

## ORIGINAL ARTICLE

## NÍVEIS DE TESTOSTERONA NA SALIVA E NO PLASMA SEMINAL DE REPRODUTORES SUÍNOS

Thais Schwarz Gaggini<sup>1\*</sup>, Daiane Moreira Silva<sup>1</sup>, Evandro César Pereira Cunha<sup>1</sup>, Márcio Gilberto Zangeronimo<sup>1</sup>, Luís David Solis Murgas<sup>1</sup>

## RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar os níveis de testosterona na saliva e no plasma seminal, correlacionando-os com a libido e a produção espermática de reprodutores suínos de duas linhagens de alto desempenho. As análises hormonais foram realizadas utilizando o método ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) e as análises estatísticas dos dados foram realizadas por meio do teste F e da correlação de Spearman pelo Software SAS. Não houve diferença ( $P>0,05$ ) entre as linhagens de reprodutores quanto aos níveis de testosterona na saliva e no plasma seminal, duração da coleta, volume e concentração do ejaculado e motilidade e viabilidade espermática. Por serem animais com libido, produção de sêmen e motilidade espermática consideradas normais, não houve diferença entre as linhagens, sendo que os resultados obtidos podem ser classificados como parâmetros normais esperados nestas situações.

**Palavras-chave:** hormônio, libido, sêmen, *Sus scrofa domesticus*.

## INTRODUÇÃO

O desempenho reprodutivo da suinocultura atual é um dos principais aspectos que devem ser levados em consideração quando se deseja elevar os índices produtivos e, conseqüentemente, o lucro do produtor. Comparado com a fêmea, o macho exerce um impacto muito maior em relação à eficiência reprodutiva de um rebanho suíno e isso se deve, em parte, ao aumento da prática de inseminação artificial (IA) em granjas comerciais, em que os ejaculados de um reprodutor podem ser utilizados na inseminação de até 1500 fêmeas, dependendo

da técnica utilizada para a IA e o número de células utilizadas por dose (Bortolozzo *et al.*, 2005). Por este motivo, o acompanhamento dos animais, de forma que estes possam ter alta produção de sêmen de boa qualidade tem extrema importância.

Uma das características importantes no desempenho reprodutivo de machos suínos é a libido (Ferreira *et al.*, 2005), que consiste no interesse do macho pelas fêmeas ou pelo manequim. A libido pode ser expressa pelo do número de saltos realizados pelo macho no manequim em um determinado espaço de tempo (Valença *et al.*, 2007), pela intensidade de salivagem do macho no ambiente de coleta de sêmen ou durante a monta e pelo ato de estimular mecanicamente a fêmea. Neste aspecto, a libido é considerada uma das funções periféricas da testosterona, pois o impulso sexual é totalmente dependente de andrógenos derivados deste hormônio (Kemp *et al.*, 1991; Louis *et al.*, 1994).

Dentre as principais funções da testosterona, estão o estímulo para o comportamento sexual (libido), a ejaculação e a produção de espermatozoides viáveis (Banks, 1991).

Aproximadamente 98% da testosterona circulante no sangue são carregados por uma globulina  $\alpha$ , estando o restante livre para penetrar nas células alvo e exercer sua ação (Hafez, 1998). Dessa forma, é possível observar os níveis desse hormônio por meio da mensuração no sangue (Vankrieken, 1997). Além disso, há relatos de que hormônios androgênicos também podem ser eliminados pela saliva (Plimpton *et al.*, 1972; Rekwot *et al.* 2001) e também no ejaculado, já que as células do epidídimo necessitam de alta concentração de andrógenos para manter suas funções e para prolongar a

\*Artigo recebido em: 19/10/2015

Aceito para publicação em: 30/11/2015

<sup>1</sup>Laboratório de Fisiologia e Farmacologia, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras – UFLA

\* Corresponding author: Universidade Federal de Lavras - UFLA, MG, Brasil CEP 37200-000. telefone +55 (034) 99987 6251, tsgaggini@yahoo.com.br.

vida útil dos espermatozoides (Hafez, 1998). Dessa forma, parte da testosterona pode ser encontrada reprodutores em uma central de inseminação artificial.

