



MARIELE CRISTINA TELES

**CASCA DE CAFÉ COMO COBERTURA DE
PISO PARA VARRÕES**

LAVRAS - MG

2014

MARIELE CRISTINA TELES

CASCA DE CAFÉ COMO COBERTURA DE PISO PARA VARRÕES

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo

Coorientadores

Dr. Rony Antonio Ferreira

Dr. Raimundo Vicente de Sousa

LAVRAS - MG

2014

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Teles, Mariele Cristina.

Casca de café como cobertura de piso para varrões / Mariele
Cristina Teles. – Lavras : UFLA, 2014.

75 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Márcio Gilberto Zangeronimo.

Bibliografia.

1. Antioxidante. 2. Ativador metabólico. 3. Espermatozoide. 4.
Reprodução. 5. Suíno. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.408557

MARIELE CRISTINA TELES

CASCA DE CAFÉ COMO COBERTURA DE PISO PARA VARRÕES

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 13 de agosto de 2014.

Dr. Raimundo Vicente de Sousa	UFLA
Dr. Rony Antonio Ferreira	UFLA
Dra. Valeria Vânia Rodrigues	UNIFENAS

Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo
Orientador

LAVRAS - MG

2014

*À minha família, em especial a meus pais, pela
dedicação e comprometimento nesta longa caminhada*

Ofereço e dedico

AGRADECIMENTO

Agradeço em primeiro lugar a Deus por ter guiado meus caminhos até o fim desta caminhada.

Ao Meu pai José de Fatima Teles e à minha mãe Noei Maria de Carvalho Teles, pelo incentivo e apoio incondicional e por acreditarem sempre.

À minha irmã Maria Cecília, pelo carinho, amizade e apoio.

Às minhas irmãs de coração Luciana, Bárbara e Eloiza pela amizade e companheirismo de sempre.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Medicina Veterinária, pela oportunidade de realização do Mestrado.

Ao Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo, pela orientação, amizade, confiança e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Raimundo Vicente de Sousa, pela amizade e apoio.

À Fazenda São Paulo, pela disponibilização dos animais, em especial aos funcionários: Lucas Resende, Antonio Marcelo Ferreira, Alessandra Aparecida Lima, Gabriel Antonio, Rodrigo Carvalho e Paulo Henrique.

Aos integrantes do GETESE da UFLA, que tanto me apoiaram nas horas precisas. Sem o apoio de vocês nada disto teria sido possível.

RESUMO GERAL

Objetivou-se, com esse estudo, verificar a influência do uso da casca de café como cobertura de piso no comportamento e qualidade do sêmen de varrões. No primeiro experimento objetivou-se avaliar a influência do uso da casca de café como enriquecimento ambiental sobre o comportamento dos varrões. Foram utilizados dezesseis reprodutores suínos, alojados em baias individuais, com e sem cobertura de piso. O período experimental foi de 60 dias. Foram realizadas filmagens, registrando o número de vezes em que os animais estiveram comendo, bebendo, em pé, sentados, deitados e fuçando. Também, foram mensuradas as temperaturas corporais superficiais, no início e no término do experimento, além da dosagem de cortisol salivar. A cobertura do piso não influenciou as temperaturas corporais e nem os níveis de cortisol salivar. Pela manhã, o uso da cobertura diminuiu o número de vezes em que o animal esteve sentado e aumentou o número de vezes em que estiveram deitados. Pela tarde diminuiu o número de vezes em pé, sentados ou fuçando e aumentou o número de vezes deitados. Conclui-se que a cobertura de piso para varrões pode ser utilizada como enriquecimento ambiental para melhorar os padrões comportamentais dos animais. No segundo experimento objetivou-se avaliar a influência do uso da casca de café como cobertura de piso sobre a qualidade do sêmen de varrões e o desempenho reprodutivo das fêmeas. Foram utilizados dezesseis reprodutores suínos divididos em dois grupos com e sem cobertura de piso. O período experimental foi de 60 dias. Antes e após 60 dias foram realizadas avaliações seminais, antes e após 96 horas de armazenamento a 15 °C. Ao final do experimento, foram dosados os teores de cafeína e ácido clorogênico nas doses inseminantes, bem como foram avaliados o desempenho reprodutivo das fêmeas inseminadas com sêmen dos animais experimentais. Observou-se que as doses inseminantes provenientes dos animais, mantidos em baias contendo casca de café, continham 2,545µg de cafeína/100 mL, sem quantidades de ácido clorogênico. A casca de café não influenciou o volume e a concentração do sêmen *in natura*, porém piorou a motilidade espermática. Não houve diferença nos parâmetros de qualidade das doses inseminantes, com exceção da concentração de malondialdeído, que aumentou, após 96 horas de armazenamento quando a casca foi utilizada. Não houve influência da casca de café sobre a taxa de retorno ao cio e o tamanho da leitegada. Conclui-se que o uso da casca de café como cobertura de piso prejudica a qualidade do sêmen *in natura* e das doses inseminantes armazenadas por 96 horas, mas não influencia o desempenho reprodutivo das fêmeas.

Palavras-chave: Antioxidante. Ativador metabólico. Espermatozoide. Reprodução. Suíno.

GENERAL ABSTRACT

The objective, with this study, was to verify the influence on the use of coffee peels as floor cover on the behavior and semen quality of boars. In the first experiment, the objective was to evaluate the influence of the use of coffee peel as environmental enrichment over the behavior of the boars. We used sixteen swine reproducers, housed in individual stalls, with and without floor cover. The experimental period was of 60 days. The animals were filmed, registering the number of times the animals ate, drank, stood, sat, lay and dug. The surface body temperatures were measured at the beginning and end of the experiment, in addition to the salivary cortisol dosage of the animals during this period. The floor cover did not influence surface body temperatures or the salivary cortisol levels of the animals. By morning, the use of cover decreased the number of times the animal sat and increased the number of times the animals lay. By the afternoon, the number of times standing, sitting or digging decreased and the number of timed laying increased. We concluded that the floor cover for boars might be used as environmental enrichment to improve the animal's behavioral patterns. In the second experiment, the objective was to evaluate the influence of the use of coffee peel as floor cover over the quality of boar semen and the reproductive performance of the females. We used sixteen swine reproducers divided into two groups with and without floor cover. The experimental period was of 60 days. Before and after 60 days, seminal evaluations were performed, in addition to evaluating the reproductive performance of the females inseminated with the semen of the experimental animals. It was observed that the inseminating doses derived from the animals maintained in stalls containing coffee peel, presented 2.545 µg of caffeine/100 mL, without amounts of chlorogenic acid. The coffee peel did not influence the volume and concentration of the *in natura* semen, however, it worsened spermatic motility. There was no difference in the quality parameters of the inseminating doses of the animals maintained or not over coffee peel, with the exception of the concentration of malondialdehyde, which increased after 96 hours of storage when this compound was used. There was no influence of coffee peel over return to estrus and the size of the litter. We conclude that the use of coffee peel as floor cover impairs the quality of *in natura* semen and of the inseminating doses stored for 96 hours, but does not influence the reproductive performance of the females.

Keywords: Antioxidant. Metabolic Activator. Spermatozoa. Reproduction. Swine.

LISTA DE FIGURAS

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

- Figura 1 - Temperatura ambiente (°C) e umidade relativa (%) ao longo do dia durante o período experimental. Média e desvio-padrão.40
- Figura 2 - Níveis de cortisol salivar (média e erro padrão) de varrões antes e após 60 dias de uso de casca de café como cobertura de piso nas baias. Não significativo ao teste de Wilcoxon ($P > 0,13$); (n = 8).....41
- Figura 3 - Comportamento pela manhã (6h30 – 12h00) de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso. Média e erro padrão da média. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$. n = 8.....42
- Figura 4 - Comportamento pela tarde (12h05 – 18h30) de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso. Média e erro padrão da média. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$. n = 8.....44

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

Tabela 1 - Temperatura corporal superficial (°C, média ± erro padrão) de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias; (n = 8).....	41
--	----

ARTIGO 2

Tabela 1 - Qualidade do sêmen <i>in natura</i> (média e desvio padrão) das doses inseminantes de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias; (n = 8).	71
Tabela 2 – Índices reprodutivos(média e desvio padrão) de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias.	72

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	11
1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEORICO	13
2.1 Bem-estar na suinocultura	13
2.2 Inseminação artificial (IA) na produção de suínos	17
2.3 Metabolismo espermático	18
2.4 Importância do enriquecimento ambiental na suinocultura	20
2.5 Casca de café como cobertura de piso	21
REFERÊNCIAS	25
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	35
ARTIGO 1 Comportamento de varrões mantidos em baias convencionais contendo casca de café como cobertura de piso	35
ARTIGO 2 Qualidade do sêmen e desempenho reprodutivo de varrões mantidos em baias convencionais contendo casca de café como cobertura de piso	52
ANEXOS	73

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a suinocultura pode ser considerada uma das formas mais intensivas de criação, com objetivo de otimizar o desempenho econômico e produtivo. Entretanto, existe certa pressão por parte da sociedade para que se valorize o bem-estar animal. O sistema de criação intensivo possui influência direta na condição de conforto e bem-estar animal, pois os animais são mantidos em espaços restritos. Nessas condições, os animais podem, muitas vezes, não desenvolver seu pleno potencial produtivo e, também, reprodutivo, mesmo que as condições sanitárias e nutricionais estejam aparentemente satisfatórias.

Na indústria suinícola, a reprodução é a base do sistema de produção. Perdas na sua eficiência acarretam em prejuízos consideráveis na produtividade. Nesse sentido, tem-se enfatizado cada vez mais o melhor aproveitamento do potencial reprodutivo dos animais, principalmente dos varrões, cuja proporção em relação ao número de fêmeas é considerada baixa.

Por muitos anos, a inseminação artificial (IA) tem sido utilizada como ferramenta para melhorar eficiência reprodutiva do rebanho tendo, como vantagem, o melhor aproveitamento de machos, geneticamente, superiores e a garantia da utilização de sêmen de melhor qualidade. No entanto, para melhorar a qualidade das doses inseminantes, estudos relacionados à produção espermática e processamento do sêmen vêm sendo conduzidos. Uma alternativa para melhorar a qualidade espermática seria o desenvolvimento de métodos de enriquecimento ambiental, que poderiam melhorar as condições fisiológicas do macho e, conseqüentemente, a qualidade dos espermatozoides durante a espermatogênese e maturação epidimária.

Durante muitos anos, alguns compostos com propriedades farmacológicas presentes no café vêm despertando interesse em virtude das inúmeras funções biológicas no organismo. A cafeína, a trigonelina e o ácido clorogênico, por exemplo, podem ser consideradas substâncias ativas farmacologicamente. A cafeína tem propriedades estimulantes do metabolismo celular, enquanto os ácidos clorogênicos representam grupos de compostos com propriedades antioxidantes capazes de neutralizar radicais livres formados no interior das células. Todos esses compostos podem ser encontrados tanto na bebida quanto na casca de café.

Diante disso, a utilização de casca de café como cobertura de piso nas baias de varrões pode ser uma forma de enriquecimento ambiental benéfica, propiciando melhor conforto aos animais alojados. Além disso, a presença de substâncias químicas presentes na casca do café pode influenciar a qualidade espermática. Não há estudos que comprovem os benefícios dessa prática na suinocultura, considerando o comportamento animal e a qualidade das doses inseminantes. Dessa forma, objetivou-se, com este estudo, verificar a influência do uso da casca de café como cobertura de piso no comportamento e na qualidade do sêmen de varrões utilizados para inseminação artificial e o desempenho reprodutivo das fêmeas inseminadas.

2 REFERENCIAL TEORICO

2.1 Bem-estar na suinocultura

O bem-estar animal é definido como o equilíbrio entre o indivíduo e o ambiente em que se encontra (BROOM, 1991), ou ainda, “o estado de harmonia entre o animal e seu ambiente, caracterizado por condições físicas e fisiológicas ótimas e altas qualidade de vida do animal” (HURNIK; PHILIPS; PIGGINS, 1992, p. 235). Hurnik (2000) destaca, ainda, que o bem-estar animal está relacionado ao conforto físico e mental, sendo o primeiro representado pelo animal saudável e o segundo com seu grau de satisfação com seu ambiente.

Observa-se que o ambiente do sistema de criação intensivo possui influência direta na condição de conforto e bem-estar animal, promovendo dificuldade na manutenção do balanço térmico no interior das instalações, na qualidade do ar e na expressão de comportamentos naturais dos animais (PANDORFI, 2005). Um animal que não esteja em condições de bem-estar não irá expressar seu potencial produtivo em sua magnitude, mesmo que as condições sanitárias e nutricionais estejam aparentemente satisfatórias (BAPTISTA; BERTANI; BARBOSA, 2011). Dessa forma, devem-se proporcionar todas as condições adequadas para o melhor desempenho produtivo e reprodutivo dos animais.

A presença de estresse é um dos principais parâmetros de avaliação do bem-estar animal. Nessas condições, inúmeras alterações hematológicas, fisiológicas e metabólicas ocorrem na tentativa de manter a homeostase (ANDERSON; MUIR, 2005). De acordo com Möstl e Palme (2002), o estresse pode ser classificado em agudo e crônico. O estresse agudo se caracteriza por respostas fisiológicas imediatas do organismo frente a um agente estressor; já, o crônico envolve ajustes sistêmicos com o intuito de adaptar o animal ao agente

agressor. Em todos os casos, ocorre elevação das concentrações séricas de cortisol, mantendo-se ou não elevadas dependendo do estímulo estressor (BEERDA; SCHILDER; BERNADINA, 1999). Dessa forma, o cortisol tem sido utilizado como indicador biológico do estresse em muitas espécies, em particular no suíno (GILLESPIE et al., 2009; GOYMANN; EAST; WACHTER, 2003), em consequência da maior concentração plasmática desse hormônio durante o estresse. O cortisol, assim como a corticosterona, são glicocorticoides relacionados ao eixo hipotálamo-hipófise-adrenocortical (HHA), pertencentes à família dos hormônios esteroides e sintetizados com base no colesterol. As células dos núcleos paraventriculares do hipotálamo, ao serem estimuladas, secretam o hormônio liberador de corticotrofina (CRH) que promove a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise. Esse hormônio, por sua vez, estimula a glândula adrenal a produzir e secretar o cortisol (KELLER, 2006; VENKER et al., 2010; YEAGER; GUYRE; MUNCK, 2004). A secreção de ACTH, também, é regulada pelas concentrações sanguíneas de glicocorticoides. Já, a secreção de CRH depende, além da concentração de glicocorticoides no sangue, do estímulo estressor. Assim, as variações na concentração de glicocorticoides no organismo dependem de alterações fisiológicas da glândula adrenal e da intensidade de resposta aos agentes estressores (KOEPPEN; STANTON, 2009; WILHELM et al., 2007).

