

**DESEMPENHO REPRODUTIVO DE GALOS
LOHMAN-LSL ALIMENTADOS COM
RAÇÕES SUPLEMENTADAS COM
DIFERENTES FONTES DE ÓLEO E NÍVEIS
DE VITAMINA E**

CAROLINA ELIZABETH ORIHUELA RODENAS

2004

CAROLINA ELIZABETH ORIHUELA RODENAS

**DESEMPENHO REPRODUTIVO DE GALOS LOHMAN-LSL
ALIMENTADOS COM RAÇÕES SUPLEMENTADAS COM
DIFERENTES FONTES DE ÓLEO E NÍVEIS DE VITAMINA E**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Prof. Luis David Solis Murgas

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Orihuela-Rodenas, Carolina Elizabeth

Desempenho reprodutivo de galos Lohmann- LSL alimentados com
rações suplementadas com diferentes óleos e níveis de vitamina E /

Carolina Elizabeth Orihuela-Rodenas. -- Lavras : UFLA, 2004.

68 p. : il.

Orientador: Luis David Solis Murgas.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Galo. 2. Reprodução. 3. Nutrição de monogástrico. 4. Ácidos graxos. 5.
Vitamina E. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-636.50855

CAROLINA ELIZABETH ORIHUELA RODENAS

**DESEMPENHO REPRODUTIVO DE GALOS LOHMAN-LSL
ALIMENTADOS COM RAÇÕES SUPLEMENTADAS COM
DIFERENTES FONTES DE ÓLEO E NÍVEIS DE VITAMINA E**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 27 de fevereiro de 2004

Prof^ª. Ana Tereza de Mendonça Viveiros

Prof. Antônio Gilberto Bertechini

Prof. Elias Tadeu Fialho

Prof. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas

Prof. Luis David Solis Murgas
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

DEDICO

A meus pais e irmãos, pelo apoio constante

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade concedida.

Ao Departamento de Zootecnia, por permitir a realização do curso

Ao Professor Elias Tadeu Fialho, coordenador do curso de pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade concedida.

Ao Professor Luis David Solis Murgas,, pela orientação, formação profissional e pelo atendimento constante.

Ao Professor Rilke Tadeu Fonseca de Freitas, pelo auxílio e dedicação nas análises estatísticas.

Ao professor Antônio Gilberto Bertechini, pelas sugestões e ensinamentos.

À minha irmã, Angélica Orihuela Rodenas, por sempre me apoiar e acreditar em mim.

Aos funcionários do setor Fisiologia e Farmacologia do Departamento de Medicina Veterinária, Almir da Conceição Coelho e William César Cortez, pela colaboração na realização do experimento.

À colega Mônica Patrícia Maciel, pela ajuda incontestável.

A todos que me apoiaram no decorrer do curso.

BIOGRAFIA

CAROLINA ELIZABETH ORIHUELA RODENAS, filha de Eleodoro Orihuela Caso e Angélica Rodenas Chávez, nasceu na cidade de Tarma, departamento de Junin, Republica Del Perú.

Em dezembro de 1998, obteve o título Bacharel em Zootecnia, na Universidad Nacional Agrária La Molina, Perú.

Em março de 2002, iniciou o curso de mestrado no Departamento de Zootecnia da UFLA, tendo defendido a dissertação em 27 de fevereiro de 2004.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1 Metabolismo dos ácidos graxos poliinsaturados.....	03
2.2 Ácidos graxos essenciais na composição das biomembranas.....	05
2.3 Influência dos ácidos graxos essenciais no desempenho reprodutivo de galos.....	07
2.4 Importância dos antioxidantes na prevenção da peroxidação de lipídeos.....	12
2.5 Características reprodutivas em galos.....	17
3 MATERIAL E METODOS.....	20
3.1 Local e período experimental.....	20
3.2 Animais experimentais, instalações e manejo.....	20
3.3 Delineamento experimental.....	21
3.4 Rações experimentais e manejo alimentar.....	21
3.5 Variáveis estudadas.....	24
3.5.1 Parâmetros seminais.....	24
3.5.2 Desenvolvimento testicular e avaliação histológica.....	25
3.5.3 Níveis de colesterol e de triglicerídeos no sangue.....	26
3.5.4 Avaliação da taxa de fertilidade do sêmen.....	27

