

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DIÁRIA COM SAIS CÁLCICOS DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE PALMA NA QUALIDADE ESPERMÁTICA DE GARANHÕES**

**EFFECTS OF DAILY SUPPLEMENTATION WITH CALCIUM SALTS OF PALM OIL FATTY ACIDS ON SPERM QUALITY OF STALLIONS**

**EFFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN DIARIA CON SALES DE CALCIO DE ÁCIDOS GRASOS DE ACEITE DE PALMA SOBRE LA CALIDAD DEL ESPERMA DE LOS SEMENTALES**

 <https://doi.org/10.56238/arev7n11-296>

**Data de submissão:** 24/10/2025

**Data de publicação:** 24/11/2025

**Joseph Sardinha Soares**  
Mestre em Ciência Animal  
Instituição: Universidade Iguaçu (UNIG)  
Endereço: Rio de Janeiro, Brasil  
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1764355059737390>  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-8573-0901>

**Isabel Candia Nunes da Cunha**  
Doutor em Medicina Veterinária  
Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)  
Endereço: Rio de Janeiro, Brasil  
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3961597070150740>  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6261-7431>

**Eduardo Shimoda**  
Doutor em Produção Animal  
Instituição: Universidade Cândido Mendes (UCAM)  
Endereço: Rio de Janeiro, Brasil  
E-mail: [shimoda@ucam-campos.br](mailto:shimoda@ucam-campos.br)  
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7869107089401453>  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-6544-687X>

**José Frederico Straggiotti Silva**  
Doutor em Medicina Veterinária  
Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)  
Endereço: Rio de Janeiro, Brasil  
E-mail: [straggio@uenf.br](mailto:straggio@uenf.br)  
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1845406575748415>  
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-2975-9382>

**RESUMO**

Objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação diária com sais cárnicos de ácidos graxos do óleo de palma (*Elaeis guineenses* e *Elaeis oleifera*) na qualidade espermática de garanhões, relacionar o perfil de ácidos graxos e demais componentes do óleo de palma com a melhoria da qualidade espermática,

verificar as concentrações de lipídeos séricos e as concentrações plasmáticas de esteroides dos animais suplementados. Foram utilizados 12 garanhões, que foram divididos em 2 grupos, Controle e Suplementado. O grupo Suplementado recebeu diariamente 300g do suplemento (Agelac 84®) divididas em 2 doses diárias de 150g misturadas ao concentrado por um período de 60 dias. Foram realizadas coletas de sêmen e sangue a cada 15 dias, durante 60 dias, completando 5 momentos de amostragem a partir do dia zero. As médias dos tratamentos para cada dia foram comparadas pelo teste t de Student, adotando-se o nível de 5% de significância. Observou-se resultado significativo ( $P=0,02$ ) com aumento da concentração espermática no grupo suplementado no D60. Verificou-se tendência sensível de melhoria no Teste Hiposmótico ( $P=0,06$ ) ao longo do tratamento nos suplementados. Não foram observadas alterações nas concentrações de cortisol, testosterona e estradiol. Os lipídeos séricos mantiveram-se em níveis fisiológicos, embora tenham aumentado por todo o período experimental.

**Palavras-chave:** Ácidos Graxos. Óleo de Palma. Qualidade Espermática. Sêmen Equino.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effects of daily supplementation with calcic salts of palm oil fatty acids (*Elaeis Guineans* and *Elaeis oleifera*) on the sperm quality of stallions, relate the profile of fatty acids and other palm oil components with improved quality sperm, check the serum lipid concentrations and plasma concentrations of steroids of supplemented animals. 12 stallions were used, which were divided into two groups, Control and Supplemented. The Supplemented group received daily 300g Supplement (Agelac 84®) divided into 2 daily doses of 150g mixed at concentrate for a period of 60 days. Samples were taken from semen and blood every 15 days, for 60 days, completing five sampling times from day zero. The treatment means for each day were compared by the Student t test, adopting the 5% level of significance. A significant result ( $P = 0.02$ ) with increased sperm concentration in the supplemented group in D60. There was sensible trend towards improvement in hiposmotic test ( $P = 0.06$ ) throughout the treatment in supplemented. No changes were observed in plasma cortisol, testosterone and estradiol. Serum lipids remained at physiological levels, although increased throughout the experimental period.

**Keywords:** Fatty Acids. Palm Oil. Sperm Quality. Equine Semen.

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la suplementación diaria con sales cárnicas de ácidos grasos procedentes del aceite de palma (*Elaeis guineenses* y *Elaeis oleifera*) sobre la calidad espermática de los sementales, relacionar el perfil de ácidos grasos y otros componentes del aceite de palma con la mejora de la calidad espermática, verificar las concentraciones de lípidos séricos y las concentraciones plasmáticas de esteroides de los animales suplementados. Se utilizaron 12 sementales, los cuales se dividieron en 2 grupos, Control y Suplementados. El grupo suplementado recibió 300 g del suplemento (Agelac 84®) diariamente divididos en 2 dosis diárias de 150 g mezclados con el concentrado durante un período de 60 días. Se recolectaron muestras de semen y sangre cada 15 días durante 60 días, completando 5 momentos de muestreo desde el día cero. Las medias de los tratamientos para cada día se compararon mediante la prueba t de Student, adoptando un nivel de significancia del 5%. Se observó un resultado significativo ( $P = 0,02$ ) con un aumento en la concentración de espermatozoides en el grupo suplementado en D60. Hubo una tendencia significativa de mejoría en la prueba hiposmótica ( $p = 0,06$ ) a lo largo del tratamiento en los pacientes suplementados. No se observaron cambios en las concentraciones de cortisol, testosterona y estradiol. Los lípidos séricos se mantuvieron en niveles fisiológicos, aunque aumentaron a lo largo del período experimental.

**Palabras clave:** Ácidos Grasos. Aceite de Palma. Calidad del Esperma. Semen Equino.

## 1 INTRODUÇÃO

A evolução da criação de equinos caminha com a evolução da nutrição animal, nesse sentido buscam-se alimentos alternativos, capazes de diminuir os custos da criação e que, de certa forma, sejam funcionais. Existem alguns trabalhos com suplementação com gorduras e óleos em equinos, a maioria sobre seus efeitos na nutrição e resistência ao exercício, pouco se encontra sobre a suplementação com ácidos graxos na reprodução, sobretudo, de garanhões. A adição de ácidos graxos na alimentação de equinos permite a redução da utilização de concentrados, melhora o estado geral e acredita-se que melhore os parâmetros reprodutivos. Desde a década de 80 quando os sais cárnicos de ácidos graxos foram desenvolvidos pelo Dr. Palmquist ainda se está à procura de responder às diversas perguntas que surgem a respeito de sua eficiência.

Os ácidos graxos (AGs) são o principal componente da gordura dietética. Os animais não podem sintetizar AG devido à falta de dessaturases e elongases relacionadas (AITKEN et al., 2006). Portanto, esses animais devem obter AGs ou seus precursores da dieta (ESMAEILI et al., 2015), pois são essenciais para muitos processos, incluindo crescimento, reprodução, visão e desenvolvimento do cérebro (ABAYASEKARA; WATHES 1999).

Pode-se observar que a ingestão adequada de AGs na dieta desempenha um papel importante na manutenção de sua composição em espermatozoides e na capacidade reprodutiva (DA et al., 2021). Os ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 (PUFAs ômega-3) e os ácidos graxos ômega-poliinsaturados (PUFAs ômega-6) são essenciais para múltiplas funções no corpo, incluindo a síntese de prostaglandinas, leucotrienos, membranas celulares, fosfolipídios, fotorreceptores retinianos (visão), substância cinzenta (tecido cerebral), testículos e espermatozoides (BURNS-WHITEMORE et al., 2019)). Também é relatado que os PUFAs dietéticos podem regular a secreção de hormônios esteróides (YAN et al., 2013).