A liberação dos glicocorticoides na corrente sanguínea é imediata e proporcional à gravidade do estresse. Entretanto, as concentrações hormonais, de uma forma geral, no sangue, podem apresentar variações. Hormônios com meia-vida mais curta, normalmente, oscilam em frequência mais alta do que aqueles com meia-vida prolongada. Os hormônios esteroides, por exemplo, possuem meia-vida maior, cerca de uma e três horas, dependendo da espécie. No entanto, a exposição crônica aos hormônios esteroides pode encurtar sua meia-vida, mediante a indução de enzimas hepáticas que passam a metabolizá-los mais

rapidamente (BADILLO; AYESTARÁN, 2001). Além disso, pode haver diferenças nas respostas dos animais frente a um agente agressor. Assim, variações nas concentrações de cortisol circulante podem variar de forma significativa em indivíduos que são mantidos nas mesmas condições (MÖSTL; PALME, 2002). Na literatura, foram encontrados valores entre 7,2 µg/100 mL, a 21,9 µg/100 mL em suínos alojados em granjas comerciais (WARRIS et al., 1998).

Durante o estresse, o eixo HHA induz a produção de cortisol, o qual prepara o organismo para enfrentar estímulos estressores contínuos (SAPOLSKY; ROMERO; MUNCK, 2000). Quando o estresse é prolongado e o indivíduo não é capaz de ajustar-se aos agentes estressores, a sensibilidade do eixo HHA pode aumentar ou diminuir, afetando a produção de cortisol (GUNNAR; VAZQUEZ, 2001). Essa resposta ao estresse tem como finalidade manter ou restaurar a homeostase do organismo, durante situações adversas, preservando o aporte de oxigênio e nutrientes (em especial a glicose) para os tecidos, reduzindo sensações dolorosas e mantendo a temperatura corporal (GOYMANN; EAST; WACHTER, 2003; KOOPMANS et al., 2005; STOCHE; GARCIA; KLAMT, 2001).

A estimativa da intensidade com que o estresse ocorre pode ser realizada pela dosagem de cortisol no sangue, porém, essa prática é considerada estressante ao animal, principalmente, em suínos. Nesse caso, a captura e manuseio do animal podem interferir na avaliação precisa do hormônio (COSTA et al., 2007; GRANDIN, 1997; STILWELL et al., 2008). Uma alternativa para mensurar o cortisol são métodos não-invasivos de amostragem como urina, saliva, leite, pelo e amostras fecais.

Em estudos realizados com cortisol salivar confirma-se que existe significado biológico, já que as concentrações desse hormônio na saliva refletem sua forma livre no sangue (COOK et al., 2000; DE JONG, 2000). Essa forma de

avaliação pode ser considerada uma medida apropriada para a avaliação da função adrenocortical por evitar estresse agudo no momento da coleta e tem sido utilizada para avaliar as condições fisiológicas dos animais (MÖSTL; PALME, 2002). Segundo De Jong (2000) e Tsuma et al. (1996), os altos níveis de cortisol circulante, decorrentes de estresse são capazes, por exemplo, de reduzir a secreção de hormônios gonadotróficos, causando problemas como infertilidade ou baixa eficiência reprodutiva.

A temperatura ambiente é um dos principais fatores que podem ser considerados estressantes aos suínos (FERREIRA, 2011; KUNAVONGKRIT; PRATEEP, 1995). Para os varrões, temperaturas entre 13 e 21°C são consideradas ideais (PERDOMO et al., 1985). Temperaturas ambiente elevadas dificultam as trocas de calor corporal. Verifica-se que os testículos suínos estão localizados fora da cavidade abdominal, já que os espermatozoides são considerados células sensíveis a temperaturas elevadas. Temperaturas corporais aumentadas, durante períodos de calor, reduzem o número de espermatozoides viáveis, além de induzir, em casos extremos, à degeneração testicular (HAFEZ, 1995). A diminuição na ingestão de alimento, durante períodos quentes, pode interferir na espermatogênese, resultando na produção de sêmen de menor qualidade (KUNAVONGKRIT; PRATEEP, 1995).

Além da temperatura, outros elementos climáticos como umidade relativa do ar, radiação solar, vento, entre outros, podem influenciar diretamente o sistema neuroendócrino e a função reprodutiva dos animais (ALVARENGA et al., 2011). Portanto, para a obtenção de bons índices reprodutivos é de extrema importância o monitoramento de todos os fatores que possam influenciar o desempenho reprodutivo do macho.

2.2 Inseminação artificial (IA) na produção de suínos

O processo reprodutivo na espécie suína é de fundamental importância, não só para a perpetuação da espécie, mas, principalmente, por ser fator decisivo no desempenho econômico da atividade suinícola. Não bastam apenas bons padrões nutricionais e boas práticas de manejo no plantel como um todo; é necessário, também, que os índices reprodutivos sejam elevados, o que faz com que uma atenção especial seja dada aos reprodutores.

Dentre os avanços tecnológicos, a IA é utilizada de forma crescente pela suinocultura moderna e tecnificada, tornando-se um importante componente do manejo reprodutivo (HAFEZ, 1995). O objetivo principal é a maximização do uso dos ejaculados, melhorando a eficiência reprodutiva quando comparado com a monta natural.

Em suínos, a IA vem sendo desenvolvida desde 1930, entretanto, somente a partir de 1975 tomou grande impulso, quando houve um desenvolvimento efetivo com a criação de centrais de inseminação na região sul do país (SHEID; SILVEIRA, 2002). Essa técnica é praticada não só no Brasil, mas também em todo mundo, cerca de 70% das fêmeas no país são inseminadas (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE SUÍNOS - ABCS, 2011).

Inúmeras vantagens foram responsáveis pela progressão da técnica, dentre elas, bons resultados de fertilidade, ganhos genéticos com o emprego de machos geneticamente superiores, redução nos custos de cobertura, melhor aproveitamento das instalações, maior segurança sanitária em razão dos cuidados higiênicos e eliminação dos ejaculados impróprios para o uso (FLORES, 2001; WENTZ et al., 2000). No entanto, a grande maioria das inseminações é realizada com sêmen diluído resfriado e, usualmente,

armazenado entre 15 e 17 °C durante 24 a 48 horas. Após esse tempo, o sêmen suíno preservado nessas condições terá uma redução inevitável na sua capacidade fertilizante, em decorrência do desgaste metabólico dos espermatozoides e destruição das membranas por radicais livres (FORD; WAITES, 1986). Dessa forma, 85% de todas as inseminações realizadas no mundo são efetivadas no dia da coleta ou no dia seguinte (JOHNSON et al., 2000), evitando a perda de qualidade das doses inseminantes armazenadas por tempo prolongado (FRYDRYCHOVÁ et al., 2010; ROCA et al., 2006). Dessa forma, pesquisas no sentido de melhorar as condições das doses inseminantes armazenadas por tempo prolongado se fazem necessárias.

2.3 Metabolismo espermático

Em espermatozoides de mamíferos, a motilidade é um dos parâmetros mais importantes para a avaliação da qualidade do sêmen. Do ponto de vista funcional, a motilidade está fortemente relacionada com a capacidade do espermatozoide em gerenciar sua energia (ROLDAN et al., 1998). Sua manutenção depende do consumo de substratos energéticos, obtidos baseados no plasma seminal. Nesse processo, vias metabólicas tais como a via glicolítica e a fosforilação oxidativa são fundamentais (FORD; WAITES, 1986).

O espermatozoide suíno tem a capacidade de metabolizar, eficientemente, diferentes substratos presentes no plasma seminal para a obtenção de energia. Sua habilidade em utilizar tais substâncias é um fator determinante, não só para manter a motilidade, mas também para garantir sua sobrevivência e capacidade de fertilização. Estudos comprovam a habilidade do espermatozoide em metabolizar diferentes monossacarídeos como glicose, manose e frutose pela via glicolítica após a ação da hexoquinase, que converte os açúcares em hexomonofosfato e, assim, até ácido láctico por diversas outras

enzimas (MANN, 1975). Os espermatozoides suínos, também, têm a habilidade de utilizar outras substâncias, como o glicerol (JONES; CHANTRILL; COKINAKIS, 1992), piruvato (BROOKS; MANN, 1973), lactato e citrato (MEDRANA et al., 2006). Entretanto, apesar de todas as espécies poderem usar a maioria dos substratos presentes no plasma seminal, a especificidade metabólica varia com a espécie (RIKMENSPOEL; CAPUTO, 1966). O espermatozoide suíno, por exemplo, tem a capacidade de metabolizar mais eficientemente a glicose (MARINS et al., 2003) e a frutose (JONES; CONNOR, 2000; RIGAU et al., 2000).

Porém há controvérsias em relação à eficiência de produção de ATP. A glicólise e a fosforilação oxidativa são consideradas como as duas principais vias para a produção de ATP (adenosina trifosfato). A glicólise ocorre, principalmente, na cauda do espermatozoide, enquanto a fosforilação oxidativa está centrada nas mitocôndrias presentes na peça intermediária. Martins et al. (2003) afirmam que apenas 5,7% dos substratos energéticos entram na via da fosforilação oxidativa e o restante na via glicolítica, tornando essa última a principal rota de utilização de açúcares. Por outro lado, a eficiência energética da via oxidativa faz com que essa rota seja, também, de relativa importância, uma vez que gera maior número de ATP por substrato oxidado. De fato, Mukai e Okuno (2004) afirmam que a atividade mitocondrial é a fonte mais eficiente de ATP. Assim, sugere-se que a atividade espermática seja dependente tanto da via glicolítica quanto da via oxidativa para a obtenção de energia.

O metabolismo energético dos espermatozoides, de forma geral, está diretamente relacionado à concentração interna de adenosina monofosfato cíclica (AMPC) (SIMPSON; WHITE, 1987). Segundo Harper, Ropweell e Mayes (1982), estes nucleotídeos cíclicos são metabolizados pela enzima fosfodiesterase, interrompendo suas funções metabólicas. Com isto, a adição de inibidores da fosfodiesterase ao sêmen pode resultar em aumento na

concentração de AMPc nas células espermáticas, acelerando a metabolismo energético dos espermatozoides (GARBERS et al., 1971).

Desta forma, o uso de substâncias químicas, presentes na casca do café como a cafeína, pode ser importante para melhorar a qualidade do sêmen, sendo a cafeína um estimulador do metabolismo energético (FUSE et al., 1993; SELVARAJU et al., 2009).

2.4 Importância do enriquecimento ambiental na suinocultura

O sistema de criação intensivo possui influência direta na condição de conforto e bem-estar animal, pois os animais são retirados de seu *habitat* natural e manejados em espaços restritos, característica de um sistema tradicional de confinamento. Nesse sistema, os animais podem manifestar alguns distúrbios comportamentais, em consequência do estresse e o enriquecimento ambiental aparece como alternativa para amenizar os problemas gerados por essas alterações de comportamento. Essa técnica consiste em introduzir melhorias no próprio confinamento, com o objetivo de tornar o ambiente mais adequado às necessidades comportamentais dos animais (MACHADO FILHO; HÖTZEL, 2000).

O enriquecimento ambiental representa um princípio do manejo que procura melhorar a qualidade de vida dos animais confinados por meio da identificação e fornecimento de estímulos ambientais. Estes são necessários para alcançar o bem-estar psíquico e fisiológico, ao mesmo tempo em que estimula comportamentos típicos da espécie, reduzindo o estresse e tornando o ambiente mais complexo e diverso para contemplar suas necessidades etológicas (BOERE, 2001; HOHENDORFF, 2003; SHEPHERDSON, 1998). Como exemplos de medidas de enriquecimento ambiental, podem ser citados a colocação de objetos como brinquedos, o fornecimento de materiais como palha

para servirem de objetos de manipulação ou como cama e, também, o aumento da área utilizada pelo animal (BERGERON et al., 2000; GARCIA, 2003; JARVIS et al., 2002; JONG et al., 2002). Beattie, O'Connell e Moss (2000) relataram que suínos em ambientes enriquecidos utilizaram um quarto de seu tempo diário em comportamento direcionado para a manipulação do substrato presente no piso. Já, os animais, em ambiente monótono, gastaram mais tempo explorando os objetos fixos da baia e se envolveram mais em comportamentos sociais nocivos (tais como fuçar ou morder outro suíno) do que aqueles no ambiente enriquecido.

2.5 Casca de café como cobertura de piso

A cafeicultura é uma atividade bastante desenvolvida no Brasil, constituindo-se em uma das mais importantes fontes de renda para a economia do país. Dentre os diversos problemas que esta atividade enfrenta, o destino adequado de seus subprodutos é uma questão que merece destaque.

O beneficiamento do café gera subprodutos como a casca de café que, de acordo com Caielli (1984), representa 50% da produção total da atividade. Segundo Yoshida (2005), apenas 6% do café processado constitui a porção destinada à produção do pó de café; outros 94% são subprodutos como água de lavagem, polpa e a casca propriamente dita, tornando a cafeicultura uma atividade geradora de grande quantidade de resíduos durante o processamento do café. A preocupação com problemas ambientais tem levado a um aumento do interesse sobre a destinação dos resíduos gerados no processamento agroindustrial do café. Existe um crescente interesse na utilização eficiente desses subprodutos. A casca de café pode ser utilizada como resíduos na alimentação de animais (GARCIA et al., 2000), fonte de calor por ser um

produto de combustão (MELO et al., 2005) ou como adubo orgânico (GARCIA et al., 2000).

A casca de café é um produto rico em nutrientes e substâncias orgânicas por conter compostos como cafeína, taninos e polifenóis (CAIELLI, 1984). A cafeína é um composto ativo que causa o efeito estimulante do café, estando presente na casca em uma concentração aproximada de 1,3% na matéria seca (SOCCOL, 2002). Já, os compostos fenólicos, com propriedades antioxidantes, especificamente, os ácidos clorogênicos, aparecem na ordem de 0,6% na matéria seca (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ; JIMÉNEZ-ESCRIG; JIMÉNEZ-ESCRIG, 2005).

Na produção de suínos, a utilização de casca de café como cobertura de piso, pode afetar não só o conforto aos animais, mas também a qualidade do sêmen. Além da possibilidade de tornar o ambiente mais atrativo ao animal (BEATTIE; WALKER; SNEDDON, 1998; BERGERON et al., 2000; JARVIS et al., 2002), a ingestão da casca pode influenciar a qualidade do sêmen, uma vez que substâncias químicas presentes nessa substância podem interferir no metabolismo espermático (CHAUHAN et al., 1998). A cafeína, por exemplo, faz parte de um grupo de substâncias com efeitos farmacológicos semelhantes, conhecidas como metilxantinas (LOUGLI; GARWAL, 1992). Além da cafeína, inclui-se neste grupo a teofilina e a pentoxifilina, que são os principais representantes desta classe. São substâncias metiladas derivadas da purina, podendo ser classificadas, também, como alcaloides (STAVRIC, 1988).