3.6 Análise estatística.....	27
4 RESULTADOS DE DISCUSSÃO.....	29
4.1 Desempenho produtivo.....	29
4.2 Características seminais.....	31
4.2.1 Volume seminal e motilidade espermática.....	31
4.2.2 Concentração espermática e número total de células.....	34
4.2.3 Morfologia espermática.....	37
4.2.4 Taxa de resistência osmótica e termorresistência espermática.....	39
4.3 Desenvolvimento testicular.....	41
4.4 Avaliação histológica testicular.....	44
4.5 Níveis de triglicérides e colesterol.....	47
4.6 Taxa de fertilidade.....	49
5 CONCLUSÕES.....	52
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
ANEXO	62

RESUMO

ORIHUELA, RODENAS, Carolina Elizabeth. **Desempenho reprodutivo galos Lohmann-LSL alimentados com rações suplementadas com diferentes óleos e níveis de vitamina E.** Lavras: UFLA, 2004. 68p. (Dissertação - de Mestrado em Nutrição Animal monogástricos) *

Com o intuito de avaliar o desempenho produtivo e reprodutivo dos galos reprodutores da linhagem Lohmann-LSL. Foram utilizados 112 galos, de 16 até 32 semanas de idade, distribuídas num delineamento em blocos ao acaso, em arranjo fatorial $3 \times 2 + 1$, com três fontes de óleo (soja, canola e girassol em 3%) e dois níveis de antioxidante (200 e 400 mg de vitamina E/kg de ração) e o controle (sem óleo e 0 mg de suplementação de vitamina E). As rações experimentais foram elaboradas à base de milho e farelo de soja. Às 28 e 29 semanas, coletou-se sêmen para a avaliação da motilidade espermática, volume do sêmen, concentração e números de células totais. Às 29 semanas de idade, coletou-se sêmen para avaliar a morfologia, taxa de resistência osmótica e termorresistência do espermatozóide. Quatro galos por tratamento foram sacrificados com 30 semanas de idade, para a retirada dos testículos que foram pesados e uma amostra foi obtida para a avaliação da espessura do epitélio seminífero, diâmetro e a população de células do túbulo seminífero. Amostras de sangue foram coletadas, simultaneamente para a avaliação de triglicérides e colesterol. Das 16 até as 30 semanas de idade foram avaliados o consumo diário e o ganho de peso total. O teste de fertilidade verdadeira foi realizado as 32 semanas de idade. As análises dos dados foram realizadas por meio do programa SAEG. Foi observada interação significativa ($P < 0,05$) entre as fontes de óleos e os níveis de vitamina E, para o consumo de ração, ganho de peso total e o peso do testículo esquerdo e direito. Foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) entre as fontes de óleo, para o ganho de peso total, espessura do epitélio seminífero, peso corporal às 30 semanas de idade. Foi observados diferença significativa ($P < 0,05$) entre os níveis de vitamina E para os níveis de triglicérides, colesterol e peso corporal às 30 semanas de idade. Concluiu-se que qualquer fonte óleo entre as utilizadas neste estudo pode ser adicionada à ração de galos reprodutores, sem necessidade de elevados níveis de vitamina "E".

*Comitê Orientador: Prof. Luis David Solis Murgas (Orientador), Prof. Antonio Gilberto Bertechini, Prof Elias Fialho e prof. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas.

ABSTRACT

ORIHUELA, RODENAS, Carolina Elizabeth. **Breeding performance of Lohmann- LSL roosters fed diets supplemented with different oils and levels of vitamin E. Lavras: UFLA, 68p.** (Master Dissertation in Animal Nutrition – monogastric)*