Os AGs são importantes no esperma masculino porque estão associados à fluidez da membrana, reação acrossônica, motilidade e viabilidade espermática (DIAZ et al., 2013). Os ácidos graxos nas membranas espermáticas desempenham um papel importante na estrutura e função dos espermatozoides (COLLODEL et al., 2018) e são necessários para facilitar os eventos de fusão da membrana associados à fertilização (SANTOS et al., 2019; VINOGRADOV et al., 2019). Entre eles, os PUFAs podem penetrar na membrana das células espermáticas, melhorar a escalabilidade da membrana plasmática do esperma, manter sua integridade estrutural e funcional, aumentar a resistência osmótica da membrana acrossônica e fornecer proteção contra alterações fisiológicas ou térmicas durante a criopreservação (SILVA; GADELLA 2006; STRZEZEK et al., 2004). Numerosos estudos relataram que a adição de níveis apropriados de PUFAs ao extensor de sêmen pode melhorar

a capacidade antioxidante do esperma e a integridade do DNA (KIERNAN et al., 2013) e reduzir os níveis de estresse oxidativo (HUAN et al., 2016).

Por outro lado, a composição dos AGs no esperma pode variar de acordo com a espécie. No garanhão, o espermatozoide contém altos níveis de ácido docosapentaenoíco (DPA), representando em média o 49,9%, seguido pelo ácido palmítico (PA) e ácido esteárico (SA), representando o 17,6 e 8,7%, respectivamente, (MACIAS et al., 2011). Os AGs predominantes do plasma seminal de cães foram C16: 0 (30,4%), C18: 0 (23,4%) e C18: 1n9 (9,0%) (DIAZ et al., 2014).

No esperma de macho, os ácidos graxos saturados (SFAs) mais abundantes foram C16: 0 (18%) e C18: 0 (16%), e os AGs mais abundantes foram DPA (15%) e ácido docosahexaenoíco (DHA) (16%) (WATERHOUSE et al., 2006). Os PUFAs representam quase 60% do total de FAs em espermatozoides de mamíferos (LI et al., 2017); em particular, as células testiculares e os espermatozoides contêm grandes quantidades de PUFAs, que são considerados os principais constituintes dos fosfolipídios dos espermatozoides (ALIZADEH et al., 2014). Pode-se observar que a regulação da composição dos AGs de espermatozoides de diferentes espécies é de grande importância para melhorar a qualidade do sêmen no futuro.

A proporção de PUFAs ômega-6/ômega-3 no esperma está relacionada à qualidade do sêmen. Para melhorar a fertilidade masculina e por razões econômicas, estudos futuros devem se concentrar na análise da composição dos AGs espermáticos e explorar seu papel na regulação do diluente e das dietas sobre a qualidade do sêmen (YUAN et al., 2023).

Yuan e colaboradores em 2023 concluíram que a composição de AGs de dietas e suplementos afeta o metabolismo espermático, e a análise de seu perfil no sêmen será um indicador importante para identificar a fertilidade espermática. Neste momento, os AGs têm efeitos variados nas propriedades do sêmen, que podem ser afetadas por suas espécies, espécies animais, métodos de tratamento e dosagem.

Naz e colaboradores em 2022 afirmaram que a suplementação dietética com AGs e cálcio pode ser uma opção para regulação da fertilidade masculina.

## 2 JUSTIFICATIVA

O rebanho de cria no Brasil alimenta-se basicamente de pastagens nativas, e ração comercial, porém garanhões em cobertura exigem um maior cuidado nutricional os quais estão sujeitos às oscilações nas suas necessidades nutricionais e com isso, dificilmente, obtém-se boa produtividade, devido principalmente à deficiência de nutrientes, havendo necessidade de suplementação para explorar o máximo o potencial genético dos animais.

Alimentação de boa qualidade é primordial para o sucesso reprodutivo, sendo que um dos principais momentos de fornecer alimentos de qualidade para favorecer um bom desempenho reprodutivo no garanhão é durante sua campanha de cobertura.

A inclusão de gordura na dieta dos garanhões visa primeiramente, aumentar a densidade energética da dieta, uma vez que, esta apresenta alto valor energético (2,25 vezes mais energética do que carboidratos) melhorando o balanço energético e aumentando seu desempenho reprodutivo. Estudos demonstram que a suplementação de garanhões com PUFA's melhora a qualidade seminal e incrementa os precursores de hormônios necessários para os processos reprodutivos (ARLAS, 2008). Além disso, os benefícios da suplementação com gordura vão além da sua contribuição energética, pois esta atua em importantes tecidos como hipotálamo, adenóhipófise, ovário e útero, resultando em aumento dos precursores de hormônios esteróides reprodutivos, como a progesterona (Mattos et al., 2000). Assim, estratégias de manejo e inclusão de tecnologias que melhorem a atividade reprodutiva do macho repercutirão na melhoria das taxas de prenhes que dependem de um arranjo nas práticas de manejo e melhores condições nutricionais.

Desta maneira, torna-se muito importante avaliar os possíveis benefícios da suplementação com ácidos graxos sobre a qualidade seminal de garanhões.

### **3 OBJETIVO**

Os objetivos desse trabalho são os de avaliar os efeitos da suplementação diária com sais cálcicos de ácidos graxos do óleo de palma (*Elaeis guineenses* e *Elaeis oleifera*) na qualidade espermática de garanhões, relacionar o perfil de ácidos graxos e demais componentes do óleo de palma com a melhoria da qualidade espermática, verificar as concentrações séricas de colesterol total, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e triglicerídeos, e as concentrações plasmáticas de testosterona, estradiol e cortisol dos animais suplementados.

### **4 REFERÊNCIAL TEÓRICO**

Encontrados em lipídios e óleos naturais os ácidos graxos são ácidos carboxílicos alifáticos de cadeias longas, eles podem ou não apresentar ligações duplas entre as moléculas de carbono, sendo classificados como saturados e insaturados. Os saturados não possuem ligações duplas e são encontrados principalmente em alimentos de origem animal. Os insaturados, esses sim com ligações duplas, podem ser monoinsaturados (apenas uma ligação dupla), ou poli-insaturados (mais de uma ligação dupla). Os ácidos graxos são também classificados como ácidos graxos essenciais (AGE), que

não são sintetizados pelo organismo (ácidos linolênico, linoleico e o araquidônico) e não essenciais que são sintetizados pelo organismo (MORGADO e GALZERANO, 2006). São poli-insaturados e considerados como ácidos graxos essenciais pelo fato do organismo animal não conseguir sintetizá-los. O ácido linoleico (ômega 6) é essencial nutricionalmente e o linolênico (ômega 3) metabolicamente, pois este pode ser produzido no organismo a partir do linoleico. O ácido araquidônico é sintetizado a partir do ácido linolênico (PALQUIST e MATTOS, 2006).

Em todas as espécies, os fosfolipídios são os principais componentes lipídicos dos espermatozoides, caracterizados por conter grandes quantidades de ácidos graxos poli-insaturados – PUFA's, o que sugere que a composição de lipídios e ácidos graxos dos espermatozoides pode ser um fator determinante das taxas de fertilidade (MARTIN RILLO et al., 1996).

Estudos demonstram que a suplementação de garanhões com PUFA's melhora a qualidade seminal e incrementa os precursores de hormônios necessários para os processos reprodutivos (ARLAS, 2008).

Em touros, os PUFA's podem melhorar a integridade e viabilidade da membrana espermática, além disso, Kelso e colaboradores em 1997, encontraram diminuição das concentrações de ácidos graxos poli-insaturados no plasma seminal com o envelhecimento dos indivíduos.

Em ruminantes, sabe-se que as gorduras protegidas são excelentes fontes de energia e que a proveniente do óleo de Palma (*Elaeis guineenses* e *Elaeis oleifera*), segundo pesquisas, tem se mostrado superior à de Soja por seu menor teor de ácidos graxos poli-insaturados e baixo pKa, o que proporciona uma maior biodisponibilidade (NFT ALLIANCE, 2012).