De acordo com Chauhan et al. (1998) e Lougli e Garwal (1992), a cafeína é capaz de inibir a atividade de fosfodiesterase no interior dos espermatozoides e, com isso, elevar as concentrações de AMPc intracelular. Como resultado desse aumento, observa-se maior motilidade e rapidez na maturação e capacitação espermática (MORISAWA et al., 1983; TASH; MEANS, 1983). Além disso, a cafeína, também, é capaz de induzir a um

aumento no teor de cálcio intracelular em espermatozoides viáveis que contribui para a ativação da adenilciclase com conseqüente aumento do AMPc (COLÁS; CEBRÍAN'PÉREZ; MINÑO-BLANCO, 2010), além de auxiliar na neutralização das espécies reativas de oxigênio (ERO) e, conseqüentemente, na redução da peroxidação lipídica (LOUGLI; GARWAL, 1992; NAGAI et al., 1994). De fato, a cafeína tem sido utilizada, com frequência, como aditivo no sêmen de mamíferos a fim de melhorar as características de motilidade espermática, melhorando, assim, a capacidade de penetração dos espermatozoides (COLÁS; CEBRÍAN'PÉREZ; MINÑO-BLANCO, 2010; NASCIMENTO, 2003).

Já, a teofilina, juntamente com a cafeína, apresenta efeito inibitório sobre a fosfatase alcalina do plasma seminal e do espermatozoide (BELL; LAKE, 1962; GLOGOWSKI; DANFORTH; CIERESZKA, 2002; TANG, 1998). Entretanto, essa inibição nem sempre produz efeitos desejáveis nos espermatozoides, já que foi demonstrada diminuição na qualidade do sêmen quando exposto às concentrações elevadas dessas substâncias (BRENNAN; HOLDEN, 1995; GLOGOWSKI, 1988). Já, a pentaxilifina é capaz de estimular a fosfatase alcalina no espermatozoide mas não no plasma seminal (JOURQUIN; KAUFFMANN, 1998).

Os ácidos clorogênicos, também presentes na casca de café, representam um grupo de compostos com propriedades antioxidantes (PRETE, 1992), sendo capazes de neutralizar radicais livres formados no interior das células (BROWN, 2004; GHIURU et al., 2010; LEKSE et al., 2001). Estudos comprovam que a presença de substâncias com propriedades antioxidantes (BROWN, 2004; GHIURU et al., 2010) melhoram a qualidade do sêmen de animais de produção. A atividade antioxidante dos ácidos clorogênicos tem sido atribuída às suas propriedades de óxido-redução, que desempenham importante papel na neutralização de radicais livres pela doação de hidrogênio, sequestro de ROs e ação antiperoxidativa (BASILE et al., 2005; MATTOS, 2009).

Portanto, evidências apontam que a casca de café pode trazer benefícios à suinocultura, não só por propiciar bem-estar animal, mas também por melhorar a qualidade das doses inseminantes. Até o momento, nenhum estudo foi encontrado na literatura, associando ao uso da casca de café como cobertura de piso na melhoria do desempenho reprodutivo de varrões, destinados à inseminação artificial.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, A. L. N. et al. **Aspectos reprodutivos e estresse na espécie suína**. Lavras: UFLA, 2011. 40 p. (Boletim Técnico, 86).
- ANDERSON, D. E.; MUIR, W. W. Pain management in ruminants. **Veterinary Clinical Food Animal**, Philadelphia, v. 21, n. 1, p. 19-31, Mar. 2005.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE SUÍNOS. Disponível em: <<http://www.abcs.org.br/>>. Acesso em: 4 fev. 2014.
- BADILLO, J. J. G.; AYESTARÁN, E. G. **Fundamentos do treinamento de força**: aplicação ao alto rendimento desportivo. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2001. 146 p.
- BAPTISTA, R. I. A. A.; BERTANI, G. R.; BARBOSA, A. N. Indicadores do bem-estar em suínos-revisão bibliográfica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 10, p. 1-8, out. 2011.
- BASILE, A. et al. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from Paulliniacupana Mart. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 102, n. 1, p. 32-36, Oct. 2005.
- BEATTIE, V. E.; O'CONNELL, N. E.; MOSS, B. W. Influence of environmental enrichment on the behavior, performance and meat quality of domestic pigs. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 65, n. 1/2, p. 71-79, July 2000.
- BEATTIE, V. E.; WALKER, N.; SNEDDON, I. A. Preference testing of substrates by growing pigs. **Animal Welfare**, Washington, v. 72, n. 7, p. 27-34, July 1998.
- BEERDA, B.; SCHILDER, M. B.; BERNADINA, W. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction: II., hormonal and immunological responses. **Physiology and Behaviour**, Oxford, v. 66, n. 2, p. 243-254, Apr. 1999.
- BELL, J. D.; LAKE, P. E. A comparison of phosphomonoesterase activities in the seminal plasmas of domestic cock, turkey tom, boar, bull, buck rabbit and of man. **Journal of Reproduction & Fertility**, Colchester, v. 3, n. 1, p. 363-368, June 1962.

BERGERON, R. et al. Feeding motivation and stereotypes in pregnant sows fed increasing levels of fiber and/or food. **Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 70, n. 1, p. 27-40, Nov. 2000.

BOERE, V. Behavior and environmental enrichment. In: FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. S. (Ed.). **Biology, medicine and surgery of South American wild animals**. Iowa: Iowa State University, 2001. p. 263-267.

BRENNAN, A. P.; HOLDEN, C. A. Pentoxifylline-supplemented cryoprotectant improves human sperm motility after cryopreservation. **Human Reproduction**, Oxford, v. 10, n. 9, p. 2308-2312, Sept. 1995.

BROOKS, D. E.; MANN, T. Pyruvate metabolism in boar spermatozoa. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 34, n. 1, p. 105-119, July 1973.

BROOM, D. M. Animal welfare: concepts and measurement. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 10, p. 4167-4175, Oct. 1991.

BROWN, L. Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. **Andrology**, Philadelphia, v. 25, n. 1, p. 100-1008, Jan./Feb. 2004.

CAIELLI, E. L. Uso da palha de café na alimentação de ruminantes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 10, n. 119, p. 36-38, 1984.

CHAUHAN, M. S. et al. Influence of theophylline on cleavage rate and embryonic development following in vitro fertilization of buffalo oocytes. **Indian Journal of Animal Sciences**, New Delhi, v. 68, n. 9, p. 920-922, 1998.

COLÁS, C.; CEBRIÁN'PÉREZ, J. A.; MINÑO-BLANCO, T. Caffeine induces RAM sperm hyperactivation independent of cAMP-dependent protein kinase. **International Journal Andrology**, Copenhagen, v. 33, n. 1, p. 187-197, Feb. 2010.

COOK, C. J. et al. Hands-on and hands-off measurement of stress. In: MOBERG, G. P.; MENCH, J. A. (Ed.). **The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare**. Wallingford: CAB International, 2000. p. 123-146.

COSTA, O. A. D. et al. **Determinação do ritmo ultra-diano do cortisol na saliva de fêmeas suínas em peso de abate.** Concórdia: EMBRAPA-CNPISA, 2007. 3 p.

DE JONG, I. C. **Chronic stress parameters in pigs: indicators of animal welfare?** 2000. 175 p. Thesis (Ph.D. in Nutrition Monografticos) - Universidade de Groningen, Groningen, 2000.

FERREIRA, R. A. **Maior produção com melhor ambiente: para aves, suínos e bovinos.** Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2011. 133 p.

FLORES, L. A. S. **Comparação entre os diferentes métodos “auto-IA”, intermediário e tradicional de inseminação artificial em suínos.** 2001. 61 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

FORD, W. C. L.; WAITES, G. M. H. Sperm maturation and the potential for contraceptive interference. In: ZATUCHNI, C. I. et al. (Ed.). **Male contraception: advances and future projects.** Philadelphia: Harper e Row, 1986. p. 89-106.

FRYDRYCHOVÁ, S. et al. Effects of long-term liquid commercial semen extender and storage time on the membrane quality of boar semen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 55, n. 4, p. 160-166, Oct. 2010.

FUSE, H. et al. Effect of pentoxifylline on sperm motion. **Archives of Andrology**, New York, v. 31, n. 1, p. 9-15, July 1993.

GARBERS, D. L. et al. Stimulation and maintenance of ejaculated bovine spermatozoa respiration and motility by caffeine. **Biology of Reproduction**, New York, v. 5, p. 336-339, 1971.

GARCIA, I. F. F. et al. Desempenho de cordeiros Texel x Bergamácia, Texel x Santa Inês puros, terminados em confinamento, alimentados com casca de café como parte da dieta. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 29, n. 2, p. 564-572, mar./abr. 2000.

GARCIA, R. A. M. **O estudo do comportamento de galinhas poedeiras como subsídio para a promoção do bem-estar animal.** 2003. 105 p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

GHIURU, F. V. et al. Antioxidant medium for mangalita boar semen cryopreservation. **Veterinary Medicine**, Berlin, v. 67, n. 1/2, p. 445-447, Jan. 2010.

GILLESPIE, C. F. et al. Risk and resilience: genetic and environmental influences on development of the stress response. **Depression and Anxiety**, New York, v. 26, n. 11, p. 984-992, Aug. 2009.

GLOGOWSKI, J. Alkaline phosphatase of boar reproductive tract. **Acta Academiae Agriculturae a Technicae Olstenensis**, Varsóvia, v. 31, p. 1-53, 1988. Supplement B.

GLOGOWSKI, J.; DANFORTH, D. R.; CIERESZKA, A. Inhibition of alkaline phosphatase activity of boar semen by pentoxifylline, caffeine, and theophylline. **Journal of Andrology**, Philadelphia, v. 23, n. 6, p. 783-792, Nov./Dec. 2002.

GOYMANN, W.; EAST, M. L.; WACHTER, B. Social status does not predict corticosteroid levels in postdispersal male spotted hyenas. **Hormones and Behavior**, New York, v. 43, n. 4, p. 474-479, Apr. 2003.

GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 1, p. 187-201, Jan. 1997.

GUNNAR, M. R.; VAZQUEZ, D. M. Low cortisol and a flattening of expected daytime rhythm: potential indices of risk in human development. **Development and Psychopathology**, New York, v. 13, n. 3, p. 515-538, Apr. 2001.

HAFEZ, E. S. E. Preservation and cryopreservation of gametes and embryos. In: _____. **Reproduction in farm animals**. Tamboré: Manole, 1995. p. 513-535.

HARPER, H. A.; ROPWEELL, V. W.; MAYES, P. A. **Manual de química fisiológica**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 1982, 138 p.

HOHENDORFF, R. V. **Aplicação e avaliação de enriquecimento ambiental na manutenção de bugio (*Alouatta spp* LACÉPEDE, 1799) no Parque Zoológico de Sapucaia do Sul, RS**. 2003. 118 p. Dissertação (Mestrado em Animais Silvestres) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

HURNIK, J. F. Conceito de bem-estar e conforto animal. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE BEM-ESTAR ANIMAL, 1., 2000, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: UFSC, 2000. p. 100-123.

HURNIK, J. F.; PHILIPS, C.; PIGGINS, D. Behaviour. In: _____. **Farm animals and the environment**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 235-244.

JARVIS, S. et al. Pituitary-adrenal activation in pre-parturient pigs (*Susscrofa*) is associated with behavioral restriction due to lack of space rather than nesting substrate. **Animal Welfare**, Washington, v. 11, n. 4, p. 371-384, Nov. 2002.

JOHNSON, L. A. et al. Store of boar semen. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 62, n. 1/3, p. 143-172, Aug. 2000.

JONES, A. R.; CHANTRILL, L. A.; COKINAKIS, A. Metabolism of glycerol by mature boar spermatozoa. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 94, n. 3, p. 129-134, Jan. 1992.

JONES, A. R.; CONNOR, D. E. Fructose metabolism by mature boar spermatozoa. **Reproduction Fertilidade and Development**, Collingwood, v. 12, n. 7/8, p. 355-359, 2000.

JONG, I. C. et al. Effects of restricted feeding on physiological stress parameters in growing broiler breeders. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 43, n. 2, p. 157-168, May 2002.

JOURQUIN, G.; KAUFFMANN, J. M. Fluorometric determination of theophylline in serum by inhibition of bovine alkaline phosphatase in AOT based water/oil microemulsion. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Oxford, v. 18, n. 4/5, p. 585-596, Dec. 1998.

KELLER, B. **Estudo comparativo dos níveis de cortisol salivar e estresse em atletas de luta olímpica de alto rendimento**. 2006. 127 p. Dissertação (Mestrado em Educação Física) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Berne y Levy: fisiología**. 3. ed. Barcelona: Elsevier Mosby, 2009. 834 p.

KOOPMANS, S. J. et al. Diurnal rhythms in plasma cortisol, insulin, glucose, lactate and urea in pigs fed identical meals at 12-hourly intervals. **Physiology & Behavior**, Oxford, v. 84, n. 3, p. 497-503, Mar. 2005.

KUNAVONGKRIT, A.; PRATEEP, P. Influence of ambient temperature on reproductive efficiency in pigs: boar semen quality. **Pig Journal**, Malmesbury, v. 35, n. 2, p. 43-47, 1995.

LEKSE, J. M. et al. Plant catechols prevent lipid peroxidation in human plasma and erythrocytes. **Molecular Cell Biochemistry**, Cambridge, v. 226, n. 1/2, p. 89-90, Oct. 2001.

LOUGLI, N. K. R.; GARWAL, A. The use of theophylline to enhance sperm function. **Archives of Andrology**, New York, v. 28, n. 2, p. 99-103, Mar./Apr. 1992.

MACHADO FILHO, L. C. P.; HÖTZEL, E. M. J. Bem-estar dos suínos. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA, 5., 2000, São Paulo. **Anais...** São Paulo: SBS, 2000. p. 70-82.

MANN, T. Biochemistry of semen. In: GREEP, R. O.; ASTWOOD, E. B. (Ed.). **Handbook of physiology**. Washington: American Physiology Society, 1975. p. 321-347.

MARINS, S. et al. Metabolic strategy of boar spermatozoa revealed by a metabolomic characterization. **FEBS Letters**, Oxford, v. 554, n. 3, p. 342-346, Nov. 2003.

MATTOS, T. G. **Efeitos da ação antioxidante do ácido caféico em reações de oxiredução mediadas por íons Fe (II)**. 2009. 206 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

MEDRANA, A. et al. Utilization of citrate and lactate through a lactate dehydrogenase and atp-regulated pathway in boar spermatozoa. **Molecular Reproduction and Development**, New York, v. 73, n. 3, p. 369-378, Mar. 2006.

MELO, F. A. O. et al. Avaliação da utilização da palha de café para o aquecimento indireto de ar para secagem de produtos agrícolas. **Revista Engenharia na Agricultura**, Viçosa, MG, v. 13, n. 1, p. 49-54, jan./mar. 2005.

MORISAWA, M. et al. Effects of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater syprinid fishes. **Journal of Experimental Biology**, London, v. 107, p. 95-103, Nov. 1983.

MÖSTL, E.; PALME, R. Hormone as indicators of stress. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 23, n. 1/2, p. 67-74, July 2002.

MUKAI, C.; OKUNO, M. Glycolysis plays a major role for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 71, n. 2, p. 540-547, Aug. 2004.