The aim this study was evaluate breeding and productive performance of Lohmann- LSL roosters. 112 breeding roosters from 16 to 32 weeks of age were allotted to a randomized block design in a 3x2 + 1factorial arrangement, with three sources of oil (soybean, canola and sunflower in 3%) and two levels of antioxidant (200 and 400 mg of vitamin E/kg of diet) and the control (no oil and 0 mg of supplementation of vitamin E). The experimental diets were made based upon corn and soybean meal. At 28 and 29 weeks, semen collection was performed for evaluation of sperm motility, semen volume, concentration and number of total cells. At 29 weeks of age, semen collection to evaluate sperm morphology, rate of osmotic resistance and heat-resistance of spermatozoa. Four roosters per treatment were slaughtered at 30 weeks of age for removal of the testes which were weighted and a sample was obtained for evaluation of the thickness of the seminiferous epithelium, diameter and the population of seminiferous tubule cells. Blood samplings were collected for evaluation of triglycerides and cholesterol. Since 16 up to 30 weeks of age, daily consumption and total weight gain were evaluated. The true fertility test was performed at 32 weeks of age. Data analyses were done with the use of the SAEG program. Significant interaction ($P<0.05$) was found between the sources of oil and the levels of vitamin E for diet consumption, total weight gain and the weight of the left and right testes. Significant interaction was observed ($P<0.05$) among the sources of oils for total weight gain, seminiferous epithelium thickness, body weight at 30 weeks of age. Significant difference ($P<0.05$) was noticed among the levels of vitamin E for the levels of triglycerides, cholesterol and body weight at 30 weeks of age. It may be concluded that any source of oil of the utilized in this study may be added to the breeding rooster diet without the need of elevated levels of vitamin E.

*Guidance Committee: Prof. Luis David Solis Murgas (Adviser) Prof. Antonio Bertechini, Prof. Elias Fialho and Prof. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas.

1 INTRODUÇÃO

Os manuais de manejo avícola para diferentes linhagens recomendam a utilização de um macho para cada dez fêmeas. Considerando uma produção de 290 ovos/ave-leve/ciclo, cada galo será responsável pela fertilização de 2.900 ovos, no decorrer do período de produção. Alterações de 1% na fertilidade provocariam uma redução de 29 ovos por galo.

Nos últimos anos, o consumo de ovos em todo o mundo tem sido incrementado devido ao seu reconhecimento como fonte protéica de alto valor, somado aos altos valores biológicos para a saúde humana. As pesquisas em genética conseguiram selecionar fêmeas com um elevado potencial produtivo, de forma que, nos últimos 30 anos, as linhagens de galinhas exploradas comercialmente aumentaram em 5 dúzias a sua produção anual de ovos. Com isto, a exigência sobre a eficiência reprodutiva dos machos tornou-se maior, tendo aumentando o número de pesquisas com a finalidade de equiparar o potencial reprodutivo dos machos em relação às fêmeas.

Dentre os fatores que afetam a fertilidade dos machos podem-se destacar a temperatura ambiente o fotoperíodo, patologias, manejo e nutrição. Sabe-se que a produção de espermatozoides e a fertilidade são influenciadas pela alimentação, tanto no período de crescimento, quanto no de produção.

Entre os vários nutrientes que exercem efeito sobre a biologia dos espermatozoides estão os lipídeos. Entretanto, há poucas pesquisas relacionadas com a sua influência sobre a fertilidade em aves. Além da função energética, os lipídeos também são componentes celulares de membranas biológicas. Em todas as espécies, os fosfolipídeos são os principais componentes lipídicos dos

espermatozoides, caracterizados por conterem grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados PUFAs, o que sugere que a composição de lipídios e ácidos graxos dos espermatozoides pode ser um fator determinante das taxas de fertilidade. Os PUFAs da série 3 (n-3) e 6 (n-6) são ácidos graxos essenciais, uma vez que não podem ser sintetizados pelos animais e precisam ser fornecidos pela ração.

Os PUFAs são materiais oxidáveis por possuírem insaturações ou duplas ligações que formam radicais livres ao se juntar ao O₂ metabólico dando origem aos peróxidos. Um dos antioxidantes mais utilizados na membrana é a vitamina E que neutraliza os radicais livres. Assim, evita-se dano celular, o qual ocasiona desarranjos metabólicos como inibição de atividades enzimáticas.