Objetivou-se com este estudo avaliar os níveis de testosterona na saliva e no plasma seminal, correlacionando-os com a libido e a produção espermática de reprodutores suínos de duas linhagens de alto desempenho.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados no estudo seis reprodutores suínos de alto desempenho, pertencentes ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. Três animais pertenciam à linhagem A e três animais a linhagem B, sendo ambas pertencentes à empresa de genética TOPIGS. Os animais da linhagem A (linha base Large White) apresentaram  $17,9 \pm 1,3$  meses de idade e  $225,3 \pm 5,78$  kg de peso e os da linhagem B (linha base Pietrain), apresentaram  $18,3 \pm 0,32$  meses de idade e  $259,7 \pm 11,5$  kg de peso.

Os animais foram mantidos em baias individuais e alimentados duas vezes ao dia com 1,5 kg, por vez, de ração específica para reprodutores e a água fornecida *ad libitum*. O experimento foi realizado durante o verão e a temperatura foi controlada por meio do uso de um termômetro de máxima e mínima. Durante os meses do experimento as temperaturas mínimas foram  $17,47 \pm 2,12^\circ\text{C}$ ,  $17,56 \pm 2,12^\circ\text{C}$  e  $17,78 \pm 2,12^\circ\text{C}$  e as máximas  $29,29 \pm 2,14^\circ\text{C}$ ,  $28,03 \pm 2,28^\circ\text{C}$  e  $29,58 \pm 2,14^\circ\text{C}$ , respectivamente para os meses de dezembro, janeiro e fevereiro.

Foram coletados 69 ejaculados dos animais de cada linhagem. As coletas ocorreram com intervalo de 4,6 dias. Os animais foram coletados sobre manequim pelo método da mão enluvada, utilizando Becker graduado coberto por filtro e envolvido por copo térmico para receber o sêmen. Para a avaliação da libido, os animais foram observados durante todas as coletas, sendo considerado o comportamento sexual do animal (se saltou ou não ou se salvou ou não) e o tempo da coleta, que foi mensurado

na saliva e também no ejaculado, o que pode representar uma importante ferramenta na avaliação de

utilizando um cronômetro. Após encerrar as coletas, os ejaculados foram transportados para o Setor de Fisiologia e Farmacologia da UFLA para realização das análises e processamento das doses. Foram realizadas análises de motilidade, concentração e viabilidade espermática. A motilidade espermática foi avaliada subjetivamente, em triplicata, pela avaliação de uma gota de sêmen entre lâmina e lamínula pré-aquecidas a  $36^\circ\text{C}$ , em microscópio com aumento de 150x, contabilizando oito campos por avaliação. Para a concentração espermática foi realizada a diluição de 1:100 de sêmen em formol citrato e foram contabilizados os espermatozoides em câmara de Neubauer. Para a avaliação de viabilidade espermática foi colocada uma gota do ejaculado e uma gota de eosina-nigrosina em lâmina pré-aquecida a  $36^\circ\text{C}$  e realizada a contagem de células vivas e mortas em microscópio com aumento de 400x (Mies Filho, 1982).

Após a realização das avaliações, 1 mL dos ejaculados foi coletado e as amostras foram centrifugadas durante 10 minutos a 300 rotações por minuto. O plasma seminal obtido foi armazenado a  $-26^\circ\text{C}$ . Durante a coleta dos ejaculados também foram coletadas 49 amostras de saliva (1 ml) de cada linhagem e armazenadas a  $-26^\circ\text{C}$ .

A análise de testosterona no plasma seminal e na saliva foi realizada pelo método ELISA (Direct Free Testosterone ELISA Kit). As análises estatísticas dos dados obtidos foram realizadas utilizando o teste F e a correlação de Spearman pelo Software SAS (SAS Institute, 2005).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença ( $P>0,05$ ) entre as linhagens quanto aos níveis de testosterona na saliva e no plasma seminal e quanto ao tempo de coleta, volume do ejaculado, concentração, viabilidade e motilidade espermática (Tabelas 1, 2 e 3).

**Tabela 1.** Níveis de testosterona na saliva e no plasma seminal e tempo de coleta de reprodutores suínos de alto desempenho (Média  $\pm$  Desvio Padrão).

Linhagem	Níveis de testosterona na saliva (pg/mL)	Níveis de testosterona no plasma seminal (pg/mL)	Tempo de coleta (minutos)
A	6,10 $\pm$ 0,39	6,30 $\pm$ 0,23	7,22 $\pm$ 1,16
B	6,15 $\pm$ 0,31	6,31 $\pm$ 0,24	6,98 $\pm$ 3,19
P =	0,7974	0,8315	0,9155
CV (%)	3,9	1,19	33,81

\* Não houve diferença significativa pelo teste F ( $P > 0,05$ ).

