±0,35	3,34±0,24
Alterações morfológicas (%)	0,00±0,00	45,79±6,59	43,27±5,48	25,38±4,42	17,25±3,16

A proporção de carneiros cujo sêmen pôde ser colhido aumentou com a idade. Às 42 sem., todos os animais já ejaculavam normalmente, enquanto que às 16 sem., apenas cerca de 20% dos animais chegava a ejacular.

Os parâmetros de MM, MOT e MOP aumentaram com a idade, ao passo que o percentual de espermatozoides morfológicamente anormais diminuiu. Colas (1983) afirma que ejaculados de carneiros mais jovens apresentam maior número de células anormais, indicativas de atividade espermatogênica e maturação epididimal incompletas.

Existem correlações significativas entre a circunferência escrotal e os parâmetros seminais em cordeiros da raça Santa Inês, indicando que esses parâmetros poderiam ser utilizados para a seleção de animais com maior potencial reprodutivo (Souza et al.,

2000, 2001; Toe et al., 2000; Rege et al., 2000).

A concentração total de proteína no plasma seminal se elevou de 3,00 ± 0,00 mg/ml na fase púbere para 19,95 ± 0,88 mg/ml na fase de pós-puberdade (Figura 1). Pérez-Pé et al. (2001) observaram que concentrações de proteínas do plasma seminal variando de 0,7 a 2,1 mg/ml são capazes de proteger espermatozoides ovinos contra os danos causados pela congelamento dessas células. Estes resultados foram confirmados por Azeredo et al. (2001) e Barrios et al. (2000), que observaram que algumas frações protéicas do plasma seminal são capazes de recuperar a ultraestrutura e permeabilidade da membrana de espermatozoides já danificados pelo processo de congelamento.

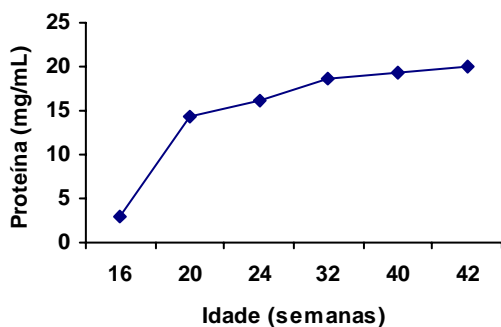


Figura 1: Evolução do conteúdo protéico no plasma seminal ao longo do primeiro ano de vida em carneiros Santa Inês no Estado do Ceará.

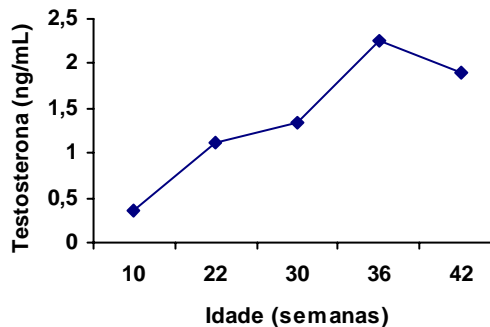


Figura 2: Evolução dos níveis séricos de testosterona ao longo do primeiro ano de vida em carneiros Santa Inês no Estado do Ceará.

Já as concentrações séricas de testosterona, aumentaram de  $0,36 \pm 0,08$  ng/ml às 10 sem. para  $1,90 \pm 0,23$  ng/ml às 42 sem., tendo atingido um valor máximo de  $2,25 \pm 0,29$  ng/ml às 36 sem. Em nosso trabalho pode-se observar que a concentração seminal de proteína cresce em paralelo com os níveis séricos de testosterona, desenvolvimento testicular e produção de espermatozóides. Inúmeras proteínas dependentes de andrógenos para sua expressão são secretadas no testículo e epidídimo. Dentre elas, a ABP (androgen-binding protein) (Jégou et al., 1979) é secretada pelas células de Sertoli (Hagenas et al., 1975; Courot, 1980) e é responsável pelo transporte e concentração de andrógenos nos testículos e epidídimos (Hansson et al., 1975; Courot, 1980), atuando nos processos de espermatogênese e maturação espermática epididimal (Courot, 1980). No epidídimo, proteínas como a prealbumin epididymal specific (PES 64 kDa) são secretadas sob controle da testosterona. Esta proteína liga-se à região periacrossômica de espermatozóides imaturos e permanece ligada mesmo após a ejaculação, podendo estar envolvida nos processos de reação acrossômica (Fournier-Delpech et al., 1988ab).