Considerando a importância dos ácidos graxos poliinsaturados e a vitamina E na reprodução, o presente trabalho tem como principal objetivo verificar a influência de diferentes fontes de óleos e níveis de vitamina E sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de galos Lohman-LSL.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Metabolismo dos ácidos graxos poliinsaturados

A estrutura química de um ácido graxo poliinsaturado é dada pelo número de átomos de carbono na cadeia e pelas duas duplas ligações a mais. A letra (n) indica a posição da primeira dupla-ligação a partir do grupo metila, pertencendo assim às séries n-3 e n-6 (Mc Dowell, 1989). Os únicos ácidos graxos essenciais (aqueles que não podem ser sintetizados pelo organismo animal) são o α -linolênico (C18:3 n-3) série n-3 e o linoléico (C18:3 n-6) série n-6. O linolênico possui duplas ligações entre os carbonos 3 e 4. O ácido araquidônico (C20:4 n-6) e o linoléico (C18:3 n-6) possuem em comum uma dupla ligação entre os carbonos 6 e 7 (Harper et al., 1982).

Por meio de sucessivos alongamentos e insaturação de suas cadeias, cada um deles origina uma série de ácidos graxos poliinsaturados. Por exemplo, o ácido araquidônico pode ser sintetizado a partir do linoléico (n-6) e o ácido linolênico (n-3) dá lugar aos ácidos eicosapentanoico e docosahexanoico, entre os quais possivelmente exista interconversão. As enzimas que intervêm nesse processo são as mesmas, havendo por isso, uma competição no metabolismo das duas séries. Dessa forma, um excesso de n-6 na dieta limita a formação dos n-3 (Cepero Briz, 1998).

O animal não é capaz de dessaturar (adicionar duplas ligações) metabolicamente para a extremidade metila; a série n-3 permanece sempre assim e a série n-6 tampouco pode mudar (Harper et al., 1982).

Os ácidos linoléico e araquidônico têm um papel importante no transporte de vitaminas lipossolúveis. O ácido araquidônico é abundante no tecido nervoso e nos triglicerídeos de reserva. As duas séries n-3 e n-6 formam parte das lipoproteínas que modulam o metabolismo e transporte do colesterol (Cepero Briz, 1998).

Outro ácido graxo insaturado, não poliinsaturados de importância, é o ácido graxo oléico (C18:1n-9), não essencial, o mais comum na natureza, que pertence à série n-9, por possuir dupla ligação entre os carbonos 9 e 10. As dessaturases animais têm maior afinidade pela série n-3, seguida pela n-6 e, por último, pela n-9 (Harper et al., 1982).

Em 1928, Evans e Burr, citados por Harper et al. (1982), constataram que ratos alimentados com uma dieta purificada não lipídica, à qual foram adicionadas vitaminas A e D, apresentaram uma taxa de crescimento reduzida e uma deficiência na reprodução. Trabalhos posteriores demonstraram que a síndrome da deficiência foi curada pela adição de ácido linoléico, linolênico e araquidônico à dieta. As rações, mesmo com baixos níveis, geralmente contêm quantidades adequadas de ácidos graxos essenciais, sendo, portanto, a deficiência mais rara do que as proteínas, vitaminas e minerais (Swenson, 1996).

O ácido linoléico está presente, em concentrações elevadas, em vários óleos vegetais alimentícios: girassol, soja, canola, milho, algodão e amendoim. O ácido araquidônico está presente nas gorduras animais, embora somente em pequenas quantidades. Em animais experimentais, os sintomas de deficiência destes ácidos graxos incluem redução do crescimento, dermatite, queda na eficiência reprodutiva, menor resistência ao estresse e comprometimento no metabolismo de lipídeos (Whittemore, 1993).

As funções dos ácidos graxos essenciais parecem ser diversas, embora não bem definidas. Além da formação de prostaglandinas e leucotrienos, são

encontrados nos lipídeos estruturais de todas as células e estão relacionadas com a integridade estrutural da membrana da mitocôndria, ocorrendo em altas concentrações nos órgãos reprodutores (Swenson, 1996).

O ácido araquidônico é derivado, geralmente, da posição 2 dos fosfolipídios da membrana plasmática, como resultado da atividade da fosfolipase A₂ e é o substrato para a síntese de compostos como prostaglandinas (PG₂), tromboxanos (TX₂) e leucotrienos (LT₄), segundo Harper et al. (1982). Hwang e Carroll (1986) observaram um aumento significativo da síntese da prostaglandinas (PGE₁ e PGE₂) no sangue de ratos, quando alimentados com óleo de milho, comparados com aqueles que consumiram sebo na ração. Segundo esses autores, as prostaglandinas são reguladores potentes do metabolismo e as variações na sua regulação podem causar alguns efeitos fisiológicos importantes.