NAGAI, T. et al. Effects of caffeine and casein phosphopeptides on fertilization in vitro of pig oocytes matured in culture. **Molecular Reproduction and Development**, New York, v. 37, n. 4, p. 452-456, Apr. 1994.

NASCIMENTO, A. B. **Efeito da água de coco e BTS associados à cafeína na capacitação espermática in vitro em suínos**. 2003. 48 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2003.

PANDORFI, H. **Comportamento bioclimático de matrizes suínas em gestação e o uso de sistemas inteligentes na caracterização do ambiente produtivo: suinocultura de precisão**. 2005. 137 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2005.

PERDOMO, C. C. et al. Considerações sobre edificações para suínos. In: CURSO DE ATUALIZAÇÃO SOBRE A PRODUÇÃO DE SUÍNOS, 4., 1985, Concórdia. **Anais...** Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves, 1985. 1 CD-ROM.

PRETE, C. E. C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (*Coffea arabica* L.) e sua relação com a qualidade da bebida**. 1992. 125 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1992.

RIGAU, T. et al. Differential effects of fructose and glucose on energy metabolism in dog sperm from fresh ejaculates. **Stocholm**, Cambridge, v. 123, n. 4, p. 579-591, May 2000.

RIKMENSPÖEL, R.; CAPUTO, R. The Michaelis-Menten constant for fructose and for glucose of hexokinases in bull spermatozoa. **Journal of Reproduction and Infertility**, Cambridge, v. 12, n. 3, p. 437-444, Dec. 1966.

ROCA, J. et al. Challenges in pig artificial insemination. **Reproduction in Domestic Animal**, Oxford, v. 42, n. 2, p. 43-53, Oct. 2006.

ROLDAN, E. R. S. et al. Signal transduction during mammalian sperm acrosomal exocytosis. In: _____. **Gametes: development and function**. Rome: Serono Symposia, 1998. p. 219-228.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, I.; JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; JIMÉNEZ-ESCRIG, A. In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures: Italian, espresso and filter. **Food Chemistry**, Oxford, v. 90, n. 1/2, p. 133-139, Mar./Apr. 2005.

SAPOLSKY, R. M.; ROMERO, L. M.; MUNCK, A. U. How do glucocorticoids influence stress responses?: integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v. 21, n. 1, p. 55-89, Feb. 2000.

SELVARAJU, S. et al. Influence of IGF-I on buffalo (*Bubalus bubalis*) spermatozoa motility, membrane integrity, lipid peroxidation and fructose uptake in vitro. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 113, n. 1/4, p. 60-70, July 2009.

SHEID, I. R.; SILVEIRA, P. R. Uma análise da IA na suinocultura brasileira. **Suínos & Cia**, Campinas, n. 27, p. 25-28, 2002.

SHEPHERDSON, D. J. Tracing the path of environmental enrichment in zoos. In: SHEPHERDSON, D. J.; MELLEN, J. D.; HUTCHINS, M. (Ed.). **Second nature: environmental enrichment for captive animals**. Washington: Smithsonian Institution, 1998. p. 1-12.

SIMPSON, A. M.; WHITE, I. G. Interrelationships between motility, cAMP, respiration and calcium uptake of ram and boar sperm. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 15, n. 3/4, p. 189-207, Dec. 1987.

SOCCOL, C. R. Resíduo de café: um substrato promissor para a produção industrial de bioprodutos com alto valor agregado. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2002, Brasília. **Anais...** Brasília: EMBRAPA, 2002. p. 83-98.

STAVRIC, B. Methylxanthines: toxicity to humans: 2., caffeine. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 26, n. 7, p. 645-662, July 1988.

STILWELL, G. et al. The effect of duration of manual restraint during blood sampling on plasma cortisol levels in calves. **Animal Welfare**, Washington, v. 17, n. 4, p. 383-385, Nov. 2008.

STOCHE, R. M.; GARCIA, L. V.; KLAMT, J. G. Anestesia e resposta neuroendócrina e humoral ao estresse cirúrgico. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Rio de Janeiro, v. 51, n. 1, p. 59-69, fev. 2001.

TANG, Y. Galactosyltransferase, pyrophosphatase and phosphatase activities in luminal plasma of the caudaepididymidis and in the rete testis fluid of some mammals. **Journal of Reproduction and Infertility**, Cambridge, v. 114, n. 2, p. 277-285, Nov. 1998.

TASH, J. S.; MEANS, A. R. Cyclic adenosine 3',5' monophosphate, calcium and protein phosphorylation in flagellar motility. **Biology Reproduction**, New York, v. 28, n. 1, p. 75-104, Feb. 1983.

TSUMA, V. T. et al. Effect of food deprivation during early pregnancy on endocrine changes in primiparous sows. **Animal Reproduction Science**, Oxford, v. 41, n. 3/4, p. 267-278, Mar. 1996.

VENKER, C. A. et al. Associação entre estresse, cortisol e HIV/AIDS. **News Laboratório**, São Paulo, v. 101, n. 78, p. 120-127, 2010.

WARRIS, P. D. et al. An analysis of data relating to pig carcass quality and indices of stress collected in the European Union. **Meat Science**, Oxford, v. 49, n. 2, p. 137-144, June 1998.

WENTZ, I. et al. Situação atual da inseminação artificial em suínos no Brasil e viabilização econômica do emprego dessa biotecnologia. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM SUÍNOS, 2., 2000, Flores da Cunha. **Anais...** Flores da Cunha: Minitub, 2000. p. 5-12.

WILHELM, I. et al. Is the cortisol awakening rise a response to awakening? **Psychoneuroendocrinology**, Oxford, v. 32, n. 4, p. 358-366, Apr. 2007.

YEAGER, M. P.; GUYRE, P. M.; MUNCK, A. U. Glucocorticoid regulation of the inflammatory response to injury. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, Aarhus, v. 48, n. 7, p. 799-813, Aug. 2004.

YOSHIDA, L. M. **Extração se solúveis do café torrado**. 2005. 223 p.
Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de
Uberlândia, Uberlândia, 2005.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

**ARTIGO 1 Comportamento de varrões mantidos em baias convencionais
contendo casca de café como cobertura de piso**

Artigo a ser submetido à revista *Animal Behaviour*

**Comportamento de varrões mantidos em baias convencionais com e sem
casca de café como cobertura de piso**

M.C. Teles¹, M.G. Zangeronimo¹

*¹Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras,
Lavras, Minas Gerais, 37200-000, Brasil*

Resumo

Objetivou-se com este estudo avaliar a influência do uso da casca de café como enriquecimento ambiental sobre o comportamento dos varrões. Foram utilizados dezesseis reprodutores suínos alojados em baias individuais, sendo oito mantidos em sistema convencional com piso de concreto e oito mantidos em piso de concreto forrado com casca de café. O período experimental foi de 60 dias. As filmagens dos animais foram realizadas durante dois dias antes do início do experimento, no 7º e 60º dia após exposição à casca de café e dois dias após a remoção do material. Nestes períodos, foi registrado o número de vezes em que os animais estiveram comendo, bebendo, em pé, sentado, deitado e fuçando. Também foram mensuradas as temperaturas corporais superficiais no início e no término do experimento, além da dosagem de cortisol salivar nos animais nesse período. A casca de café utilizada como cobertura de piso não influenciou ($P>0,05$) as temperaturas corporais superficiais e os níveis de cortisol salivar dos animais. Pela manhã, o uso da casca de café diminuiu ($P<0,05$) o número de vezes em que o animal esteve sentado e aumentou ($P<0,05$) o número de vezes em que estiveram deitados. Pela tarde observou-se que o uso da casca diminuiu ($P<0,05$) o número de vezes em pé, sentados ou fuçando e aumentou ($P<0,05$) o número de vezes deitado. Conclui-se que a casca de café como cobertura de piso para varrões pode ser utilizada como enriquecimento ambiental para melhorar os padrões comportamentais dos animais.

Palavras-chave: bem-estar, cortisol salivar, enriquecimento ambiental, suíno

Introdução

O sistema de criação intensivo na indústria suinícola possui influência direta na condição de conforto e bem-estar animal, pois os animais são retirados

de seu *habitat* natural e são manejados em espaços restritos. Atualmente, a necessidade de minimizar o estresse da produção é evidente, pois animais submetidos ao estresse inibem ou alteram a secreção de hormônios gonadotróficos, causando problemas de infertilidade ou de baixa eficiência reprodutiva (Tsuma et al., 1996).

O estresse é um dos principais parâmetros de avaliação do bem-estar animal, sendo caracterizado como uma resposta do efeito ambiental sobre um indivíduo que modifica seus sistemas de controle fisiológico e metabólico (Anderson e Muir, 2005). Além do comportamento animal, o cortisol tem sido utilizado como indicador biológico do estresse em muitas espécies, em particular no suíno (Fagundes et al. 2008) devido ao elevado aumento desse hormônio no organismo na presença de um agente estressor. Senti sentido, inúmeras são as consequências do estresse, com destaque a redução da produtividade e perda da eficiência reprodutiva do plantel (Tsuma et al., 1996).

O enriquecimento ambiental é tido como um método efetivo para melhorar o bem-estar psicológico dos animais, envolvendo o princípio de um manejo que procura ampliar a qualidade de vida dos animais mantidos em confinamento (NewBerry, 1995). Essa prática é capaz de estimular comportamentos típicos da espécie suína, amenizando o estresse por tornar o ambiente mais complexo e diverso para os animais manifestarem suas necessidades etológicas (Shepherdson, 1998).

A casca de café é um co-produto oriundo da cafeicultura, sendo utilizada, na maioria das vezes, como resíduos na alimentação de animais (Garcia et al., 2000), como fonte de calor (Melo et al., 2005) e como adubo orgânico (Garcia et al., 2000). No entanto, a produção intensiva de café em algumas regiões pode representar um problema gerado pelo destino adequado dos resíduos. A casca de café é um produto rico em nutrientes e substâncias orgânicas, além de conter compostos como cafeína, taninos e polifenóis (Caielli,

1984), substâncias farmacologicamente ativas no organismo (Chauhan et al., 1998; Colás et al., 2010) que poderiam influenciar o comportamento animal.

Diante disso, a utilização de casca de café como enriquecimento ambiental poderia interferir na qualidade de vida dos reprodutores suínos confinados. Portanto, o objetivo com este estudo foi avaliar a influência do uso da casca de café como enriquecimento ambiental sobre o comportamento dos varrões.

Material e métodos

Animais, local e delineamento experimental

O experimento foi realizado entre os meses de setembro à novembro de 2013 na Fazenda São Paulo, uma granja comercial situada no município de Oliveira, Minas Gerais, Brasil. Foram utilizados dezesseis reprodutores suínos de linhagens comerciais (Agroceres, DB e Genetiporc) em idade reprodutiva entre 9 e 30 meses. Os animais foram alojados em baias individuais com 2,75 m de comprimento, 2,10 m de largura e 1,30 m de altura, delimitadas com grades. Os animais receberam diariamente 3,0 kg de ração específica para reprodutores, dividida em dois arraçoamentos, às 8h00 e às 14h00. Água foi fornecida *ad libitum*. A limpeza das baias foi realizada diariamente para remoção das excretas e material úmido.

Os animais foram divididos em dois grupos, sendo o primeiro grupo mantido em sistema convencional de piso compacto e outro mantido em piso compacto com cobertura de casca de café de aproximadamente 3,0 a 4,0 cm sobre o piso. A cobertura de casca de café foi trocada, em média, de quatro em quatro dias, ou sempre que a umidade fosse considerada excessiva. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com dois tratamentos e oito repetições, sendo cada animal considerado unidade experimental. O período

experimental foi de 60 dias.

Procedimento experimental

O estudo comportamental foi realizado por meio de filmagem (Sony Alartec Cod346, Alartec, Rio Claro- São Paulo, Brasil) dos animais durante dois dias antes do início do experimento, no 7º e 60º dia após exposição à casca de café e dois dias após a remoção do material. Os animais foram filmados e as leituras das imagens foram realizadas a cada minuto no período compreendido entre 6h30min e 18h30min, gerando um total de 720 observações por dia de cada animal. Foram avaliadas as atividades ingerindo alimento, bebendo água, em pé, sentado, deitado e fuçando.

No início aos 60 dias de experimento foram mensuradas as temperaturas corporais superficiais da paleta, pernil e lombo de cada animal, além de coletadas amostras de saliva para avaliação dos níveis de cortisol. A saliva foi coletada sempre às 8h00 com o auxílio de um algodão amarrado em um barbante que foi inserido no interior da boca do suíno, permitindo a mastigação até que o algodão ficasse umedecido. Posteriormente, a saliva foi extraída mediante pressão do algodão, coletada em tubo Eppendorf e então armazenada à - 80°C. A concentração de cortisol da saliva foi determinada através do kit Elisa Salimetrics ®. A temperatura e a umidade do ar foram mensuradas diariamente, a cada cinco minutos, durante todo o período experimental utilizando DataLogger (HT- 500, Instrutherm, São Paulo).

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk). Em caso de não significância, foi utilizada a análise de covariância, sendo as características comportamentais iniciais consideradas como co-variáveis. No caso de dados não paramétricos, as médias foram

comparadas pelo teste de Wilcoxon para a comparação dos grupos experimentais. Toda análise estatística foi realizada no programa estatístico Action 2.4, com $\alpha = 5\%$.

Resultados

A variação de temperatura ambiente e a umidade relativa ao longo do dia observada durante o período experimental pode ser observada na Figura 1. Maior temperatura ambiente e menor umidade relativa do ar, assim como maior oscilação de ambas, foram observadas no período da tarde em relação ao período de manhã.

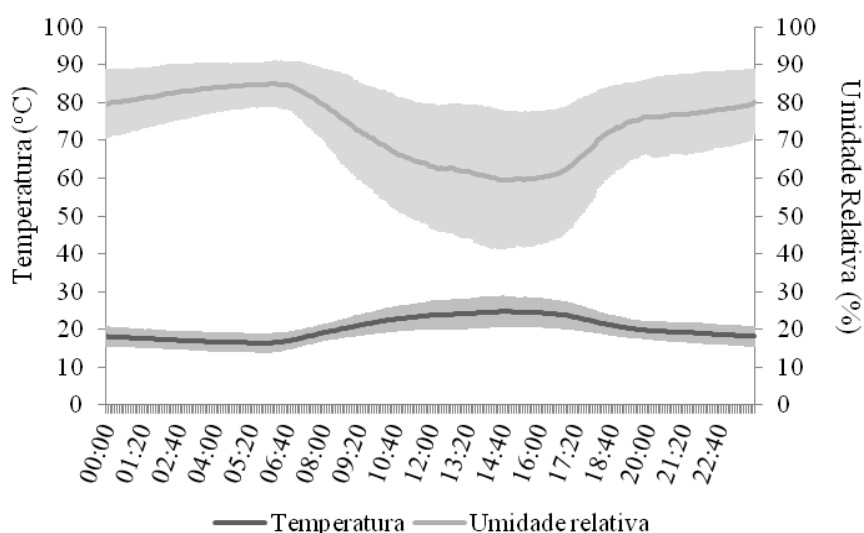


Figura 1 - Temperatura ambiente (°C) e umidade relativa (%) ao longo do dia durante o período experimental. Média e desvio-padrão.