### Conclusões

Os resultados nos permitem concluir que a biometria testicular (CE, CT, DT) apresenta uma fase de crescimento rápido nas fases de pré-puberdade e puberdade e uma fase de crescimento lento, tendendo a estabilizar-se na pós-puberdade, a despeito de aumentos contínuos no peso vivo. De forma semelhante,

os parâmetros seminais dos animais evoluem de valores muito baixos na fase púbera até valores compatíveis com a fase de maturidade sexual.

A idade à puberdade ocorreu às 24 sem. de vida, fase em que os animais já apresentavam espermatozóides móveis no ejaculado. Portanto, a separação entre machos e fêmeas deve ser feita antes dessa idade.

As concentrações protéicas no plasma seminal e as concentrações séricas de testosterona evoluíram de forma muito semelhante. Este quadro nos permite sugerir que, após a puberdade, aumentos nas secreções de testosterona estimulam a síntese e secreção de proteínas andrógeno-dependentes pelos testículos, epidídimos e glândulas acessórias, que podem estar relacionadas com a melhora detectada no quadro espermático dos animais.

### Referencias Bibliográficas

- A.A.A. Moura; C.E.A. Souza; F.C.H. Garcia; J.B.O. Neto in Anais da XXXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Porto Alegre, 1999, Vol. I.
- A. Januskauskas; J. Gil; L. Sonderquist; H. Rodríguez-Martinez. **Reproduction in Domestic Animals**. 2000a, 35, 207-212.
- A. Januskauskas; A. Johannisson; L. Sonderquist; H. Rodríguez-Martinez. **Theriogenology**. 2000b, 53, 859-875.
- A.C.O. Evans; R.A. Pierson; A. Garcia; L.M. McDougall; F. Hrudka; N.C. Rawlings. **Theriogenology**. 1996, 46, 345-357.