Dell e Severson (1989) sugerem que o ácido linoléico estimula a proteína quinase C, desenvolvendo, dessa maneira, um papel importante no crescimento e diferenciação.

2.2 Ácidos graxos essenciais na composição das biomembranas

Existe uma considerável evidência de que a composição de lipídios da membrana do espermatozóide é o maior determinante sobre a motilidade, sensibilidade ao calor e, principalmente, na viabilidade. Os ácidos graxos poliinsaturados podem estar relacionados com as propriedades biofísicas da membrana do espermatozóide, como a fluidez e a permeabilidade (Hammerstedt, 1993).

Os ácidos graxos essenciais na dieta são destinados, principalmente, a formar a estrutura da membrana celular (Holman, 1992). Deficiências destes ácidos graxos por mais de 8 semanas impedem o crescimento, devido às mudanças ocasionadas na membrana das mitocôndrias do fígado, permitindo o aumento da permeabilidade para água e íons, produzindo o inchaço da mitocôndria e uma queda na produção de ATP, causando assim uma deficiência na conversão da energia dos alimentos em energia metabólica (Gurr, 1992). As deficiências dos ácidos graxos essenciais também ocasionam anormalidades dermatológicas (descamação de pele, alopecia e quebra de unhas), infertilidade, anormalidade renal (hematuria e hipertensão), aumento da susceptibilidade às infecções, decréscimo nas contrações cardíacas e eritrócitos fracos, causando hemólises osmóticas. Todos estes sinais de deficiência podem relacionar-se às mudas das biomembranas e as sínteses de eicosanóides. A suplementação, tanto do ácido linoléico (n-6) como do linolênico (n-3), pode manter um crescimento normal, resistência capilar, a estrutura dos eritrócitos e as funções mitocôndriais. O ácido linoléico é, entretanto, superior ao ácido linolênico no tratamento de dermatites, infertilidade, neuropatias e cicatrização. Não se sabe se as diferenças devem-se aos efeitos destes dois ácidos graxos na estrutura da membrana ou pela produção dos correspondentes ecosanóides (Gurr 1992).

As biomembranas têm uma estrutura em bicamada de lipídeos, que serve para separar o exterior e interior da célula, criando uma permeabilidade de íons, moléculas ou mudanças conformacionais nos componentes de membrana (Gennis 1989).

2.3 Influência dos ácidos graxos essenciais no desempenho reprodutivo de galos

Os fosfolipídios dos espermatozoides das aves contêm altas proporções de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (C₂₀₋₂₂) da série n-6, principalmente os ácidos araquidônico (20:4n-6) e o docosatetraenóico (22:4n-6) (Darin-Bennet et al., 1974; Ravie e Lake, 1985; Surai et al., 1998a). Nos espermatozoides dos mamíferos, ocorrem, em maior proporção, os ácidos graxos poliinsaturados da série n-3, particularmente o ácido docosahexanóico (22:6 n-3) (Poulos et al., 1973; Darin-Bennett et al., 1974; Jain e Anand 1976; Lin et al., 1993; Kelso et al., 1997a). Os ácidos graxos poliinsaturados cumprem uma função importante no espermatozoide, mas ainda sem especificidade, apresentando as aves baixa fertilidade quando a concentração destes é reduzida no espermatozoide, segundo Kelso et al. (1996).

As proporções das cadeias longas dos ácidos graxos poliinsaturados (LCPUFA) da série n-6 são variáveis entre as espécies. Nas aves, os espermatozoides dos reprodutores de ovos mostram altos níveis de 22:4 n-6 (31%) e nos perus os mais baixos níveis (13 %) enquanto que os patos e gansos mostram um nível intermediário de 18% a 20%. O ácido araquidônico varia também de acordo com às espécies, sendo de 10% e 19 % para perus e patos, respectivamente, segundo Surai et al. (1998) e Cerolini et al., (1997a).