Estudos realizados por Hernández et al. (2013) em touros suplementados com sais cárnicos de ácidos graxos demonstraram uma melhora significativa na qualidade espermática, principalmente na integridade de acrossoma e membrana espermática pós descongelamento.

O colesterol desempenha indispensável papel na permeabilidade da membrana plasmática (YAGLE, 1985), nos espermatozoides o influxo de colesterol da membrana plasmática é o primeiro passo para o início do processo de capacitação (SEKI et al., 1992).

Os andrógenos produzidos nos testículos, principalmente a testosterona, são compostos asteroidais provenientes do colesterol e controlam os caracteres secundários e a espermatogênese (GONZALES e SILVA, 2006).

A testosterona é sintetizada a partir do colesterol por uma sequência de cadeias enzimáticas dentro das células de Leydig, localizadas no interstício do testículo maduro. O colesterol utilizado para a síntese de testosterona pode ser obtido pelas células de Leydig por síntese "DE NOVO", predominantemente, através de ésteres de colesterol armazenados na matriz intracelular ou a partir de

lipoproteínas de baixa densidade (LDL), colesterol extracelular (KNOBIL e NEILL, 1988). A secreção testicular de testosterona é modulada, principalmente, pelo hormônio luteinizante e a conversão de colesterol em pregnolona na mitocôndria das células de Leydig é feita pelo complexo enzimático de clivagem da cadeia de colesterol do citocromo P450, localizado na membrana mitocondrial (VERMEULEN, 1990).

Wallach e colaboradores, (1983) propuseram que baixas concentrações de estrógenos circulantes estariam ligadas com a libido reduzida em garanhões e Thompson e colaboradores, (1980) em seu experimento obtiveram a restauração da libido em cavalos castrados após administração exógena de estrogênio.

Vários estudos têm demonstrado que o estrogênio pode muito bem ter um papel importante na reprodução de machos (HESS et al., 1997; ABNEY, 1999; CARREAU et al., 1999). O estrogênio parece também desempenhar algum papel no desenvolvimento das células de Leydig e na modulação da esteroidogênese (ABNEY, 1999).

Nogueira e Barnabe (1997) dosaram cortisol em grupos de equinos separados em diferentes idades. Nos animais mais velhos detectaram uma diferença estatisticamente significativa, o que os levou a concluir que o estresse prolongado pode resultar em uma redução da liberação de corticotropina pela hipófise. A secreção de opioides endógenos pode também levar a uma redução no cortisol sérico.

Selye (1939) sugeriu uma relação entre os hormônios do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HPA), que são liberados durante o estresse, e os hormônios do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HPG). O estresse é acompanhado por um aumento na atividade do eixo HPA e por uma redução das funções reprodutivas (fenômeno que atribuiu à necessidade de preservação da função do córtex adrenal em detrimento da função gonadal, em casos de emergência).

Bruss em 1980 descreve os valores médios de colesterol total e de triglicerídeos plasmáticos para os equinos, respectivamente, entre 75 a 150 mg/dL e de 4 a 44 mg/dL. Yamamoto, Tanaka e Sugano (1979) descreveram que os valores médios totais de LDL variam entre 24,63 e 38,87 mg/dL, HDL entre 52,20 e 62,26 mg/dL e VLDL entre 0,77 a 3,09 mg/dL. Watson e Packard (1999), discordando de Yamamoto et al. relatam valores médios totais de LDL entre 15,47 e 31,71 mg/dL e de HDL entre 44,8 e 58,78 mg/dL.

A gordura protegida DE PALMA possui alta digestibilidade e, portanto, alto valor energético. Por ser relativamente inerte em nível de estômago, possui alta densidade energética sem afetar a utilização da fibra (FERREIRA et al., 2009). Assim, a suplementação com lipídios se mostra como uma excelente prática nutricional. Os lipídios são 2,25 vezes mais energéticos que os carboidratos,

além de possuir um menor incremento calórico em relação aos mesmos e proteínas, se tornando ótima opção alimentar para os períodos mais quentes do ano (NOBRE et al., 2013).

O óleo de palma (*Elaeis guineenses* e *Elaeis oleifera*) possui entre 45,0 e 57,0% de ácidos graxos insaturados em sua composição, sendo que a distribuição entre os três principais ácidos graxos insaturados está entre 36,0 a 44,0% para o ácido oleico (ômega-9), 9,0 a 12,0% para o ácido linoleico (ômega-6) e 0,0 a 0,5% para o ácido linolênico (ômega-3). Entre os ácidos graxos saturados, contém de 39,0 a 47,0% de ácido palmítico e 3,5 a 6,0% de ácido esteárico.

Os sais cárnicos de ácidos graxos do óleo de palma possuem em sua composição 0,4% de Esqualeno, 0,3% de Vitamina E e 150 ppm de Gama Orizanol por Kg (FAO e OMS, 1999).

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

As coletas de sêmen e os tratamentos foram realizados em dois haras com distância entre si de aproximadamente 1 Km, na região de Natividade-RJ (-21.067512, -41.967442) no período entre junho e agosto de 2014.

Foram utilizados 12 garanhões Mangalarga Marchador de idades entre 5 e 12 anos, com peso inicial entre 350 e 400 Kg, alojados em baias individuais com área de 12 m<sup>2</sup> e piquetes anexos entre 15 e 20 m<sup>2</sup>.

A dieta dos animais foi formulada de modo a atender as exigências nutricionais de manutenção (NRC, 2007) e composta de Capim Elefante picado e concentrado comercial a base de farelo de soja, milho moído, arroz, premix vitamínico e mineral. O consumo de matéria seca foi de 2% do peso vivo na proporção de 40% de concentrado e 60% de volumoso. Suplemento mineral e água ad libitum.

Os animais foram divididos em dois grupos de seis animais sendo oito animais no Haras 1 e 4 animais no Haras 2: Grupo A, controle sem suplementação, composto de 4 animais do Haras 1 e 2 animais do Haras 2 e Grupo B tratamento, composto de 4 animais do Haras 1 e 2 animais do Haras 2 suplementados com 300 g de gordura de palma por dia. As suplementações foram adicionadas ao concentrado em duas porções diárias de 150 g.

Para análise da qualidade espermática (volume, motilidade, vigor, concentração, teste hiposmótico e morfologia espermáticas), bioquímica sérica e concentrações plasmáticas de testosterona, estradiol e cortisol foram realizadas coletas de sêmen e sangue a cada 15 dias, durante o período experimental de 60 dias, completando 5 (cinco) momentos de amostragem a partir do dia zero.

Previamente à colheita, foi realizada higienização do pênis com algodão umedecido em água a uma temperatura média de 33 °C. Foi utilizada vagina artificial modelo Colorado, com temperatura interna de 42 °C, e “équa manequim” devidamente contida e em estro. Após a colheita, o sêmen foi

encaminhado imediatamente para o laboratório, onde foi efetuada a filtragem para separação da fração gelatinosa, mensuração do volume, cálculo da concentração espermática, avaliação da motilidade total e separação de amostra em formol salino tamponado para avaliação posterior das características morfológicas.

Para análise de testosterona, estradiol, cortisol e lipídeos foram colhidas amostras sanguíneas a cada 15 dias, nas mesmas datas de colheita seminal, sempre antes da refeição matutina. As colheitas foram realizadas através de punção da veia jugular, em tubos com sistema de vácuo (Vacutainer, BD®), com e sem anticoagulante, com capacidade para 10 mL.

As análises imediatas foram realizadas no local das coletas e as demais análises no Setor de Biotecnologia do Sêmen do Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal (LRMGA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense, Darcy Ribeiro – UENF, em Campos dos Goytacazes.