- A.M.X. Eloy; J. Santa Rosa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. **1998**, 33, 1645-1652.
- B. Barrios; R. Pérez-Pé; M. Gallego; A. Tato; J. Osada; T. Muiño-Blanco; J.A. Cébrian-Pérez. **Biology of Reproduction**. **2000**, 63, 1531-1537.
- B. Jégou; J.L. Dacheux; D.H. Garnier; M. Terqui; G. Colas; M. Courot. **Journal of Reproduction, and Fertility**. **1979**, 57, 311-318.
- B.R. Zhang; B. Larsson; N. Lundeheim; H. Rodríguez-Martinez. **International Journal of Andrology**. **1998**, 21, 207-216.
- C.A.P. Matos; D.L. Thomas; T.G. Nash; D.F. Waldron; J.M. Stokey. **Journal of Animal Science**. **1992**, 70, 43-50.
- C.E. Roselli; F. Stormshak; J.N. Stellflug; J.A. Resko. **Biology of Reproduction**. **2002**, 67, 263-268.
- C.E.A. Souza; A.A.A. Moura; A.C.B. Lima; A.L.T. Ciríaco in Anais da XXXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa, 2000, Vol. I.
- C.E.A. Souza; A.A.A. Moura; A.C.B. Lima. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. **2001**, 25, 196-199.
- D.J. Miller; M.A. Winer; R.L. Ax. **Biology of Reproduction**. **1990**, 42, 899-915.
- F. Toe; J.E.O. Rege; E. Mukasa-Mugerwa; S. Tembely; D. Anindo; R.L. Baker; A. Lahlou-Kassi. **Small Ruminant Research**. **2000**, 36, 227-240.
- G. Colas in **Sheep Production**, W. Haresign, Ed.; Butterworths, London, 1983; 453-465.
- G. Evans; W.M.C. Maxwell. **Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats**, Butterworths, Sydney, 1987.
- G.A. Azerêdo; C.R. Esper; K.T. Resende. **Small Ruminant Research**. **2001**, 41, 257-263.
- H. Kjaestad; E. Ropstad; K.A. Berg. **Acta Veterinaria Scandinavica**. **1993**, 34, 299-303.
- H. Rodríguez-Martinez; B. Larsson. **Acta Agric. Scand.** **1998**, 29, 12-18.
- J.E.O. Rege; F. Toe; E. Mukasa-Mugerwa; S. Tembely; D. Anindo; R.L. Baker; A. Lahlou-Kassi. **Small Ruminant Research**. **2000**, 37, 173-187.
- J.J. Ford; J. Klindt in **Animal Growth Regulation**, D.R. Campion; G.J. Hausmann; R.J. Martin, Eds.; Plenum Press, New York, 1989; 317-336.
- J.L. Larson; D.J. Miller. **Journal of Dairy Science**. **2000**, 83, 2473-2479.
- J.R. Correa; M.M. Pace; P.M. Zavos. **Theriogenology**. **1997**, 48, 721-731.
- L. Hagenas; E.M. Ritzén; L. Ploen; V. Hansson; F.S. French; S.N. Nyfeh. **Molecular and Cellular Endocrinology**. **1975**, 2, 339-350.
- M. Courot. **Reproduction, Fertility, Development**. **1980**, 20, 587-591.
- M.A. Henault; G.J. Killian. **Journal of Reproduction and Fertility**. **1996**, 108, 199-204.
- M.F. Smith; D.L. Morris; M.S. Amoss; N.R. Parish; J.D. Williams; J.N. Wiltbank. **Theriogenology**. **1981**, 16, 379.
- M.M. Bradford. **Analytical Biochemistry**. **1976**, 72, 248-254.
- M.T. Hochereau-de-Reviere; C. Monet-Kuntz; M. Courot. **Journal of Reproduction and Fertility**. **1987**, 34, 101.
- National Research Council (NRC). **Nutrient Requirements of Domestic Animals: Nutrient Requirements of Sheep**. Committee on Animal Nutrition, Washington DC, 1-112.
- R. Pérez-Pé; J.A. Cébrian-Pérez; T. Muiño-Blanco. **Theriogenology**. **2001**, 56, 425-434.
- R. Valentim; A. Teixeira; J. Azevedo; T.M. Correia; J.C. Almeida. **Revista Portuguesa de Zootecnia**. **1995**, 1, 1.
- R. Yanagimachi. **Zygote**. **1994**, 3, 371-372.
- R.B. Land. **Nature**. **1973**, 241, 208-209.
- R.N.B. Lobo, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, 1996.
- R.W. Godfrey; D.D. Lunstra; T.G. Lunstra; J.G. Berardinelli; M.J. Guthrie; D.A. Neuendorff; C.R. Long; R.D. Randell. **Journal of Animal Science**. **1990**, 68, 734-749.
- S. Fournier-Delpech; A.M. Venien; C. Pisselet; M. Courot in Anais III C.R. Acad. Sci. Paris, Paris, 1988a, Vol. III.
- S. Fournier-Delpech; M.K. Holland; M.D. Skudlarek; T.L. Rankin; M.C. Orgebin-Crist; M. Courot. **Reproduction, Nutrition Development**. **1988b**, 28, 1283-1299.
- T.A. Yarney; L.M. Sanford. **Theriogenology**. **1993**, 40, 735-744.

T.E. Kiser; H.D. Hafs; W.D. Oxender. **Prostaglandins**. 1976, 11, 545.

V. Coxam; M.J. Davicco; D. Durand; D. Bauchart; F. Opmeer; J.P. Barlet. **Biology of the Neonate**. 1990, 58, 16-23.

V. Hansson; E.M. Ritzén; F.S. French; S.N. Nayfeh in **Handbook of Physiology and Endocrinology**, R.O. Greep; D.W. Hamilton, Eds. American Physiological Society, Washington, DC, 1975; 173-200.

V.J.F. Freitas; J.F. Nunes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. 1992, 16, 95-104.

V.O. Fonseca; V.R. Vale Filho; A. Mies Filho; J.J. Abreu. **Procedimentos para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal**, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, 1992.

W.J. Millard in **Animal Growth Regulation**, D.R. Campion; G.J. Hausmann; R.J. Martin, Eds.; Plenum Press, New York, 1989; 237-255.

W.M.C. Maxwell; G. Evans; S.T. Mortimer; L. Gillan; E.L. Gellatly; C.A. McPhie. **Reproduction, Fertility and Development**. 1999, 11, 123-126.