**Tabela 2.** Volume do ejaculado e concentração espermática de reprodutores suínos de alto desempenho (Média  $\pm$  Desvio Padrão).

Linhagem	Volume do ejaculado (mL)	Concentração ( $\times 10^6$ espermatozoides/mm <sup>3</sup> )
A	266,04 $\pm$ 26,82	241,5 $\pm$ 22,91
B	276,25 $\pm$ 63,87	233,0 $\pm$ 22,01
P =	0,8111	0,6672
CV (%)	18,07	9,47

\* Não houve diferença significativa pelo teste F ( $P > 0,05$ ).

**Tabela 3.** Viabilidade e motilidade espermática de reprodutores suínos de alto desempenho (Média  $\pm$  Desvio Padrão).

Linhagem	Viabilidade espermática (%)	Motilidade espermática (%)
A	85,63 $\pm$ 18,36	76,04 $\pm$ 10,65
B	88,76 $\pm$ 6,73	81,87 $\pm$ 3,80
P =	0,5539	0,4221
CV (%)	6,82	10,13

\* Não houve diferença significativa pelo teste F ( $P > 0,05$ ).

Não houve correlação ( $P > 0,05$ ) entre os níveis de testosterona da saliva e do plasma seminal com o tempo de coleta, volume do ejaculado, concentração espermática e viabilidade espermática (Tabela 4 e Tabela 5).

Foi observada, no entanto, correlação negativa entre níveis de testosterona na saliva e motilidade espermática (Tabela 5).

**Tabela 4.** Correlação entre os níveis de testosterona na saliva, plasma seminal, tempo de coleta, volume do ejaculado e concentração espermática de reprodutores suínos de alto desempenho.

Níveis de testosterona (pg/mL)	Tempo de coleta (minutos)	Volume de ejaculado (mL)	Concentração ( $\times 10^6$ espermatozoides/mm <sup>3</sup> )
Saliva	-0.04	0.06	0.09
P =	0.8042	0.6989	0.5258
Plasma Seminal	-0.005	-0.17	-0.02
P =	0.9751	0.2591	0.9154

**Tabela 5.** Correlação entre os níveis de testosterona na saliva e, no plasma seminal com a motilidade e a viabilidade espermática de reprodutores suínos de alto desempenho.

Níveis de Testosterona (pg/mL)	Motilidade espermática (%)	Viabilidade espermática (%)
Saliva	-0.31	0.12
P =	0.0299	0.4195
Sêmen	0.00	0.08
P =	0.998	0.6000

No presente estudo, ambas as linhagens de animais apresentaram tempo de coleta similar, com comportamento sexual semelhante durante o momento da coleta. Provavelmente, não houve diferença na libido dos animais, por que este comportamento está diretamente correlacionado com os níveis de testosterona circulante (Okere et al. 2005) e, não houve diferença nos níveis de testosterona circulante na saliva e no plasma seminal entre as linhagens estudadas.

A ação da testosterona e seus metabólitos influenciam positivamente a produção de espermatozoides viáveis (McLachlan et al., 1996; Vankrieken, 1997). Isto ocorre por que a testosterona é o principal hormônio andrógeno que é essencial à função reprodutiva dos machos, atuando desde o desenvolvimento da fase pré-púbere até no desenvolvimento das células espermáticas, armazenamento destas no epidídimo e comportamento sexual do animal (Hafez, 1998). No presente estudo não foi observada diferença entre as linhagens em nenhum dos parâmetros avaliados, o que pode ser justificado pela igualdade nos níveis de testosterona encontrados.

Verificou-se correlação negativa baixa entre os níveis de testosterona na saliva e a motilidade espermática, porém, a forma de avaliação da motilidade utilizada não é considerada ideal por ser subjetiva. Broekhuijse et al. (2012) compararam dados oriundos de análises subjetivas e objetivas com sistema computadorizado e observaram que o sistema computadorizado apresenta resultados com maior acurácia, o que é relevante para o tipo de análise realizada. Nesse sentido, provavelmente os resultados foram coincidentemente correlacionados e serão necessários novos estudos para elucidar se realmente existe a correlação observada e qual seria a relação entre a motilidade espermática e os níveis de testosterona na saliva.