As análises estatísticas consistiram na obtenção das médias e erros-padrão de todas as variáveis analisadas (motilidade progressiva; vigor; volume/ml; concentração; total sptz; teste hiposmótico; defeitos totais; defeitos maiores; defeitos menores; cortisol; testosterona; estradiol; colesterol total; HDL; LDL; VLDL; triglicerídeos) para cada tratamento (controle e suplementado) e por dia (0, 15, 30, 45 e 60).

As médias dos tratamentos para cada dia foram comparadas pelo teste t de Student, adotando-se o nível de 5% de significância, sendo as análises realizadas no Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG, versão 9.1).

## 6 RESULTADOS

A Tabela 1 a seguir apresenta os valores médios dos parâmetros espermáticos em cada momento experimental.

Tabela 1 – Resultados dos valores médios da qualidade espermática (motilidade progressiva, vigor, volume, concentração, total de espermatozoides, defeitos totais, defeitos maiores e defeitos menores) obtidos nos cinco períodos experimentais (D0, D15, D30, D45 e D60) para os grupos de garanhões Controle (C) e Suplementados (S).

Parâmetros	D0		D15		D30		D45		D60	
	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S
Motilidade (%)	65,80	73,00	67,50	80,80	75,00	72,50	76,70	73,30	60,80	81,00
Vigor (1-5)	3,67	4,00	3,33	4,17	4,00	3,67	3,33	3,83	3,00	4,40
Volume (mL)	42,70	25,40	28,20	31,50	40,30	27,80	40,70	29,00	43,00	13,60
Concentração ( $\times 10^6$ sptz./mL)	133,8	152,5	208,8	175,3	202,6	172,5	166,0	146,0	124,3	236,0
Total de sptz. ( $\times 10^9$ )	3,50	2,62	3,77	3,73	5,41	2,91	3,28	3,24	2,2	2,39
Teste hiposmótico (%)	75,80	68,70	71,90	70,20	75,30	78,20	75,20	78,40	75,20	82,50
Defeitos totais (%)	19,70	26,40	20,80	24,00	20,00	25,80	18,40	25,10	22,50	22,60

Defeitos maiores (%)	14,80	13,60	15,50	13,00	15,80	14,20	13,40	13,00	16,20	12,60
Defeitos menores (%)	4,90	12,80	5,30	11,00	5,10	11,80	5,00	12,10	6,30	10,00

Fonte: Elaborado pelos autores

Não houve resultado significativo para motilidade progressiva, porém foi observada tendência de aumento de 7,8% e 8 % desse parâmetro nos momentos D15 e D60 no sêmen dos animais suplementados se comparados com o momento D0 dos mesmos. Fazendo a mesma comparação com o D30 e o D45 não observa-se alterações. Comparando-se a diferença percentual entre os valores de motilidade dos animais controle e suplementados nos momentos D0 e D60, encontramos as diferenças de 7,2% e 20,2% respectivamente, concordando com os dados obtidos por Arlas, (2008) que observou aumento na motilidade progressiva em sêmen fresco de garanhões não suplementados com óleo de arroz comparados com animais suplementados, 52% contra 69%, respectivamente onde a diferença ficou em 17%.

O Vigor espermático manteve-se dentro dos valores de referência não havendo significância estatística para os tratamentos Controle e Suplementado. Verifica-se que o comportamento do vigor se assemelha ao comportamento da motilidade progressiva no decorrer do experimento, uma vez que os valores vão melhorando, com exceção no D30. Segundo Papa (1987), na espécie equina o vigor espermático não é comumente utilizado por pesquisadores como parâmetro para avaliar a qualidade seminal.

Ao avaliar as médias do parâmetro Volume observa-se uma tendência a diferença entre os tratamentos, não havendo, entretanto diferença estatística( $P=0,08$ ).

Foi observado resultado significativo ( $P=0,02$ ) para concentração espermática com aumento do referido parâmetro para o grupo de animais suplementados com a gordura de palma no último dia do tratamento. A concentração espermática no momento D60 foi de  $236 \times 10^6$  sptz/mL para o grupo suplementado e de  $124,3 \times 10^6$  sptz/mL para o grupo controle. Arlas (2008) encontrou resultado semelhante ao suplementar garanhões com óleo de arroz por 80 dias ( $226 \times 10^6$  sptz/mL).

Devido a concentração significativamente maior para o grupo suplementado no D60, não houve alteração significativa no total de espermatozoides com movimentos progressivos nos grupos analisados uma vez que esta característica resulta da multiplicação da concentração de sptz pelo volume seminal.

Com relação ao Teste Hiposmótico, embora não tenha havido resultado significativo ( $P=0,06$ ), observou-se uma tendência de melhoria desse parâmetro ao longo do tratamento nos animais suplementados sendo o maior valor encontrado, no fim do tratamento (82,5% de sptz com membranas

funcionais). O índice percentual de melhoria da funcionalidade da membrana durante o experimento, calculado pela diferença entre o D0 (68,7%) e o D60 (82,5%) foi de 13,8%.

Não foram observadas alterações significativas na morfologia espermática embora desde o D0 o grupo Suplementado tenha apresentado valores de Defeitos Menores superiores ao grupo Controle. Comparando o D0 com o D60, verifica-se que o grupo controle aumentou os percentuais de defeitos maiores e menores, enquanto que o grupo suplementado decresceu sensivelmente.

Os valores plasmáticos médios referentes aos hormônios esteroides pesquisados em cada momento experimental estão discriminados na Tabela 2.

Tabela 2 – Resultados das médias obtidas nos cinco períodos experimentais (D0, D15, D30, D45 e D60) das concentrações plasmáticas dos hormônios esteroides (cortisol, testosterona e estradiol) nos grupos de garanhões Controle (C) e Suplementados (S).

Hormônios	D0		D15		D30		D45		D60	
	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S
Cortisol	19,80	17,40	17,70	16,10	18,70	15,90	13,30	16,60	16,70	13,80
Testosterona	0,61	0,74	0,48	0,69	0,61	0,41	0,68	0,59	0,57	0,85
Estradiol	312,9	243,9	338,4	249,9	417,8	340,3	331,0	264,3	396,5	367,1

Fonte: Elaborado pelos autores

A suplementação com gordura de Palma pelo período de 60 dias não foi capaz de alterar significativamente a produção de hormônios esteroides, concordando com experimentos semelhantes, com fontes diferentes de PUFAs, com garanhões (ARLAS, 2008), (GONZAGA, 2008) e com touros (HERNANDÉZ et al., 2013). Com base na comparação entre os grupos controle e suplementados nos períodos D0 e D60 verificam-se queda no valor do cortisol, aumento da testosterona e do estradiol nos dois grupos respectivamente.

Os Lipídeos Plasmáticos mantiveram-se dentro dos valores de referência mas verificou-se um aumento gradativo nas concentrações de LDL ( $P=0,09$ ) ao longo do tratamento nos animais suplementados. A Tabela 3 apresenta as médias dos tratamentos obtidas nos cinco períodos experimentais (D0, D15, D30, D45 e D60) das concentrações de lipídios plasmáticos (colesterol, HDL, LDL, VLDL e triglicerídeos) nos grupos de garanhões Controle (C) e Suplementados (S).

Tabela 3 – Resultados das médias obtidas nos cinco períodos experimentais (D0, D15, D30, D45 e D60) das concentrações de lipídios plasmáticos (colesterol, HDL, LDL, VLDL e triglicerídeos) nos grupos de garanhões Controle (C) e Suplementados (S).