A casca de café utilizada como cobertura de piso não influenciou ($P > 0,05$) as temperaturas corporais superficiais (Tabela 1) e os níveis de cortisol salivar (Figura 2) dos animais.

Tabela 1 - Temperatura corporal superficial ($^{\circ}\text{C}$, média \pm erro padrão) de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias; (n = 8).

Variável	Casca de café		Valor de P
	Com	Sem	
Paleta	30,9 \pm 1,4	29,6 \pm 1,4	0,09
Pernil	31,9 \pm 3,2	31,4 \pm 2,6	0,74
Lombo	31,9 \pm 2,0	29,2 \pm 3,6	0,09

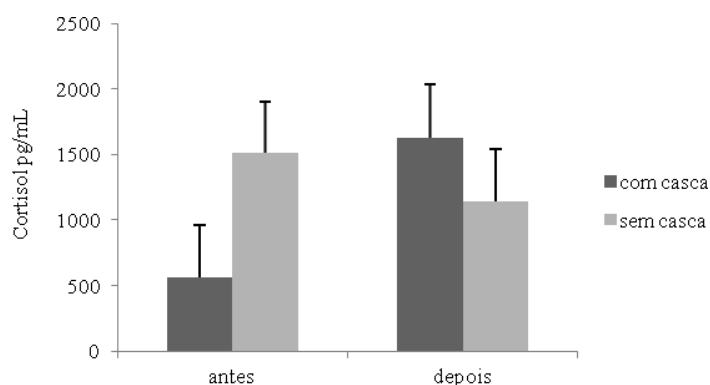


Figura 2 - Níveis de cortisol salivar (média e erro padrão) de varrões antes e após 60 dias de uso de casca de café como cobertura de piso nas baias. Não significativo ao teste de Wilcoxon ($P > 0,13$); (n = 8).

Com relação ao comportamento pela manhã, o uso da casca de café diminuiu ($P < 0,05$) o número de vezes em que o animal esteve sentado já na primeira semana de utilização, permanecendo esse efeito até os 60 dias de uso e também logo após sua remoção (Figura 3). Com 60 dias de uso do material, observou-se maior ($P < 0,05$) frequência do número de vezes que os animais estiveram deitados, o que não foi observado ($P > 0,05$) após a remoção do material. Não houve efeito ($P > 0,05$) da casca de café utilizada como cobertura de piso sobre os demais parâmetros comportamentais avaliados pela manhã.

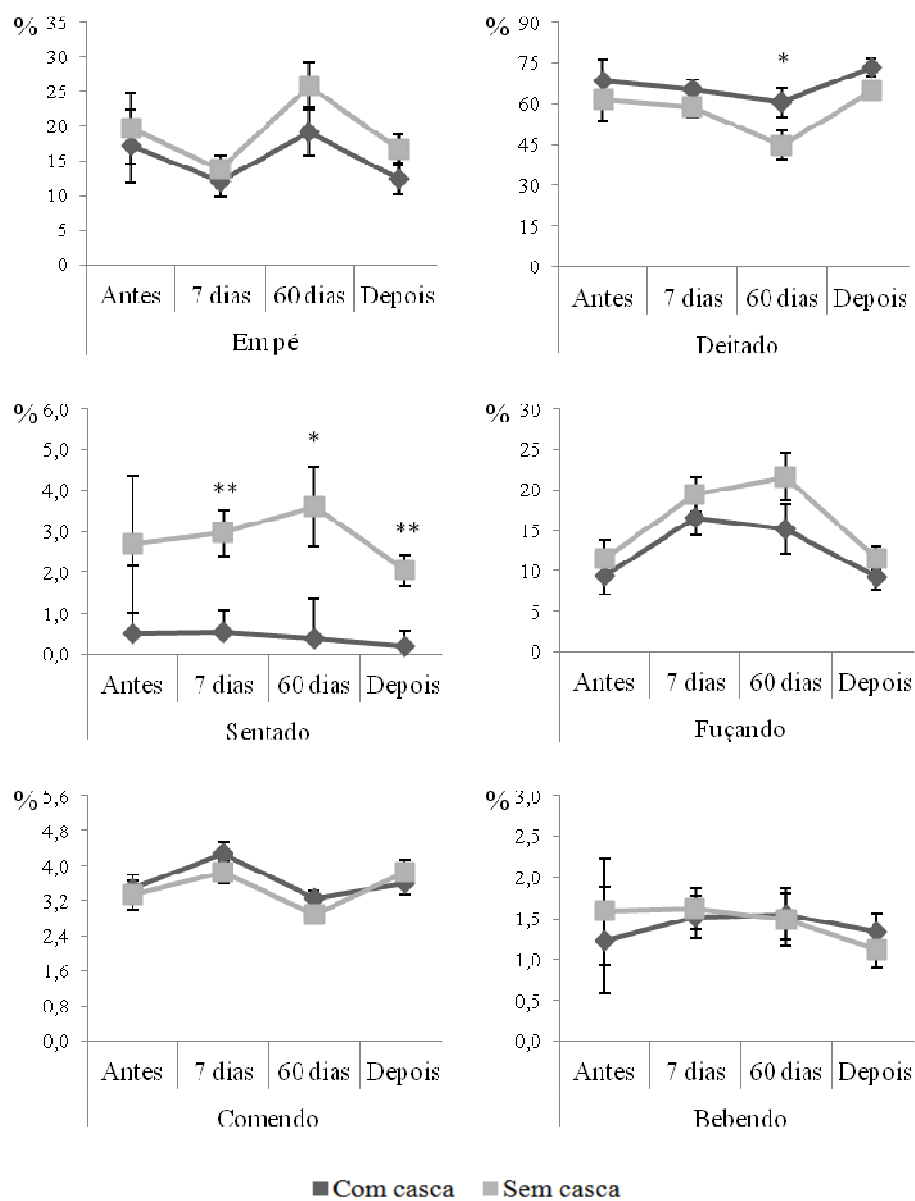


Figura 3 - Comportamento pela manhã (6h30 – 12h00) de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso. Média e erro padrão da média. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$. $n = 8$.

Com relação ao período da tarde, verificou-se que os animais ficaram menor ($P < 0,05$) número de vezes em pé e maior ($P < 0,05$) número de vezes deitado após 60 dias de uso da casca de café como cobertura de piso, comportamento esse que permaneceu após a remoção do material (Figura 4). Com sete dias de uso, foi observado menor ($P < 0,05$) número de vezes em que os animais estiveram sentados ou fuçando, porém, esses comportamentos não foram observados ($P > 0,05$) no 60º dia do experimento. Após a remoção do material, animais que estiveram em contato com a casca permaneceram mais vezes ($P < 0,05$) sentados e observou-se maior ($P < 0,05$) frequência de animais bebendo água pelos animais que não foram mantidos na casca durante o período experimental.

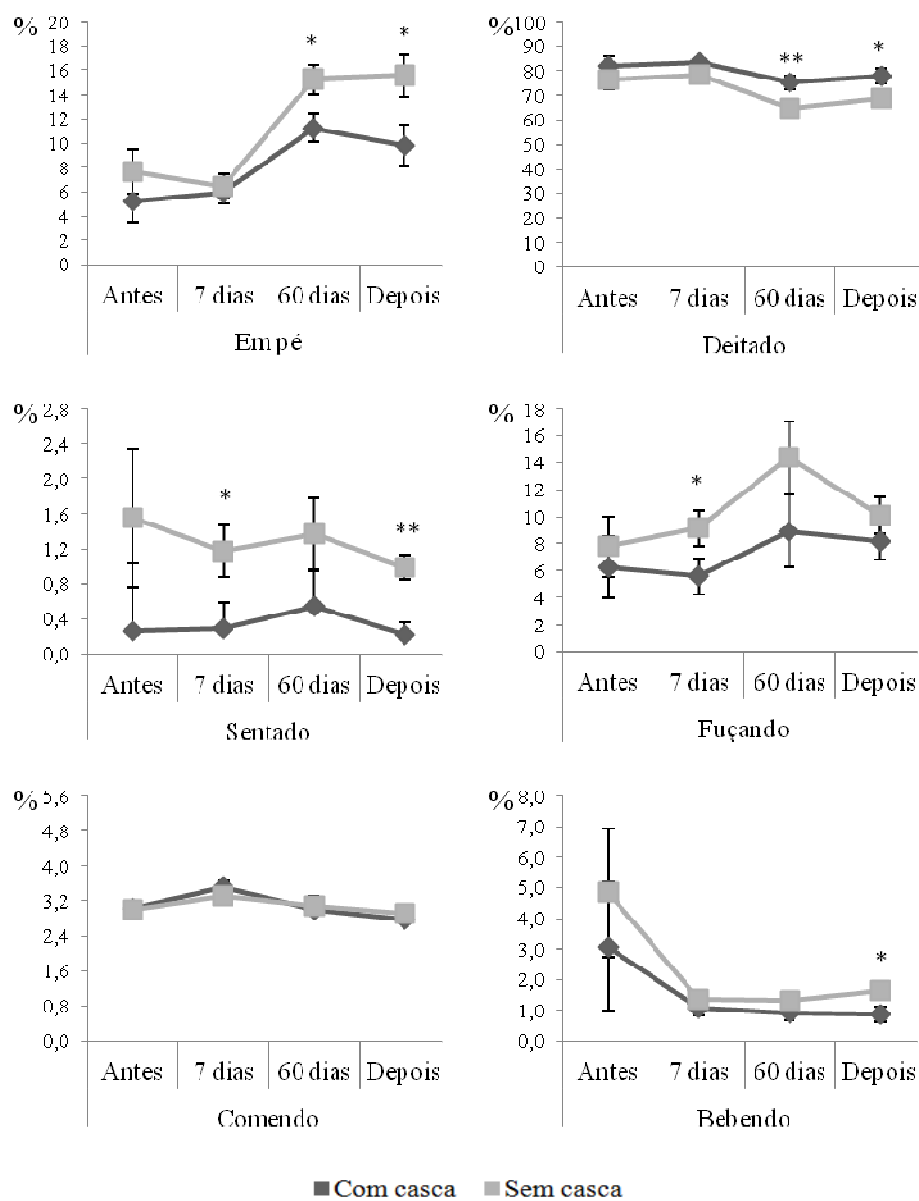


Figura 4 - Comportamento pela tarde (12h05 – 18h30) de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso. Média e erro padrão da média. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$. $n = 8$.

Discussão

Durante todo o período experimental, todos os animais se mantiveram clinicamente saudáveis, de forma que não foram observados comportamentos anormais decorrentes de patologias.

O sistema intensivo de criação apresenta diversos fatores geradores de estresse que comprometem o bem-estar dos suínos, pois os animais são retirados de seu *habitat* natural e manejados em espaços restritos, característica de um sistema tradicional de confinamento. Assim, o enriquecimento ambiental entra como uma ferramenta que pode garantir o bem-estar dos animais nessas condições. Essa técnica consiste em introduzir melhorias no próprio confinamento, com o objetivo de tornar o ambiente mais adequado às necessidades comportamentais dos animais (Beattie et al., 2000).

O sistema de criação pode ser enriquecido de diversas maneiras, tais como disponibilização de objetos como brinquedos e fornecimento de materiais como a palha para servirem de elementos de manipulação (Beattie et al., 1998, Bergeron et al., 2000; Jarvis et al., 2002). Diante disso, a utilização de casca de café como enriquecimento ambiental pode melhorar a qualidade de vida dos reprodutores confinados. Entretanto, substâncias farmacologicamente ativas presentes nesse substrato, tais como a cafeína, poderiam influenciar o comportamento animal, sendo necessários, portanto, estudos nesse sentido.

As observações do comportamento é uma das características mais importantes para avaliar o bem-estar animal, uma vez que representa tentativas de adaptações das funções biológicas ao ambiente (Broom, 1991). Alterações de comportamento sugerem interação dos animais com o espaço que os rodeia. No presente experimento foram realizadas filmagens dos animais em diferentes momentos do experimento, no período da manhã e da tarde, já que as variações de temperatura e umidade ao longo do dia poderiam ter influência direta no

comportamento animal (Kunavongkrit e Prateep 1995). Além disso, a maior parte do manejo dos animais e o contato com o homem era realizada na parte da manhã, o que poderia influenciar os resultados caso fossem analisados como período único.

Segundo Nienaber et al. (1987) e Kinavongkrit e Prateep (1995), as condições de umidade e temperatura ideal para suínos adultos varia de 60 a 80% e de 13 a 21 °C, respectivamente. No período da tarde, houve maiores oscilações dessas condições o que poderia justificar, em parte, mudanças de padrões comportamentais nos animais. Entretanto, a manipulação dos animais (arraçoamento, limpeza das baias e coleta de sêmen, por exemplo) pela manhã não permitiu verificar a influência da temperatura e umidade sobre o comportamento dos animais mantidos ou não sobre casca de café.

Não foram observadas diferenças nas temperaturas corporais superficiais dos animais ao final do período experimental. De acordo com Omtvedt et al. (1971), a temperatura ambiente exerce forte influência sobre a temperatura corporal superficial. Além da temperatura, as características do meio que circunda os animais também podem influenciar as trocas de calor corporal pelos mesmos (Kunavongkrit e Prateep 1995). No estudo em questão, a semelhança entre as temperaturas corporais superficiais entre os grupos experimentais indica que a casca de café não interferiu nos mecanismos de trocas nas condições em que o estudo foi realizado.

A presença de estresse é um dos principais parâmetros de avaliação do bem-estar animal. De acordo com Möstl e Palme (2002), o estresse pode ser classificado em agudo e crônico. Em ambos, ocorre elevação das concentrações séricas de cortisol, que podem se manter ou não elevadas dependendo do estímulo estressor (Beerda et al., 1999). Em suínos, o cortisol tem sido comumente utilizado como indicador biológico do estresse já que suas concentrações variam de forma significativa durante o estresse (Goymann et al.,

2003; Gillespie et al., 2009). No caso do presente estudo, não houve influência do uso da casca de café sobre o cortisol salivar dos animais, embora numericamente o uso dessa substância tenha elevado os níveis desse hormônio após 60 dias de uso, ao mesmo tempo em que o grupo controle tenha tido uma redução. O cortisol não representa a única resposta dos animais frente ao estresse. Mudanças de comportamento também podem representar uma importante forma que se adaptar ao agente estressor. Variações nas concentrações de cortisol circulante podem variar de forma significativa em indivíduos que são mantidos nas mesmas condições (Möstl et al., 2002).

Condições de estresse trazem uma série de consequências aos animais, não só produtivas mas também reprodutivas. Tsuma et al. (1996) relatam que altos níveis de cortisol circulante são capazes de reduzir a secreção de hormônios gonadotróficos, causando problemas como infertilidade ou baixa eficiência reprodutiva. No caso do presente experimento, o uso da casca de café não influenciou de forma significativa os níveis de cortisol nos animais, porém, os resultados deste trabalho sugerem que o uso desse substrato tenha reduzido o estado de agitação dos animais. Para a obtenção de bons índices reprodutivos é de extrema importância o controle de todos os fatores que possam afetar o bem-estar dos animais, devendo-se sempre proporcionar condições adequadas para melhor desempenho produtivo e reprodutivo dos animais. Diante disso, a utilização de casca de café como cobertura de piso nas baias de varrões pode ser uma forma de enriquecimento ambiental benéfica, propiciando melhores condições aos animais alojados.