Por serem animais com libido, produção de sêmen e motilidade espermática

consideradas normais, não houve diferença entre as linhagens, sendo que os resultados obtidos podem ser classificados como parâmetros normais esperados nestas situações.

### TESTOSTERONE LEVELS IN SALIVA AND SEMINAL PLASMA OF HIGH PERFORMANCE BOARS

#### ABSTRACT

The aims of this study were evaluated testosterone levels in saliva and seminal plasma and correlate these informations with libido and sperm production of two lines of boars. The hormonal analysis was done using ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) and test F and Sperman correlation of SAS program was used for statistical analysis. There was no difference ( $P>0.05$ ) between boar lines and testosterone levels in saliva and seminal plasma, collection length, semen volume and concentration and sperm motility and viability. Boars used in this study had libido, semen production and sperm cells considered normal and there was no difference between the lines. The results obtained can be classified as normal parameters expected in this situation.

**Keywords:** hormone, libido, sperm, *Sus scrofa domestica*.

#### REFERÊNCIAS

- BANKS, W. J. **Applied Veterinary Histology**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1991. 629p.
- BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I.; DALLANORA, D. Situação atual da inseminação artificial em suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 33, n. 1, p. 17-32, 2005.

BROEKHUIJSE, M. L. W. J.; ŠOŠTARIĆ, E.; FEITSMA, H.; GADELLA, B. M. The value of microscopic semen motility assessment at collection for a commercial artificial insemination center, a retrospective study on factors explaining variation in pig fertility. **Theriogenology**, v. 77, n. 7, p. 1466-1479, 2012.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.11.016>

FERREIRA, F. M.; WENTZ, I.; SCHEID, I. R.; AFONSO, S. B.; GUIDONI, A. L.; BORTOLOZZO, F. P. Comportamento de monta e características seminais de suínos jovens Landrace e Large White. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 1, jan.-fev. 2005.

HAFEZ, E. S. E. **Reproduction in Farm Animals**. 6. ed. São Paulo: Manole, 1998. 582p.

KEMP, B.; BAKKER, L. A.; VERSTEGEN, M. A. The effect of semen collection frequency and food intake on semen production in breeding boars. **British Society Animal Production**, v. 52, n. 5, p. 341-355, 1991.

LOUIS, G. F.; LEWIS, A. J.; WELDON, W. C.; MILLER, P. S.; KITOK, R. J.; STROUP, W. W. The effect of protein intake on boar libido, semen characteristics, and plasma hormone concentrations. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 2038-2050, 1994.

MCLACHLAN, R. I.; WREFORD, N. G.; O'DONNELL, L. O.; KRETZER, D. M.; ROBERTSON, D. M. The endocrine regulation of spermatogenesis: independent roles for testosterone and FSH. **Journal of Endocrinology**, Great Britain, v. 148, p. 1-9, 1996.

<http://dx.doi.org/10.1677/joe.0.1480001>

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

OKERE, C.; JOSEPH, A.; EZEKWE, M. Seasonal and genotype variation in libido, semen production and quality in artificial insemination boars. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, United Kingdom, v. 4, n. 10, p. 885-888, 2005.

PLIMPTON, R. F.; TEAGLE, J. R.; TEAGLE, H. S. Influence of Sex and Hormone Treatment on Performance and Carcass Composition of Swine. **Journal of Animal Science**, Columbus, v. 35, n. 6, p. 1166-1175, 1972.

REKWOT, P. I.; OGWU, D.; OYEDIPE, E. O.; SEKONI, V. O. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. **Animal Reproduction Science**, Zaria, v. 65, p. 157-170, 2001.

[http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00223-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00223-2)

SAS INSTITUTE. **SAS User's guide**, Versão 9.1.3. SAS Institute, Cary, NC, EUA, 2005. 956p.

VALENÇA, R. M. B.; COSTA A. N.; SILVA JÚNIOR, V. A.; REIS, J. C. R.; MARTINS, T. D. D. Avanços na nutrição de varrões: efeitos sobre o desenvolvimento das características reprodutivas e qualidade do sêmen. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 1, p. 64-70, mar. 2007.

VANKRIEKEN, L. Testosterone and the free androgen index. **Diagnostic Products Corporations**, n. 158, p.1-8, mai. 1997.