Lipídeos	D0		D15		D30		D45		D60	
	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S
Colesterol	81,70	81,90	80,20	82,70	82,10	85,10	81,70	85,70	81,60	86,20
HDL	63,50	62,90	62,10	64,00	62,60	64,40	64,10	64,70	64,80	64,30
LDL	14,20	15,40	14,20	14,80	15,50	16,70	13,70	17,10	12,90	17,80
VLDL	3,95	3,62	3,90	3,88	3,95	4,00	3,96	3,89	3,93	4,14
Triglicerídeos	19,80	18,10	19,50	19,40	19,70	20,00	19,80	19,40	19,60	20,70

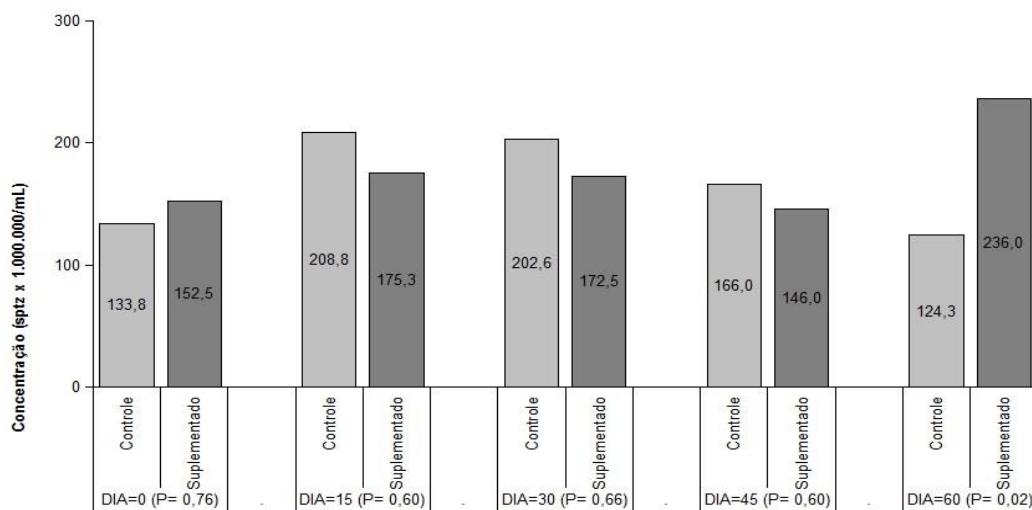
Fonte: Elaborado pelos autores

Constata-se que no grupo suplementado todos os valores de lipídeos plasmáticos são maiores do que no D0, o que não se verifica no grupo controle.

## 7 DISCUSSÃO

Os resultados observados durante a suplementação oral de garanhões com Sais Cálcicos de Ácidos Graxos do óleo de Palma no presente estudo mostraram que houve aumento significativo ( $P=0,02$ ) na concentração espermática dos animais suplementados (TABELA 1). Porém como o volume foi menor, de forma geral, do que o grupo controle, o número de espermatozoides foi semelhante entre os grupos controle e suplementado. Analisando a Figura 1, que mostra o gráfico com os valores de Concentração observados no experimento, podemos notar que não há uma tendência de aumento ao longo dos momentos experimentais, o que se observa é um aumento significativo do grupo suplementado no momento D60. Experimentos realizados por Brinsko et al. (2005) e Harris et al. (2005), suplementando garanhões com nutracêuticos com altos níveis de n-3 observaram um aumento de aproximadamente 1,8 vezes na concentração espermática dos grupos suplementados em relação aos grupos não suplementados. O óleo de Palma, na forma que foi oferecida no presente trabalho, forneceu cerca de 1,5g de n-3 por dia ao passo que no experimento de Brinsko foram fornecidas 85g e de Harris 29,1g de n-3 diárias. Rocha et al. (2008) concluíram em experimento com cães que a suplementação com ômega 3 (7,2 mg/Kg), ômega 6 (25 mg/Kg), ômega 9 (10,1 mg/Kg) e Vitamina E (1 UI/Kg) por um período de 60 dias, aumenta significativamente a qualidade do sêmen canino, uma vez que aumentou o volume seminal, a concentração e vigor espermáticos e diminuiu a quantidade de espermatozoides anormais. No presente experimento verificam-se valores menores, em geral, para o grupo suplementado em relação ao volume, valores maiores para a concentração espermática e vigor, desde o princípio do tratamento, durante todo o período os valores de espermatozoides anormais foram diminuindo no grupo suplementado.

Figura 1. Gráfico com as médias dos valores da concentração espermática obtidas nos períodos experimentais (0, 15, 30, 45 e 60 dias) dos grupos de garanhões Controle e Suplementadas e os valores da probabilidade estatística (P) onde,  $P<0,05$  representa significância ao nível de 5% de probabilidade.



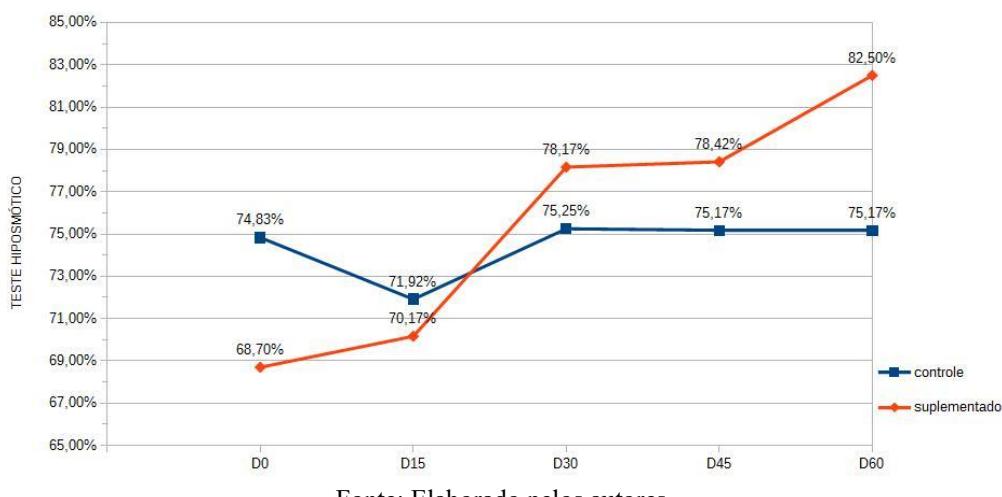
Fonte: Elaborado pelos autores

O perfil de ácidos graxos da membrana plasmática é de vital importância para a fertilidade do macho uma vez que determina a integridade e funcionalidade da membrana plasmática (ZERON et al, 2002). Os fosfolipídios das membranas espermáticas dos mamíferos contêm proporções elevadas de ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa (C:22), especialmente os da série ômega 3 (DOLATPANAH et al., 2008). A quantidade de PUFAs consumida pelos animais determina diferentes proporções dos mesmos na composição da membrana espermática (MALDJIAN et al., 2005), portanto, nesse sentido, é esperado que a suplementação com ácidos graxos essenciais exerça influência sobre praticamente todos os parâmetros espermáticos, principalmente os que dependem da integridade e da funcionalidade da membra espermática como a concentração espermática, a motilidade, o vigor e a porcentagem de espermatozoides anormais, uma vez que as alterações nas concentrações sanguíneas de ácidos graxos influencia diretamente na quantidade e qualidade dos ácidos graxos da membrana espermática afetando sua composição e fluidez.

Considerando que o Total de Espermatozoides com movimentos progressivos não se alterou ao longo do experimento pode-se concluir que houve um incremento na concentração espermática pela diminuição dos líquidos espermáticos no grupo Suplementado no D60 sem prejuízo da parte rica em espermatozoides. O volume seminal pode variar de 20 a 100mL (Papa et al. 2014) e segundo Hafez e Hafez (2004) diversos fatores como raça, particularidades individuais, tempo após a última cobertura, idade, tempo de repouso sexual, época do ano, manejo e outros podem ser responsáveis por essa variação.

A Figura 2 mostra o Gráfico com dados obtidos no Teste Hiposmótico utilizado para avaliar a funcionalidade da membrana plasmática dos espermatozoides. Nota-se que a funcionalidade da membrana espermática vai melhorando ao longo do experimento no Grupo Suplementado, aproximando-se do nível de significância ( $P=0,06$ ).