No estudo em questão, não foram observados comportamentos anormais, tais como estereotípias, automutilação, canibalismo, agressividade excessiva e apatia, os quais poderiam indicar condições desfavoráveis ao bem-estar animal (Broom, 1991). Esses comportamentos muitas vezes estão relacionados com uma série de fatores estressantes causados por problemas nas

instalações e no manejo inadequado dos animais. Beattie et al. (2000) relataram que suínos em ambientes enriquecidos utilizaram um quarto de seu tempo diário em comportamento direcionado para a manipulação do substrato presente no piso. Já os animais em ambiente monótono gastaram mais tempo explorando os objetos fixos da baia e se envolveram mais em comportamentos sociais nocivos, tais como, fuçar ou morder outro suíno. No presente experimento, não foi possível observar interação social entre os animais, uma vez que varrões são comumente mantidos em baias individuais.

Com a casca de café os animais não alteraram suas atividades de fuçar o ambiente, o que poderia indicar maior interação dos animais com o substrato. Pelo contrário, na primeira semana de uso houve redução nessa atividade durante a tarde quando a casca de café foi utilizada. Além disso, a casca sobre o piso aumentou o número de vezes em que os animais estiveram deitados e reduziu o número de vezes em que estiveram sentados ou em pé na maior parte das observações realizadas. Os animais permaneceram menos tempo sentados, o que é um indicativo de que a cama estava favorável. Suínos em piso desconfortável permanecem na posição de cão sentado (Mendes, 2012).

Esses resultados sugerem que animais adultos podem manifestar comportamentos diferentes dos animais jovens. Além disso, os animais utilizados neste experimento já estavam adaptados às condições de manejo impostas pela granja, o que pode ser comprovado pela ausência de comportamentos estereotipados antes do início do experimento.

Conclusão

A casca de café como cobertura de piso para varrões pode ser utilizada como enriquecimento ambiental para melhorar os padrões comportamentais dos animais.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Capes (PNPD Institucional), Fapemig (PPM-00460-12), Minitub do Brasil, Fazenda São Paulo e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFLA pelo apoio concedido.

Referências

Anderson, D. E., Muir, W.W., 2005. Pain management in ruminants. *Vet.Cli. Food Anim.* 69, 19-31.

Beattie, V. E., O'Connell, N. E., Moss, B. W., 2000. Influence of environmental enrichment on the behavior, performance and meat quality of domestic pigs. *Livest. Prod. Sci.* 65, 71–79.

Beattie, V.E., Walker, N., Sneddon, I.A., 1998. Preference testing of substrates by growing pigs. *Anim. Welfare.* 7, 27–34.

Beerda, B., Schilder, M.B., Bernadina, W., 1999. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. II. Hormonal and immunological responses. *Phys. and Behav.* 66, 243-254.

Bergeron, R., Bolduc, J., Ramonet, Y., Meunier-Salaün, M. C., Robert, S., 2000. Feeding motivation and stereotypes in pregnant sows fed increasing levels of fiber and/or food. *Anim. Behav. Sci.* 70, 27-40.

Broom, D.M., 1991. Animal welfare: concepts and measurement. *J. of Anim. Sci.* 69, 4167-4175.

Caielli, E. L. Uso da palha de café na alimentação de ruminantes. *Informe Agropecuário*, v.10, n.119, p.36-38, 1984.

Chauhan, M. S. et al. 1998. Influence of theophylline on cleavage rate and embryonic development following in vitro fertilization of buffalo oocytes. *Indian Journal Animal Science*, 68, 9, 920–922.

Colás, C; Cebrían'Pérez, J. A. Minõ-Blanco, T. Caffeine induces RAM sperm hyperactivation independent of cAMP-dependent protein kinase. *International Journal Andrology*, Copenhagen, v. 33, n. 1, p. 187-197, fev. 2010.

Fagundes, A.C.A., Negrão, J.A., Silva, R. G., Gomes, J. D. F., Souza, L. W. O., 2008. Environmental temperature and serum cortisol levels in growing-finishing pigs. *Braz. J. of Vet. Res. and Anim. Sci.* 45, 136-140.

Garcia, I.F.F., et al., 2000. Desempenho de cordeiros Texel x Bergamácia, Texel x Santa Inês puros, terminados em confinamento, alimentados com casca de café como parte da dieta. *Rev. Bras. Zoo.* 29, 564-572.

Gillespie, C. F., Phifer, J., Bradley, B., Ressler, K. J., 2009. Risk and resilience: Genetic and environmental influences on development of the stress response. *Depr. and Anx.* 26, 984-992.

Goymann, W., East, M. L., Wachter, B., 2003. Social status does not predict corticosteroid levels in postdispersal male spotted hyenas. *Horm. and Behav.* 43, 474-479.

Jarvis, S., Calvert, S. K., Stevenson, J., VanLeeuwen, N., Lawrence, A. B., 2002. Pituitary-adrenal activation in pre-parturient pigs (*Sus scrofa*) is associated with behavioral restriction due to lack of space rather than nesting substrate. *Anim. Welfare.* 11, 371-384.

Kunavongkrit, A., Prateep, P., 1995. Influence of ambient temperature on reproductive efficiency in pigs: boar semen quality. (1995). *Pig J.* 35, 43-47.

Melo, F.A.O., et al., 2005. Avaliação da utilização da palha de café para o aquecimento indireto de ar para secagem de produtos agrícolas. *Rev. Eng. na Agri.* 13, 49-54.

Mendes, A., Corrêa, M., Pouey, M., 2012. Aspectos anatômicos, clínicos e de controle das alterações no sistema locomotor de suínos. *Current Agricultural Science and Technology*, 0, 4.

Möstl, E., Palme, R., 2002. Hormone as indicators of stress. *Domest. Anim. Endocr.* 23, 67-74.

Newberry, R. C., 1995. Environmental enrichment: increasing the biological relevance of captive environments. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 44, 229.

Nienaber, J.A., Hahn, L.G., Yen, J.T., 1987. Thermal environment effects on growing-finishing swine, part I-Growth, feed intake and heat production. *Transaction of the ASAE*. 30, 1772-1775.

Omtvedt, I.T., Nelson, R. E., Edwards, R. L., Stephens, D. F., Turman, E. J., 1971. Influence of heat stress during early, mid and late pregnancy of gilts. *J. of Anim. Sci.* 32, 312-317.

Shepherdson, D.J., 1998. Tracing the path of environmental enrichment in zoos. In Shepherdson, D.J.; Mellen, J.D.; Hutchins, M. (Eds.). *Second Nature: environmental enrichment for captive animals*. Washington D.C. Smithsonian Institution Press. 1, 1-12.

Tsuma, V. T., Einarsson, S., Madej, A., Kindahl, H., Lundeheim N., 1996. Effect of food deprivation during early pregnancy on endocrine changes in primiparous sows. *Anim. Reprod. Sci.* 41, 267-278.

ARTIGO 2 Qualidade do sêmen e desempenho reprodutivo de varrões mantidos em baias convencionais contendo casca de café como cobertura de piso

Artigo a ser submetido à Revista Animal (Cambridge, online)

Qualidade do sêmen e desempenho reprodutivo de varrões mantidos em baias convencionais contendo casca de café como cobertura de piso

M.C. Teles¹, M.G. Zangeronimo¹

¹*Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 37200-000, Brasil*

“Runninghead”: Casca de café como cobertura de piso de baia para varrões

Resumo

Objetivou-se avaliar a influência do uso da casca de café como cobertura de piso sobre a qualidade do sêmen de varrões utilizados para inseminação artificial. Foram utilizados dezesseis reprodutores suínos divididos em dois grupos, sendo o primeiro mantido em sistema convencional de piso compacto e outro mantido em piso compacto com cobertura de casca de café. O período experimental foi de 60 dias, com coletas semanais do sêmen. Antes e após 60 dias foram realizadas avaliações seminais do ejaculado (volume, concentração e motilidade espermática) e das doses inseminantes (motilidade, vigor, viabilidade e anormalidades espermáticas, concentração de malondialdeído (MDA), integridade de acrossoma e taxa de resistência osmótica) antes e após 96 horas de armazenamento a 15 °C. Ao final do experimento, foram dosados os teores de cafeína e ácido clorogênico nas doses inseminantes, bem como foram avaliados o desempenho reprodutivo (tamanho da leitegada e taxa de retorno ao cio) das fêmeas cobertas com sêmen dos animais experimentais. Observou-se que as doses inseminantes proveniente dos animais mantidos em baias contendo casca de café continham $2,545 \pm 0,868$ µg de cafeína/100 mL, sem quantidades significativas de ácido clorogênico. A casca de café não influenciou ($P>0,05$) o volume e a concentração do sêmen *in natura*, porém, piorou ($P<0,05$) a motilidade espermática. Não houve diferença ($P>0,05$) nos parâmetros de qualidade das doses inseminantes de animais mantidos ou não sobre casca de

café, com exceção da concentração de MDA, que aumentou ($P < 0,05$) após 96 horas de armazenamento quando esse composto foi utilizado. Não houve influência ($P > 0,05$) da casca de café sobre a taxa de retorno ao cio e o tamanho da leitegada das fêmeas inseminadas com os animais experimentais. Conclui-se que o uso da casca de café como cobertura de piso prejudica a qualidade do sêmen *in natura* e das doses inseminantes armazenadas por 96 horas.

Palavras-chave: antioxidante, cafeína, enriquecimento ambiental, espermatozóide, suíno

Implicações

Há uma grande preocupação com o bem-estar animal, especialmente em sistemas intensivo de produção, como a suinocultura. O estresse causado pela ausência de bem-estar tem efeito negativo na qualidade de vida do animal, podendo influenciar a qualidade do sêmen. Nesse caso, o uso de casca de café como cobertura de piso para varrões poderia trazer benefícios reprodutivos, além de assegurar o bem-estar animal, ou prejudicar a qualidade das doses inseminantes, já que substâncias metabolicamente ativas podem ser encontradas nesse composto.

Introdução

Nas últimas décadas, houve um aumento considerável na preocupação com o bem-estar animal, especialmente em sistemas intensivo de produção, como a suinocultura. Nesse contexto, os produtores devem se ajustar às necessidades do consumidor, mantendo em sua atividade animais criados em condições adequadas. Por outro lado, estudos mostram que animais que não estejam em condições de bem-estar não manifestam totalmente seu potencial produtivo e reprodutivo, mesmo que as condições sanitárias e nutricionais

estejam aparentemente satisfatórias (Tsuma et al., 1996; Beattie et al., 2000). Nesse caso, o uso de novas técnicas capazes de garantir o bem-estar animal se faz necessário.

Na produção suinícola intensiva atual, os varrões são mantidos em baias fechadas, na maioria das vezes sem acesso à área externa. Esse tipo de manejo pode ter influência direta nas condições de conforto e bem-estar animal (Lovedahl et al., 2005). Sabe-se que o estresse tem efeito negativo na qualidade de vida do animal, podendo influenciar a qualidade do sêmen (Gollenberg et al., 2010). Dessa forma, medidas para amenizar os fatores estressantes na produção são importantes.

Outra característica da suinocultura é que a maioria das inseminações são realizadas com sêmen resfriado diluídas, usualmente armazenadas entre 15 e 17 °C por até 72 horas (Johnson et al., 2000). Após esse tempo, o sêmen apresenta redução considerável na sua qualidade, devido à destruição das membranas por radicais livres de oxigênio (ERO) (Ball et al., 2001), além do desgaste metabólico dos espermatozoides provocado pelo rápido consumo de nutrientes disponíveis no plasma seminal e no diluidor (Breininger et al., 2005). Assim, diferentes substâncias têm sido frequentemente adicionadas às doses inseminantes com o intuito de regular o metabolismo espermático e, conseqüentemente, melhorar a qualidade do sêmen armazenado a curto e a longo prazo (Mendez et al., 2013).

A casca de café é um co-produto originado da cafeicultura, na maioria das vezes utilizada como resíduos na alimentação de animais (Garcia et al., 2000), como fonte de calor (Melo et al., 2005) e como adubo orgânico (Garcia et al., 2000). Recentemente, os compostos presentes no café têm despertado interesse devido às suas funções biológicas. Dentre essas substâncias, destacam-se aquelas com propriedades farmacológicas comprovadas. A cafeína, por exemplo, está presente na proporção de 1,3% na casca de café *in natura*

(Yoshida, 2005) e tem propriedades estimulantes do metabolismo celular inclusive dos espermatozoides (Louglin e Agarwal, 1992; Chauhan et al., 1998). Já os ácidos clorogênicos, que aparecem na ordem de 0,6% na matéria seca (Sánchez-González et al., 2005), representam o grupo de compostos com propriedades antioxidantes capazes de neutralizar radicais livres formados no interior das células (Lekse et al., 2001; Ghiuru et al., 2010). Nesse caso, o uso de casca de café como cobertura de piso para varrões poderia trazer benefícios à qualidade do sêmen, além de assegurar um destino adequado para esse co-produto gerado na agricultura.

Portanto, objetivou-se, com esse estudo, avaliar a influência do uso da casca de café como cobertura de piso na qualidade do sêmen de varrões e o desempenho reprodutivo de varrões utilizados para inseminação artificial.

Material e métodos

Animais, local e delineamento experimental

O experimento foi realizado entre os meses de setembro à novembro de 2013 na Fazenda São Paulo, uma granja comercial situada no município de Oliveira, Minas Gerais, Brasil. Foram utilizados dezesseis reprodutores suínos de linhagens comerciais (Agrocercos, DB e Genetiporc) em idade reprodutiva entre 9 e 30 meses, todos com fertilidade comprovada, treinados e adaptados à coleta de sêmen. Os animais foram alojados em baias individuais com 2,75 m de comprimento, 2,10 m de largura e 1,30 m de altura, delimitadas com grades. Os animais receberam diariamente 3,0 kg de ração específica para reprodutores, dividida em dois arraçoamentos, às 8h00 e às 14h00. Água foi fornecida *ad libitum*. A limpeza das baias foi realizada diariamente para remoção das excretas e material úmido.

Os animais foram divididos em dois grupos, sendo o primeiro grupo

mantido em sistema convencional de piso compacto e outro mantido em piso compacto com cobertura de casca de café de aproximadamente 3,0 a 4,0 cm sobre o piso. A cobertura de casca de café foi trocada, pelo menos, de quatro em quatro dias, ou sempre que a umidade fosse considerada excessiva. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com dois tratamentos e oito repetições, sendo a parcela experimental representada por duas avaliações de cada animal. O período experimental foi de 60 dias.