Figura 2. Gráfico mostrando os resultados das médias observadas nos períodos experimentais (D0, D15, D30, D45 e D60) para o Teste Hiposmótico evidenciando a resposta positiva do grupo suplementado ao logo do tempo ( $P=0,06$ ).



Fonte: Elaborado pelos autores

Acredita-se que a inclusão de sais cárnicos de ácidos graxos do óleo de Palma na dieta dos garanhões no presente experimento influenciou na reação positiva dos espermatozoides ao Teste Hiposmótico, por induzir mudanças no perfil de ácidos graxos da membrana espermática e, que o mecanismo antioxidante de alguns compostos presentes no suplemento utilizado, como o Esqualeno (4 mg/Kg) e a Vitamina E (2 UI/Kg), também tenham colaborado efetivamente para tal efeito. Kohno et al. (1995) e Ko et al. (2002) relacionaram a ação antioxidante do Esqualeno com reações de sequestro de oxigênio singlete e de radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil. A vitamina E exerce efeito protetor sobre a integridade da membrana espermática (YOUSEF et al., 2003), uma vez que a fluidez da membrana é determinante para as funções celulares normais. Esta característica é, sobretudo, dependente da constituição lipídica e do grau de instauração dos ácidos graxos polinsaturados. Segundo Melo Filho et al. (1983), a peroxidação lipídica ocorre principalmente na membrana celular acarretando alterações na sua estrutura e permeabilidade.

Os lipídeos plasmáticos não se alteraram significativamente ao longo do experimento, mantendo-se dentro dos valores de referência mas houve uma aparente tendência ao aumento do LDL ao longo do período experimental (Figura 3). Arlas, (2008) observou aumento significativo das concentrações de Colesterol total e de HDL suplementando garanhões com óleo de arroz semi-refinado com alto teor de gama oryzanol. Silva, (2012) concluiu em experimento com touros

suplementados que a dieta enriquecida com óleo de palma causou elevação nas taxas séricas de lipídeos totais, colesterol e HDL, sem, contudo, influenciar os níveis de triglicerídeos, LDL e VLDL. Provavelmente não se verificou no presente experimento o aumento da concentração desses parâmetros em função da quantidade fornecida aos animais e da composição do suplemento, no entanto, de modo geral, os animais suplementados apresentaram melhora sensível no estado físico geral e ganho de peso ao final do experimento.

## 8 CONCLUSÃO

Conclui-se que a suplementação diária com sais cárnicos de ácidos graxos do óleo de palma aumentou a concentração espermática no final do experimento e não mostrou diferença nas demais características analisadas de forma estatisticamente assegurada.

## REFERÊNCIAS

ABAYASEKARA, D.R.; WATHES, D.C. Effects of altering dietary fatty acid composition on prostaglandin synthesis and fertility. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 61, p. 275–87, 1999. Acessado em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0952327899901011> doi: 10.1054/plef.1999.0101

ABNEY, T.O. The potential roles of estrogens in regulating Leydig cell development and function: a review. **Steroids**, v. 64, p. 610–617, 1999. Acessado em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039128X99000410>,

AITKEN, R.J.; WINGATE, J.K.; DE IULIIS, G.N.; KOPPERS, A.J.; MCLAUGHLIN, E.A. Cis-unsaturated fatty acids stimulate reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in human spermatozoa. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 91, p. 4154–63, 2006. Acessado em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16895947/>, doi: 10.1210/jc.2006-1309

ALIZADEH, A.; ESMAEILI, V.; SHAHVERDI, A.; RASHIDI, L. Dietary fish oil can change sperm parameters and fatty acid profiles of ram sperm during oil consumption period and after removal of oil source. **Cell J.**, v. 16, p. 289–98, 2014. Acessado em: [https://www.researchgate.net/publication/260647553\\_Dietary\\_Fish\\_Oil\\_Can\\_Change\\_Sperm\\_Parameters\\_and\\_Fatty\\_Acid\\_Profiles\\_of\\_Ram%27s\\_Sperm\\_during\\_Oil\\_Consumption\\_Period\\_and\\_After\\_Remove\\_Oil\\_Source](https://www.researchgate.net/publication/260647553_Dietary_Fish_Oil_Can_Change_Sperm_Parameters_and_Fatty_Acid_Profiles_of_Ram%27s_Sperm_during_Oil_Consumption_Period_and_After_Remove_Oil_Source),

ARLAS, T. M.; PEDERZOLLI, C. D.; TERRACIANO, P. B.; TREIN, C. R.; BUSTAMANTE-FILHO, I. C.; CASTRO, F. S.; MATTOS, R. C. Sperm quality is improved feeding stallions with a rice oil supplement. **Animal Reproduction Science**, v. 107, n. 3-4, p. 206, 2008. Acessado em: [https://www.researchgate.net/publication/248186900\\_Sperm\\_quality\\_is\\_improved\\_feeding\\_stallions\\_with\\_a\\_rice\\_oil\\_supplement](https://www.researchgate.net/publication/248186900_Sperm_quality_is_improved_feeding_stallions_with_a_rice_oil_supplement),

BRINSKO, S.P.; VARNER, D.D.; LOVE, C.C.; BLANCHARD, T.L.; DAY, B.C.; WILSON, M.E. Effect of feeding a DHA-enriched nutraceutical on the quality of fresh, cooled and frozen stallion semen. **Theriogenology**, v.63, p.1519-1527, 2005. Acesso em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15725455/>,

BRUSS, M. L. Lipids and ketones. In KANEKO, J. J. (Ed.). Clinical biochemistry of domestic animals. **New York: Academic Press**, p. 83-905, 1980. Acessado em: <https://www.sciencedirect.com/book/9780123704917/clinical-biochemistry-of-domestic-animals>,

BURNS-WHITMORE, B.; FROYEN, E.; HESKEY, C.; PARKER, T.; SAN, P.G. Alpha-linolenic and linoleic fatty acids in the vegan diet: do they require dietary reference intake/adequate intake special consideration? **Nutrients**, v. 11, p. 2365, 2019. Acessado em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31590264/>, doi: 10.3390/nu11102365

CARREAU, S., GENESSEL, C., BILINSKA, B., LEVALLET, J. Topical review: sources of estrogen in the testis and reproductive tract of the male. **J. Androl.**, v. 22, p. 211–223, 1999. Acessado em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10442293/>

COLEGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – CBRA. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3. ed. Belo Horizonte: CBRA, p. 45, 2013. Acessado em: <http://cbra.org.br/br/publicacoes/manual-de-exame-andrologico/>

COLLODEL, G.; MORETTI, E.; LONGINI, M.; PASCARELLI, N.A.; SIGNORINI, C. Increased F2-Isoprostanate levels in semen and Immunolocalization of the 8-Iso prostaglandin F2alpha in spermatozoa from infertile patients with varicocele. **Oxidative Med Cell Longev.** p. 7508014, 2018. Acessado em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29682163/>, doi: 10.1155/2018/7508014

DIAZ, R.; TORRES, M.A.; BRAVO, S.; SANCHEZ, R.; SEPULVEDA, N. Determination of fatty acid profile in ram spermatozoa and seminal plasma. **Andrologia.** V. 48, P. 723–6, 2016. Acessado em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26707342/>, doi: 10.1111/and.12506

DIAZ, R.; INOSTROZA, K.; RISOPATRON, J.; SANCHEZ, R.; SEPULVEDA, N. Identification of fatty acids in canine seminal plasma. **Andrologia.** V. 46, p. 194–7, 2014. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23398451/>, doi: 10.1111/and.12070

DOLATPANAH, M.B. et al. Effects of dietary fish oil on semen quality of goats. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.21, n.1, p.29-34, 2008. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/264144366\\_Effects\\_of\\_Dietary\\_Fish\\_Oil\\_on\\_Semen\\_Quality\\_of\\_Goats](https://www.researchgate.net/publication/264144366_Effects_of_Dietary_Fish_Oil_on_Semen_Quality_of_Goats), Acessado em:

ESMAEILI, V.; SHAHVERDI, A.H.; MOGHADASIAN, M.H.; ALIZADEH, A.R. Dietary fatty acids affect semen quality: a review. **Andrology**, v. 3, p. 450–61, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25951427/>, Acesso em: 07/04/2024. doi: 10.1111/andr.12024

FAO e OMS; **Codex Alimentarius**, 1999. Disponível em <[www.codexalimentarius.org](http://www.codexalimentarius.org)>. Acesso em: 13/01/2020.