Procedimento experimental

Antes do início do experimento, todos os animais tiveram suas características reprodutivas avaliadas. Em seguida, a cada semana, foi realizada uma coleta de sêmen de cada um dos animais com auxílio de um manequim fixo em sala de coleta, sempre às 9h00 da manhã. O procedimento foi realizado pelo método da mão enluvada utilizando um frasco/recipiente graduado com capacidade para 500 mL, aquecido a 37 °C e protegido por recipiente isotérmico. Antes da coleta, foi realizada a higienização do prepúcio através de uma pressão manual no sentido da abertura prepucial e limpeza da região com papel toalha descartável. Durante a coleta, foi feita a separação da fração gelatinosa do ejaculado por meio de um filtro adaptado ao frasco coletor. Apenas a fração rica do ejaculado foi utilizada.

Após a coleta, o sêmen foi encaminhado ao laboratório de reprodução da própria granja, onde se realizou as avaliações iniciais de motilidade, vigor e concentração espermática. Previamente à chegada do ejaculado ao laboratório, o diluente BTS[®] (*BeltsvilleThawingSolution*) foi preparado de acordo com as recomendações do fabricante e mantido à temperatura de 35 °C em banho-maria. Após a determinação da concentração através da câmara de Neubauer, calculou-se o volume do sêmen a conter três bilhões de espermatozoides. Nesse volume, foi adicionado o diluente BTS[®] na mesma temperatura do ejaculado, produzindo

doses inseminantes de 100 mL, que foram mantidas a temperatura ambiente e protegidas da luz por 90 minutos antes de serem destinadas à inseminação artificial da granja. Todo material que foi utilizado na avaliação seminal e que entrou em contato com o sêmen foi aquecido a 37 °C em estufa, banho-maria ou placa aquecedora.

As doses obtidas antes do início do experimento e 60 dias após foram encaminhadas ao Setor de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, Minas Gerais, Brasil, distante 75 km, para avaliações e posterior armazenamento.

Com o sêmen obtido nos últimos 15 dias do experimento, foi avaliado a taxa de retorno ao cio das fêmeas e o tamanho da leitegada das fêmeas inseminadas com sêmen que foram mantidos ou não em baias contendo casca de café como cobertura de piso.

Avaliações seminais

Antes das avaliações seminais, uma amostra de 1000 µL da dose inseminante foi centrifugada á 3360 g durante 10 minutos (Centrifuges-5415C, Eppendorf®, Foley, CA) para a obtenção de 900 µL de plasma seminal, que foi congelada a -80 °C para posterior análise de cafeína e ácido clorogênico.

As avaliações seminais foram realizadas antes e após 96 horas de armazenamento a 15 °C. Em cada avaliação, uma alíquota de 10 mL da dose inseminante foi incubada em banho-maria a 37 °C. Nos tempos 5 minutos, 2 horas e 4 horas de incubação foram feitas avaliações de motilidade e vigor espermáticos, a viabilidade, integridade do acrossoma e alterações morfológicas, foram analisadas somente em 5 minutos de incubação. Aos 120 minutos foram coletadas amostras que foram congeladas à - 80 °C para posterior determinação da peroxidação lipídica.

A motilidade espermática foi avaliada em uma gota de sêmen colocada entre lâmina e lamínula previamente aquecidas a 37 °C e observada de forma subjetiva por duas pessoas treinadas em um total de dez campos em microscopia óptica com aumento de 100x. Os valores foram expressos em percentual de células móveis da amostra. Para o vigor, foram atribuídos valores de zero a cinco pontos, sendo os valores mais elevados indicadores de espermatozóides mais vigorosos.

A viabilidade espermática foi avaliada após a mistura de uma gota de sêmen a uma gota de eosina-nigrosina, seguindo a metodologia de Blom (1950). Após esfregaço em lâmina de microscopia, um total de 100 células foi avaliado em microscópio óptico em aumento de 400x. Células não coradas foram consideradas como tendo membranas integras, células coradas foram consideradas mortas. Os valores foram expressos em porcentagem de células com membranas integras em relação ao número total de células contadas.

Para integridade acrossômica, uma alíquota de 10 µl de sêmen foi adicionada em 10 µl de corante de POPE – *Fast Green*/Rosa de Bengala (POPE, 1991) e incubada por 60 segundos. Após esse período, foi confeccionado um esfregaço em lâmina de microscopia, onde se avaliou o número de espermatozoides com o acrossoma íntegro (região acrossomal corado de azul) e não íntegro (região acrossomal não corada ou fracamente corada) em microscopia de contraste de fases em aumento de 1000x.

Para alterações morfológicas, algumas gotas de sêmen foram diluídas em solução formol-citrato a 3%. Posteriormente, uma alíquota de 10 µl da solução foi colocada entre lâmina e lamínula e avaliada em microscópio de contraste de fase em aumento de 1000x. Foram contabilizadas as alterações de acrossoma, de cauda, de cabeça e de peça intermediária e a presença de gota citoplasmática proximal. Os valores foram expressos em porcentagem, considerando o número total de alterações detectadas em relação ao número total de células avaliadas.

Para resistência osmótica, uma alíquota de 100 μL de sêmen foi adicionada em 900 μl de solução 150 mOs e, posteriormente, incubada por 40 minutos a 37 °C em banho-maria. Em seguida, foi avaliada a proporção de espermatozoides com a cauda enrolada e com a cauda reta, utilizando um microscópio de contraste de fase com aumento de 1000 vezes. Para a análise, foram analisados um total de 100 espermatozoides. Espermatozoides com a cauda reta foi indicativo de ruptura de membrana.

Avaliações bioquímicas

A quantificação de cafeína e ácido clorogênico na casca de café e na dose inseminante foi realizada no Departamento de Ciências de Alimentos, no Laboratório Análise Avançadas e Biotecnologia na Universidade Federal de Lavras, seguindo a metodologia descrita por Kopcak (2003), após a extração dos compostos da casca de café, a amostra foi filtrada em membrana de 0,20 μm e injetada em Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (UPLC, LC-2010HT, Shimadzu, São Paulo - Brasil). Para as análises cromatográficas, utilizou-se coluna e pré-coluna de fase reversa C18 SHIM-PACK (Shimadzu, Kyoto - Japão). A eluição foi isocrática empregando-se metanol: ácido acético: água pura 18,2 M Ω (25 : 0,5; 74,5; v:v:v) como fase móvel e vazão de 1,0 mL min⁻¹ a 30 °C. As concentrações de cafeína e ácido clorogênico foram calculadas por comparação da área do pico da amostra com área do pico dos padrões.

As amostras do plasma seminal, foram descongeladas, filtradas em membrana de 0,20 μm e injetada em Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (UPLC, LC-2010HT, Shimadzu, São Paulo - Brasil). Para as análises cromatográficas, utilizou-se o mesmo método descrito anteriormente.

Para avaliar o grau de peroxidação lipídica, foram mensuradas as concentrações de ácido malondialdeído (MDA) nas amostras seminais utilizando

o Kit QuantiChrom™TBARS ASSAY (DTBA- 100 - Bioassay Systems, Hayward, USA), seguindo as instruções do fabricante.

Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk). Em caso de não significância, os dados foram submetidos à análise de covariância, sendo as características iniciais do sêmen utilizadas como co-variável. No caso de dados não paramétricos as médias foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Para porcentagem de retorno ao cio, foi utilizado o modelo de regressão binomial e, para total de nascidos análise de co-variância, tendo a ordem de parto como co-variável. Toda análise estatística foi realizada no programa estatístico Action 2.4, com $\alpha = 5\%$.

Resultados

As concentrações de cafeína e ácido clorogênico na casca de café utilizadas durante o experimento foram, respectivamente, de $0,540 \pm 0,115$ g e $0,454 \pm 0,069$ g a cada 100 g na matéria natural. O sêmen dos animais mantidos em baias contendo casca de café como cobertura de piso apresentaram $2,545 \pm 0,868$ μ g de cafeína/100 mL de sêmen, sem quantidades significativas de ácido clorogênico. Nenhuma dessas substâncias foi encontrada nas doses inseminantes provenientes dos varrões mantidos em baias com piso sem cobertura.

A casca de café não influenciou ($P > 0,54$) o volume e a concentração do sêmen *in natura*, porém, piorou ($P < 0,01$) a motilidade espermática (Tabela 1). Não houve influência ($P > 0,05$) da casca de café sobre a concentração de MDA nas doses inseminantes antes do armazenamento, porém, no sêmen armazenado por 96 horas proveniente de animais mantidos sobre casca de café houve maior concentração ($P < 0,01$) dessa substância. Entretanto, esse aumento não foi suficiente ($P > 0,18$) para alterar a qualidade do sêmen diluído antes e após o

armazenamento. O decréscimo da motilidade espermática durante a incubação a 37°C foi semelhante entre os grupos experimentais.

Avaliando numericamente a qualidade do sêmen resfriado por 96 horas, observou-se que a qualidade do mesmo não se manteve independente do uso da casca de café como cobertura de piso para varrões.

Não houve influência ($P>0,05$) da taxa de retorno ao cio e o tamanho da leitegada das fêmeas inseminadas com animais que foram mantidos ou não em baias contendo casca de café como cobertura de piso.

Discussão

A elaboração e a condução de estudos que visem melhorias nas condições de manejo de animais de produção são importantes na atualidade, haja vista não só a preocupação crescente do consumidor com o bem-estar animal, mas também com a necessidade de se aumentar a produtividade para atender à demanda cada vez maior por alimentos de origem animal (Beattie et al., 2000). Além disso, o destino adequado de co-produtos gerados na agricultura tais como a casca de café também se fazem necessários.

O presente estudo teve duração de 60 dias, tempo necessário para acontecer a espermatogênese e maturação espermática (Courot et al., 1970) e a possível influência de substâncias presentes na casca de café sobre a estrutura espermática suína. A presença de cafeína no sêmen comprova que os animais interagiram com o substrato ingerindo de forma voluntária o material colocado sobre o piso. Esse fato poderia influenciar a qualidade dos ejaculados destinados à inseminação artificial. Embora também houvesse ácidos clorogênicos na casca de café utilizada no experimento, não se detectou quantidades significativas dessa substância nas doses inseminantes.

Os ácidos clorogênicos pertencem ao um grupo de compostos fenólicos com propriedades antioxidantes (Lekse et al., 2001), sendo capazes de

neutralizar radicais livres formados no interior das células (Ghiuru et al., 2010) devido às suas propriedades de óxido-redução e anti-peroxidativas de membrana (Basile et al., 2005). Essa característica poderia auxiliar na redução do estresse oxidativo sofrido pelos espermatozóides suínos, especialmente quando armazenados por tempo superior a 72 horas. Além disso, EROs em concentrações fisiológicas induzem a capacitação espermática, a reação acrossômica e a fosforilação de tirosinas em diferentes espécies, inclusive a suína (Awda et al., 2009). Nesse caso, a presença de antioxidantes poderia evitar a reação acrossômica espontânea e a capacitação espermática durante o período de armazenamento do sêmen (O'Flaherty et al., 1997). No caso do presente estudo, a ausência de ácidos clorogênicos no sêmen fez com que não fossem detectadas diferenças nas concentrações de malondialdeído nas doses inseminantes proveniente de animais mantidos sobre a casca em relação ao grupo controle e, provavelmente, na porcentagem de células anormais e na viabilidade espermática.

Há muito tempo, inibidores da fosfodiesterase comumente têm sido utilizados em soluções crioprotetoras, sendo associadas com aumento da motilidade e longevidade dos espermatozóides (Hicks et al., 1972; Ijaz & Ducharme, 1995). A cafeína pertence ao grupo das metilxantinas que são capazes de inativar a fosfodiesterase no interior das células (Louglin & Agarwal, 1992; Chauhan et al., 1998) e, com isso, elevar as concentrações de AMPc intracelular a qual tem efeito positivo sobre a glicólise (Hicks et al., 1972), aumentando a motilidade e acelerando a maturação e a capacitação espermática (Morisawa et al., 1983; Tash & Means, 1983). Além disso, a cafeína também é capaz de induzir um aumento no teor de cálcio intracelular em espermatozoides viáveis que contribui para a ativação da adenilciclase com consequente aumento do AMPc (Colás et al., 2010).

Embora a cafeína tenha sido associada à maior motilidade espermática quando adicionada ao sêmen, no presente estudo observou-se redução dessa característica no sêmen *in natura* quando os animais foram mantidos sobre a casca de café. Esse resultado pode estar atribuído à presença desse composto no ejaculado desses animais. No momento que antecede a cópula, ocorre a ativação dos espermatozoides já no epidídimo, os quais utilizam substratos energéticos contidos nas secreções epididimárias e, posteriormente, no plasma seminal (Miki, 2007). Durante esse tempo, pode ter ocorrido um esgotamento das reservas energéticas contidas no sêmen, já que a maior taxa de glicólise induzida pela cafeína consome mais substrato em relação à via oxidativa (Mukai & Okuno, 2004), resultando na menor motilidade espermática observada. Após a diluição, não houve efeito desse parâmetro antes e após o armazenamento das doses inseminantes. Além disso, as concentrações de cafeína presentes no ejaculado foram reduzidas cerca de dez vezes após a diluição, reduzindo portanto seu efeito sobre a célula espermática.

A motilidade espermática reduziu de forma similar durante o tempo de incubação entre os grupos experimentais. Após a diluição, a concentração de cafeína presente no sêmen foi reduzida, tornando-se insuficiente para resultar em diferenças significativas na queda da motilidade. Coscionie et al. (2001) observaram que concentrações variando de 2,5 a 7,5 μM foram insuficientes para influenciar o vigor e a motilidade, porém, Niwa & Ohgata (1988) verificaram que a adição 10 μM de cafeína é capaz de aumentar a motilidade espermática, especialmente nos ejaculados de menor qualidade. No presente trabalho, a concentração média de cafeína no sêmen de animais mantidos sobre a casca de café foi de 2,545 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ na dose inseminante, o equivalente a 0,131 μM . Este resultado confirma os resultados obtidos no presente estudo, não só para os parâmetros de motilidade e vigor, mas para os outros parâmetros avaliados.

Também não houve efeito do uso da casca de café como cobertura de piso sobre a qualidade do sêmen resfriado e armazenado por 96 horas. Yest et al. (2008) não encontraram diferenças em relação à preservação do sêmen resfriado por até 48 horas quando adicionaram até 8,0 mM de cafeína no sêmen, porém, observaram diferenças com 72 horas de armazenamento. No presente trabalho, as concentrações de cafeína presentes no sêmen foram insuficientes para obter diferenças significativas entre os grupos experimentais.

Com relação ao bem-estar animal, sabe-se que o estresse prolongado leva a uma diminuição da qualidade do sêmen, caracterizada por baixa motilidade, viabilidade e morfologia normal, além de menor concentração espermática, afetando negativamente o desempenho reprodutivo dos animais (Córdova-Izquierdo et al., 2007). Isso decorre da maior liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise, elevando os níveis de corticosteróides o qual reduz a liberação de hormônios no eixo reprodutivo dos animais (Gentry et al., 2004). No caso do presente estudo, a casca de café não influenciou, aparentemente, a qualidade do sêmen, com exceção da motilidade espermática. Entretanto, essa diminuição pode estar relacionada à presença de cafeína no sêmen *in natura*.