FERREIRA, C.B.; SANTOS L.A.; AGUIAR, V.A.; MEDEIROS, S.L.S. Utilização de gordura inerte na dieta de ruminantes. **II Semana de Ciência e Tecnologia do IFMG campus Bambuí II Jornada Científica**. 2009. Disponível em: [https://www.bambui.ifmg.edu.br/portal/images/PDF/2023/01\\_-\\_JANEIRO/II\\_Jornada\\_Cient%C3%ADfica\\_2009.pdf](https://www.bambui.ifmg.edu.br/portal/images/PDF/2023/01_-_JANEIRO/II_Jornada_Cient%C3%ADfica_2009.pdf), Acesso em: 19/05/2024.

GONZÁLES, F. H. D.; SILVA, S. C. Introdução à bioquímica clínica veterinária. 2. ed, **Porto Alegre: UFRGS**, p. 121-139, 2006. Disponível em: [https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2022/07/Intro\\_Bioq\\_Clin\\_Vet3.ed-2017.pdf](https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2022/07/Intro_Bioq_Clin_Vet3.ed-2017.pdf), Acesso em: 23/05/2024.

HARRIS, P. A.; PAGAN, J. D.; CRANDELL, G.; DAVIDSON, N. Effect of feeding thoroughbred horses a high unsaturated or saturated vegetable oil supplemented diet for 6 months following a 10 month fat acclimation. **Equine Veterinary Journal Supplement**, v. 30, n. 4, p. 468-474, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10659301/>, Acesso em: 26/09/2024.

HERNÁNDEZ, M. M. R., PATINO, H. O., GREGORY, R. M., ANGEL, J. C., DEL RE, D., JOBIM, M. I. M., MATTOS, R. C. Suplementação de touros com sabões cálcicos de ácidos graxos poli-insaturados e qualidade seminal pré e pós-congelação. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 49, n. 6, p. 471-479, 2012. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/29551?locale-attribute=en>, Acesso em: 19/06/2024.

HESS, R.A., BUICK, D., LEE, K. H., BAHR, J., TAYLOR, J.L., KORACH, K.S., LUBAHN, D.B. A role of estrogens in the male reproductive system. **Nature**, v. 390, p. 509–512, 1997. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5719867/>, Acesso em: 27/03/2024.

HUANG, A.; ISOBE, N.; OBITSU, T.; YOSHIMURA, Y. Expression of lipases and lipid receptors in sperm storage tubules and possible role of fatty acids in sperm survival in the hen oviduct. **Theriogenology**, v. 85, p. 1334–42, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26777559/>, Acesso em 23/06/2024.

KELSO, K. A.; CEROLINI, S.; SPEAKE, B. K.; CAVALCHINI, L. G.; NOBLE, R. C. Effect of dietary supplementation with  $\alpha$  Linolenic acid on the phospholipids fatty acid composition and quality of spermatozoa in cockerel from 24 to 72 week of age. **Journal of Reproduction and Fertility, Cambridge**, v. 110, p. 53-59, 1997. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/13992976\\_Effects\\_of\\_dietary\\_supplementation\\_with\\_alpha-linolenic\\_acid\\_on\\_the\\_phospholipid\\_fatty\\_acid\\_composition\\_and\\_quality\\_of\\_spermatozoa\\_in\\_cockerel\\_from\\_24\\_to\\_72\\_weeks\\_of\\_age](https://www.researchgate.net/publication/13992976_Effects_of_dietary_supplementation_with_alpha-linolenic_acid_on_the_phospholipid_fatty_acid_composition_and_quality_of_spermatozoa_in_cockerel_from_24_to_72_weeks_of_age), Acesso em 22/09/2024.

KIERNAN, M.; FAHEY, A.G.; FAIR, S. The effect of the in vitro supplementation of exogenous long-chain fatty acids on bovine sperm cell function. **Reprod Fertil Dev**. V. 25:947–54. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23036717/>, Acesso em 03/07/2024. doi: 10.1071/RD12204

KNOBIL, E., NEILL, J. The physiology of reproduction. **New York: Raven Press**, 975-98, 1988.

KO, T. F.; WENG, Y. M.; CHIOU, Y. Y. Squalene content and antioxidant activity of Terminalia catappa leaves and seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5343-5348, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12207472/>, Acesso em: 10/11/2024.

KOHNO, Y.; EGAWA, Y.; ITOH, S.; NAGAOKA, S.; TAKAHASHI, M.; MUKAI, K. Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1256, p. 52-56, 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7742356/>, Acesso em: 14/03/2024.

LI, W.; TANG, D.; LI, F.; TIAN, H.; YUE, X.; LI, F. et al. Supplementation with dietary linseed oil during peri-puberty stimulates steroidogenesis and testis development in rams. **Theriogenology**, v. 102, p. 10–5, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28719823/>, Acesso em: 13/04/2024.

MACIAS, G.B.; GONZALEZ, F.L.; ORTEGA, F.C.; MORILLO, R.A.; GALLARDO, B.J.; RODRIGUEZ, M.H., et al. Fatty acids and plasmalogens of the phospholipids of the sperm membranes and their relation with the post-thaw quality of stallion spermatozoa. **Theriogenology**, v. 75, p. 811–8, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21144567/>, Acesso em: 23/09/2024.

MALDJIAN, A. ; PIZZI, F.; GLIOZZI, T.; CEROLINI, S.; PENNY, P.; NOBLE, R. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. **Theriogenology**, v.15, n.63, p. 411-21, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15626408/>, Acesso em: 27/08/2024.

MARTIN RILLO, S.; MARTINEZ, E.A.; ARTIGA, C.G.; ALBA, C. Boar semen evaluation in practice. **Reproduction Domestics Animal**, [S.l.], v. 31, n. 4, p. 519-526, 1996. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/286829542\\_Boar\\_semen\\_evaluation\\_in\\_practise](https://www.researchgate.net/publication/286829542_Boar_semen_evaluation_in_practise), Acesso em 08/05/2024.

MATTOS, R.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants, **Reviews of Reproduction**, v. 5, p. 38-45, 2000. Disponível em: <https://scispace.com/pdf/effects-of-dietary-fatty-acids-on-reproduction-in-ruminants-xojnvlxj69.pdf>, Acesso em: 12/05/2024.

MELLO-FILHO, A. C.; HOFFMAN, M. E.; MENEGHINI, R. M. Cell killing and DNA damage by hydrogen peroxide are mediated by intracellular iron. **Biochem J.** v. 218, p 273-275, 1983. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6712613/>, Acesso em: 07/09/2024.

MORGADO, E.; GALZERANO, L. Utilização de óleos em dietas para equinos. **Revista Eletrônica Veterinária**, v. 7, n. 10, 2006. Disponível em: [https://scholar.google.com.br/citations?view\\_op=view\\_citation&hl=pt-BR&user=rSe4ZfYAAAAJ&citation\\_for\\_view=rSe4ZfYAAAAJ:zYLM7Y9cAGgC](https://scholar.google.com.br/citations?view_op=view_citation&hl=pt-BR&user=rSe4ZfYAAAAJ&citation_for_view=rSe4ZfYAAAAJ:zYLM7Y9cAGgC), Acesso em: 29/09/2024.