Não houve influência da taxa de retorno ao cio e o tamanho da leitegada das fêmeas inseminadas com animais que foram mantidos ou não em baias contendo casca de café como cobertura de piso. Yamaguchi et al. (2013) não confirmam os achados obtidos no presente trabalho, a ingestão de cafeína pelas fêmeas, afetou o número de nascidos. Acredita-se que a cafeína tem um potente efeito imunomodulador devido a sua capacidade para diminuir as atividades quimiotáticas e fagocíticas das células polimorfonucleares sanguíneas, quando incubados *in vitro* junto com os espermatozóides suínos (Li et al., 2011, 2012).

De uma forma geral, os resultados do presente experimento mostram que o uso de casca de café como cobertura de piso, influenciou a qualidade do sêmen *in natura* e após 96 horas de armazenamento, porém não influenciou após a diluição. Esta pequena interferência na qualidade não influenciou a taxa de retorno ao cio e o tamanho da leitegada das fêmeas inseminadas com o sêmen dos animais mantidos em baias contendo casca de café como cobertura de piso.

Conclusão

Conclui-se que o uso da casca de café como cobertura de piso prejudica a qualidade do sêmen *in natura* e das doses inseminantes armazenadas por 96 horas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Capes (PNPD Institucional), Fapemig (PPM-00460-12), Minitub do Brasil, Fazenda São Paulo e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFLA pelo apoio concedido.

Referências

Awda BJ, Mackenzie-Bell M and Buhr MM 2009. Reactive oxygen species and boar sperm function. *Biol Reproduction* 81, 553–561.

Ball B A, Medina V, Gravance CG and Baumbe J 2001. Effect of antioxidants on preservation of motility, viability and acrosomal integrity of equine spermatozoa during storage at 5 °C. *Theriogenology* 56, 577–589.

Basile A, Ferrara L, Pezzo MD, Mele G, Sorbo S, Bassi P and Montesano D 2005. Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from *Paullinia cupana* Mart. *Journal of Ethnopharmacology* 102, 32-36.

Beattie VE, O'Connell NE and Moss BW 2000. Influence of environmental enrichment on the behavior, performance and meat quality of domestic pigs. *Livestock Production Science* 65, 71–79.

Breininger E, Beorlegui NB, O'Flaherty CM and Beconi MT 2005. Alpha-tocopherol improves biochemical and dynamic parameters in cryopreserved boar semen, *Theriogenology* 63, 2126-2135.

Chauhan MS, Singla SK, Palta P, Manik RS and Madan ML 1998. Influence of theophylline on cleavage rate and embryonic development following in vitro fertilization of buffalo oocytes. *Indian Journal Animal Science* 68, 920–922.

Colás C, Cebrián'pérez JA and Minõ-Blanco T 2010. Caffeine induces RAM sperm hyperactivation independent of cAMP-dependent protein kinase. *International Journal Andrology* 33, 187-197.

Córdova-Izquierdo A, Córdova-Jiménez M S, Córdova-Jiménez CA and Guerra Liera JE 2007. El bienestar animal en la reproducción y producción de cerdos. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* 8, 12.

Coscione AC, Reichenbach HD and Schwartz J 2010. Sperm function and production of bovine embryos in vitro after swim-up with different calcium and caffeine concentration. *Animal Reproduction Science* 76, 59-67.

Courot M, Hochereau-Reviere MT and Ortavant R 1970. Spermatogenesis. In: JOHNSON, A.D., GOMES, W.R., VANDEMARK, N.L. (Eds.) *The testis*. New York: Academic Press 339.

Garcia IFF, Perez JRO, Teixeira JC and Barbosa CMP 2000. Desempenho de cordeiros Texel x Bergamácia, Texel x Santa Inês puros, terminados em confinamento, alimentados com casca de café como parte da dieta. *Revista Brasileira Zootecnia* 29, 564-572.

Gentry JG, McGlone JJ, Miller MF and Blanton JR 2004. Environmental effects on pig performance, meat quality, and muscle characteristics. *Journal Animal Science* 82, 209-217.

Ghiuru FV, Ladoși I, Roman I, Hettig A, Zahan M and Miclea V 2010. Antioxidant medium for mangalita boar semen cryopreservation. *Veterinary Medicine* 20, 67.

Gollenberg AL, Liu F, Brazil C, Drobnis EZ and Guzick D 2010. Semen quality in fertile men in relation to psychosocial stress. *Fertility and Sterility* 93, 1104-1111.

Hicks JJ, Pedron N and Rosado A 1972. Modifications of human spermatozoa glycolysis by cyclic adenosine monophosphate (cAMP), estrogens, and follicular fluid. *Fertil.Steril* 23, 886-893.

Ijaz A and Ducharme R 1995. Effects of various extenders and taurine on survival of stallion sperm cooled to 5 degrees C. *Theriogenology* 44, 1039-1050.

Johnson LA, Weitze KF, Fiser P and Maxwell WMC 2000. Erratum to "Storage of boar semen". *Animal Reproduction Science* 62, 143-172.

Kopcak U 2003. Extração de cafeína da planta do guaraná (*Paulliniacupana*) com dióxido de carbono supercrítico e co-solventes. Dissertação (Mestrado Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil.

Lekse JM, Xia L, Stark J, Morrow JD and May JM 2001. Plant catechols prevent lipid peroxidation in human plasma and erythrocytes. *Molecular Cell Biochemistry* 226, 89.

Li JC, Yamaguchi S, Kondo Y and Funahashia H 2011. Caffeine, dibutyryl cyclic-AMP and heparin affect the chemotactic and phagocytotic activities of neutrophils for boar sperm in vitro. *Theriogenology* 75, 1336-1345.

Li JC, Yamaguchi S, Kondo Y and Funahashia H 2012. Boar seminal plasma or hen's egg yolk decrease the in-vitro chemotactic and phagocytotic activities of neutrophils when co-incubated with boar or bull sperm. *Theriogenology* 77, 73-80.

Louglin KRA and Garwal A 1992. The use of theophylline to enhance sperm function. *Archives of Andrology* 28, 99-103.

Lovedahl P, Damgaard LH, Nielsem BL, Thodgberg K, SuG and Rydhmer L 2005. Aggressive behavior of sows at mixing and maternal behavior are heritable and genetically correlate traits. *Livestock Production* 93, 73-85.

Melo FAO, Silva JN and Donzeles SML 2005. Avaliação da utilização da palha de café para o aquecimento indireto de ar para secagem de produtos agrícolas. *Revista Engenharia na Agricultura* 13, 49-54.

Mendez MFB, Zangeronimo MG, Rocha LGP, Faria BG, Pereira BA, Fernandes CD, Chaves BR, Murgas LDS and Sousa RV 2013. Effect of the addition of IGF-I and vitamin E to stored boar semen. *Animal Cambridge* 7, 793-798.

Miki K 2007. Energy metabolism and sperm function. *SocReprodFertil Suppl* 65, 309-325.

Morisawa M, Suzuki K, Shimizu H, Morisawa S and Yasuda K 1983. Effects of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater syprinid fishes. *Journal of Experimental Biology* 107, 95-103.

Mukai C and Okuno M 2004. Glycolysis plays a major role for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement. *Biology of Reproduction* 71, 540-547.

Niwa K and Ohgata O 1988. Synergistic effect of caffeine and heparina on in-vitro fertilization of cattle oocytes matured in culture. *Theriogenology* 30, 733-774.

O'Flaherty C, Beconi M and Beorlegui N 1997. Effect of natural antioxidants, superoxide dismutase and hydrogen peroxide on capacitation of frozen-thawed bull spermatozoa. *Andrologia* 29, 269-275.

Sánchez-González I, Jiménez-Escrig A and Jiménez-Escrig A 2005. In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (talian, espresso and filter). *Food Chemistry* 90, 133-139.

Tash JS and Means AR 1983. Cyclic adenosine 3',5' monophosphate, calcium and protein phosphorylation in flagellar motility. *Biology of Reproduction* 28, 75-104.

Tsuma VT, Elinarsson S, Madej A, Kindahl H and Lundeheim N 1996. Effect of food deprivation during early pregnancy on endocrine changes in primiparous sows. *Animal Reproduction Science* 41, 267-278.

Yamaguchi S, Suzuki C, Noguchi M, Kasa S, Mori M, Isozaki Y, Ueda S, Funahashi H, Kikuchi K, Nagai T and Yoshioka K 2013. Effects of caffeine on sperm characteristics after thawing and inflammatory response in the uterus after

artificial insemination with frozen-thawed boar sêmen. *Theriogenology* 79, 87-93.

Yest M, Briz M, Pinart E, Sancho S, Garcia-Gil N, Badia E, Bassols J, Pruneda A, Bussalleu E, Casas I and Bonet S 2008. Hyaluronic acid delays boar sperm capacitation after 3 days of storage at 15 °C. *Animal Reproduction Science* 109, 236-250.

Yoshida, L. M 2005. Extração se solúveis do café torrado. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Tabela 1 - Qualidade do sêmen *in natura* (média e desvio padrão) das doses inseminantes de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias; (n = 8).

Variável	Casca de café		Valor de P
	Com	Sem	
<i>- Características do sêmen in natura -</i>			
Volume, mL	298,3 ± 32	288,0 ± 49	0,64
Concentração (x 10 ⁶ /ml)	296,0 ± 30	307,2 ± 37	0,54
Motilidade, %	85,0 ± 3,0	90,0 ± 3,0	<0,01
<i>- Após a diluição -</i>			
Células anormais, %	4,29 ± 3,3	4,14 ± 1,9	0,26
Teor de malondialdeído, µM	12,35 ± 5,2	11,06 ± 1,6	0,54
Viabilidade, %	86,9 ± 9,3	89,6 ± 6,0	0,28
Integridade de acrossoma, %	95,6 ± 4,5	95,0 ± 3,3	0,21
Taxa de resistência osmótica, %	76,0 ± 6,5	76,1 ± 4,7	0,96
Motilidade, %*			
5 minutos	73,6 ± 8,0 a	75,7 ± 7,3 a	<0,01
2 horas	63,6 ± 12,8 a	63,3 ± 14,9 a	
4 horas	59,2 ± 12,4 b	35,7 ± 27,6 b	
Vigor*			
5 minutos	2,9 ± 0,4	3,0 ± 0,6	0,18
2 horas	2,7 ± 0,5	2,6 ± 0,5	
4 horas	2,6 ± 0,5	2,3 ± 0,8	
<i>- Após 96 horas de armazenamento -</i>			
Células anormais, %	4,71 ± 2,7	6,86 ± 3,8	0,13
Teor de malondialdeído, µM	17,13 ± 3,1	13,69 ± 3,2	<0,01
Viabilidade, %	79,3 ± 19,1	85,4 ± 8,4	0,08
Integridade de acrossoma, %	94,0 ± 3,1	94,1 ± 3,3	0,33
Taxa de resistência osmótica, %	74,6 ± 11,3	69,3 ± 12,9	0,15
Motilidade, %*			
5 minutos	7,5 ± 10,7 a	8,7 ± 12,6 a	<0,01
2 horas	0,7 ± 1,9 b	2,1 ± 3,9 b	
4 horas	0,0 ± 0,0 b	0,7 ± 1,9 b	
Vigor*			
5 minutos	1,7 ± 1,6	2,1 ± 1,5	0,11
2 horas	0,4 ± 1,1	0,9 ± 1,5	
4 horas	0,0 ± 0,0	0,4 ± 1,1	

* Temperatura de incubação: 35 °C

^{a,b} Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem pelo teste de Kruskal-Wallis (P<0,05)

Tabela 2 – Índices reprodutivos(média e desvio padrão) de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias.

Variável	Casca de café		Valor de P
	Com	Sem	
Número de animais	84	68	-
Ordem de parto	4,08 ± 2,23	5,47 ± 2,17	-
Retorno ao cio,%	3,57	1,47	0,44*
Total de nascidos	15,60 ± 3,71	16,36 ± 3,30	0,20**

* Não significativo ao modelo de regressão binomial (P<0,05)

** Não significativo ao teste F (P<0,05)

ANEXOS**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1A Análise de variância para temperatura superficial da paleta de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias	82
Tabela 2A Análise de variância para temperatura superficial do pernil de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias	82
Tabela 3A Análise de variância para temperatura superficial do lombo de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias	82
Tabela 4A Análise de variância do volume do semem de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias	83
Tabela 5A Análise de variância da concentração do semem de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias	83
Tabela 6A Análise de variância do MDA após a diluição do semem de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias	83
Tabela 7A Análise de variância do MDA após 96 horas de armazenamento do semem de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias	83

Tabela 1A Análise de variância para temperatura superficial da paleta de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias

Fatores	G.L.	SQ	QM	F calculado	Valor de P
Cama	1	7,0225	7,0225	3,2906	0,0928
Temperatura inicial	1	0,2923	0,2923	0,1370	0,7172
Erro	13	27,7426	2,1340		

Tabela 2A Análise de variância para temperatura superficial do pernil de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias

Fatores	G.L.	SQ	QM	F calculado	Valor de P
Cama	1	1,0000	1,0000	0,1156	0,7392
Temperatura inicial	1	7,8385	7,8385	0,9065	0,3584
Erro	13	112,4115	8,6470		

Tabela 3A Análise de variância para temperatura superficial do lombo de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias

Fatores	G.L.	SQ	QM	F calculado	Valor de P
Cama	1	28,8906	28,8906	3,2977	0,0925
Temperatura inicial	1	3,9544	3,9544	0,4514	0,5134
Erro	13	113,8893	8,7607		

Tabela 4A Análise de variância do volume do semem de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias

Fatores	G.L.	SQ	QM	F calculado	Valor de P
Cama	1	373,7222	373,7222	0,2322	0,6393
Volume	1	261,9529	261,9529	0,1628	0,6943
Erro	11	17.701,3805	1.609,2164		

Tabela 5A Análise de variância da concentração do semem de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias

Fatores	G.L.	SQ	QM	F calculado	Valor de P
Cama	1	436,8029	436,8029	0,4033	0,5384
Volume	1	44,2269	44,2269	0,0408	0,8436
Erro	11	11.914,6073	1.083,1461		

Tabela 6A Análise de variância do MDA após a diluição do semem de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias

Fatores	G.L.	SQ	QM	F calculado	Valor de P
Cama	1	5,8364	5,8364	0,3632	0,5590
Peroxidação	1	0,1233	0,1233	0,0077	0,9318
Residuals	11	176,7779	16,0707		

Tabela 7A Análise de variância do MDA após 96 horas de armazenamento do semem de varrões mantidos em baias com ou sem casca de café como cobertura de piso durante 60 dias

Fatores	G.L.	SQ	QM	F calculado	Valor de P
Cama	1	9,5198	9,5198	2,7380	0,2398
Peroxidação	1	28,1256	28,1256	8,0892	0,1046
Erro	11	6,9538	0,6322		