NAZ, T.; CHAKRABORTY, S.; SAHA, S. Role of fatty acids and calcium in male Reproduction. **Reproductive and Developmental Medicine**, v. 6, n. 1, p. 57-64, 2022. [https://journals.lww.com/RDM/Fulltext/2022/03000/Role\\_of\\_fatty\\_acids\\_and\\_calcium\\_in\\_male.10.aspx](https://journals.lww.com/RDM/Fulltext/2022/03000/Role_of_fatty_acids_and_calcium_in_male.10.aspx)

NOBRE, I. S; SOUZA, B.B.; MARQUES, B.A.A.; BATISTA, N.L.B. Efeito de diferentes níveis de concentrado e inclusão de gordura protegida na dieta sobre o desempenho produtivo e termorregulação de ovinos. **ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.9, n.2, p.14-20, 2013. Disponível em: <https://www.acsa.revistas.ufcg.edu.br/acsa/index.php/ACSA/article/view/314>, Acesso em: 18/03/2024.

NOGUEIRA, G. P.; BARNABE, R. C. Is the Thoroughbred race-horse under chronic stress? **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 30, n. 10, p. 1237-1239, 1997. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjmbr/a/hrX3Tn3gTr7yPXc59g3ccgz/?format=pdf&lang=en>, Acesso em: 09/05/2024.

PALQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELLE, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. Nutrição de ruminantes, 1.ed. **Jaboticabal: FUNEP**, 2006. cap. 10, p. 287-309.

PALQUIST, D. L.; JENKINS, T. C.; JOYNER, A. Effect of dietary fat and calcium source on insoluble soap formation in the rumen. **J Dairy Sci.** 69(4):1020-5, 1986. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3722526/>, Acesso em 04/05/2024.

PAPA, F. O.; ALVARENGA, M. A., DELL'AQUA JR, J. A.; MONTEIRO, G. A. **Manual de andrologia e manipulação de sêmen equino. Botucatu-SP**, 2014. Disponível em: <https://www.vetarq.com.br/2009/09/manual-de-andrologia-e-manipulacao-de.html>, Acesso em: 20/05/2024.

ROCHA, A. A.; CUNHA, I. C. N; EDERLI, B. B.; ALBERNAZ, A. P.; QUIRINO, C. R. Effect of daily food supplementation with essential fat acids on canine seminal quality. In: 6th International Symposium of Canine and Feline Reproduction, 2008, Viena. **6th International Symposium of Canine and Feline Reproduction**, v. 1. p. 197-198, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19754593/>, Acesso em 02/02/2024.

SANTOS, H.O.; HOWELL, S.; TEIXEIRA, F.J. Beyond tribulus (*Tribulus terrestris L.*): the effects of phytotherapics on testosterone, sperm and prostate parameters. **J Ethnopharmacol.** V. 235, p. 392-405, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874118333646>, Acesso em: 23/06/2024.

SEKI, N., TOYAMA, Y., NAGANO, T. Changes in the distribution of filipinsterol complexes in the boar sperm head plasma membrane during epididymal maturation and in the uterus. **The Anatomical Record**, v.232, p.221-230, 1992. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1546801/>, Acesso em: 10/09/2024.

SILVA, P.F.; GADELLA, B.M. Detection of damage in mammalian sperm cells. **Theriogenology**. v. 65, p. 958-78, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X0500395X>, Acesso em 19/04/2024.

SILVA, G. R. Efeito da utilização do óleo de dendê na dieta sobre a qualidade do sêmen in natura de búfalos (*Bubalus bubalis*) criados em Belém, Pará. 2012. 64 f. **Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Pará**. 2012. 41. Disponível em: <https://repositorio.ufpa.br/items/eedea18a-3379-438e-ad4c-6964e11117c3>, Acesso em 11/09/2024.

SILVEIRA, J.C.; ANDRADE, G.M.; SIMAS, R.C.; MARTINS-JUNIOR, H.A.; EBERLIN, M.N.; SMITH, L.C.; et al. Lipid profile of extracellular vesicles and their relationship with bovine oocyte developmental competence: new players in intra follicular cell communication. **Theriogenology**, v. 17, p. 1-8, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X21002648>, Acesso em: 29/06/2024.

STRZEZEK, J.; FRASER, L.; KUKLINSKA, M.; DZIEKONSKA, A.; LECEWICZ, M. Effects of dietary supplementation with polyunsaturated fatty acids and antioxidants on biochemical characteristics of boar semen. **Reprod Biol.** V. 4, p. 271-87, 2004. Disponível em: [https://www.pan.olsztyn.pl/repbiol/docs/backup/repbiol\\_vol4\\_num3\\_page271.pdf](https://www.pan.olsztyn.pl/repbiol/docs/backup/repbiol_vol4_num3_page271.pdf), Acesso em: 27/03/2024.

THOMPSON, D. L. Jr., PICKETT, B. W., SQUIRES, E. L., NETT, T. M. Sexual behavior, seminal pH and accessory sex gland weights in geldings administered testosterone and(or) 17 $\beta$ -estradiol. **J. Anim. Sci.**, v. 51, p. 1358-1340, 1980. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7204276/>, Acesso em: 09/03/2024.

VERMEULEN, A. Androgens and male senescence. In: Neischlag E, Behre HM (eds). **Testosterone: Action, Deficiency, Substitution**. Berlin: Springer-Verlag, 261-76 1990.

VINOGRADOV, I.V.; GAMIDOV, S.I.; GABLIYA, M.Y.; ZHUKOV, O.B.; OVCHINNIKOV, R.I.; MALININA, O.Y.; et al. Docosahexaenoic acid in the treatment of idiopathic male infertility. **Urologiia**. v. 1, p. 78-83, 2019. Disponível em: <https://journals.eco-vector.com/1728-2985/article/view/296462>, Acesso em: 28/09/2024.

WALLAC, S. J., PICKETT, P. W. NETT, T. M. Sexual behavior and serum concentrations of reproductive hormones in impotent stallions. **Theriogenology**, v. 19, p. 833-840, 1983.  
Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0093691X93903272>, Acesso em: 16/08/2024.

YAN, L.; BAI, X.L.; FANG, Z.F.; CHE, L.Q.; XU, S.Y.; WU, D. Effect of different dietary omega-3/omega-6 fatty acid ratios on reproduction in male rats. **Lipids Health Dis.** V. 12, P. 33, 2013.  
Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3627632/>, Acesso em: 03/04/2024.

YEAGLE, P. L. Cholesterol and the cell membrane. Biochemistry and Biophysics. **Acta**, v.822, p.267-287, 1985. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0304415785900115>, Acesso em: 25/08/2025.

YUAN, C.; WANG, J.; LU, W. Regulation of semen quality by fatty acids in diets, extender, and semen. **Front. Vet. Sci.**, v. 10, p. 1119153, 2023. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10174315/>, Acesso em: 21/05/2024.

YOUSEF, M. I.; ABDALLAH, G. A.; KAMEL, K. I. Effect of ascorbic acid and Vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. **Animal Reproduction Science**, v. 76, p. 99–111, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12559724/>, Acesso em: 21/08/2024.

WATERHOUSE, K.E.; HOFMO, P.O.; TVERDAL, A.; MILLER, R.J. Within and between breed differences in freezing tolerance and plasma membrane fatty acid composition of boar sperm. **Reproduction**. V. 131, p. 887–94, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16672353/>, Acesso em 23/08/2024.

ZERON, Y.; TOMCZAK, M.; CROWE, J.; ARAV, A. The effect of liposomes on thermotropic membrane phase transitions of bovine spermatozoa and oocytes: implications for reducing chilling sensitivity. **Cryobiology**, n.45, p.143-152, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12482380/>, Acesso em: 06/09/2024.