Kelso et al. (1997b) realizaram um experimento com galos da linhagem Cobb, alimentados com uma dieta controle, com 6% de óleo de soja, rica em ácido linoléico (18:2 n-6) e uma dieta com 6% de óleo de linhaça rica em ácido Ó-linolênico (18:3 n-3) a partir da 23^a até a 72^a semana de idade, observou-se que a concentração dos espermatozoides nos animais que receberam a dieta controle assim como a dieta com óleo de linhaça aumentou significativamente

desde as 24 até as 39 semanas de idade e diminuiu marcadamente entre 54 e 72 semanas. A motilidade foi constante em todas as idades para ambas dietas, mas, às 72 semanas, a motilidade caiu para a dieta com óleo de soja. A fertilidade máxima do sêmen das aves controle foi obtida às 39 semanas, com 82,8% mas diminuiu consideravelmente às 72 semanas (69,5%). O mesmo comportamento foi observado para a dieta com óleo de soja, ou seja às 39 semanas a fertilidade foi de 96,6% e às 72 semanas foi de 69,5 %. Nesse experimento, a concentração de fosfolipídios nos espermatozóides foi máxima às 39 semanas de idade, mas logo depois começou a diminuir consideravelmente sem diferença nenhuma em ambos os grupos. A maioria dos ácidos graxos poliinsaturados presentes nos fosfolipídios dos espermatozóides das aves alimentadas com a dieta controle foi de 20:4 n-6 e 22:4n-6, sendo, na sua maior parte, desprovidos de ácidos graxos poliinsaturados da série n-3, com baixas concentrações de 22:6n-3 (aproximadamente 2%) e 22:5n-3 (0,5 – 1%).

Segundo Kelso et al. (1997b), existe pouca informação sobre os mecanismos envolvidos na liberação dos ácidos graxos desde a circulação até o desenvolvimento do espermatozóide, assim como a incorporação seletiva de ácidos graxos específicos nos fosfolipídios dos espermatozóides.

No espermatozóide dos mamíferos, o 22:6 n-3 desempenha uma importante função sobre a taxa de fertilidade. Uma marcada redução dos ácidos graxos no espermatozóide está associada a uma queda no número de espermatozóides, à motilidade e à capacidade fertilizante (Nissen et al., 1981).

Kelso et al (1997a), em estudo com galos da linhagem Ross alimentados com 6% de óleo de *Tuna orbital* como fonte de n-3, pelo período de 10 até as 58 semanas de idade, demonstraram um incremento dos níveis de 22:6 n-3; 20:5 n-3 e 22:5 n-3 nos lipídeos dos espermatozóides. Já 20:4 n-6 e 22:4 n-6 e a relação n-6/ n-3 foram reduzidos. A proporção de 22:6 n-3 observadas nos

espermatozoides dos galos alimentados com suplementação de 6% de óleo de *Tuna orbital* não ultrapassou os 9,8% comparados aos mamíferos alimentados sem a suplementação deste óleo, atingindo 61,3% e 35,2% em touros e humanos, respectivamente.

Segundo Fujihara et al. (1978); Fujihara et al. (1984) e Wishart (1982), embora os espermatozoides das aves contenham baixas quantidades de ácidos graxos poliinsaturados, comparados aos dos mamíferos, o espermatozoide de aves têm maiores quantidades destes ácidos graxos que outros tecidos corporais. Segundo Cesil et al. (1993), a peroxidação dos lipídeos é considerada a causa principal de perda da fertilidade durante o armazenamento dos espermatozoides.

Em estudo conduzido com galos de linhagem comercial, em que os dados foram coletados às 25 e 60 semanas de idade da ave, a redução da concentração dos espermatozoides diminuiu com a idade, de $2,08 \times 10^9$ para $1,70 \times 10^9$ células mL^{-1} . Este resultado está associado ao incremento da concentração de lipídeos totais no espermatozoide, de $574,55$ para $1122,44$ $\text{g} \times 10^9$ células e no plasma seminal de $142,76$ para $1104,03$ $\text{g} \text{mL}^{-1}$. O incremento dos lipídeos totais foi acompanhado por um incremento na proporção de fosfolipídios de 66,2% para 72,09% do total dos lipídeos e o colesterol livre de 18,52% para 20,16% do total dos lipídeos no espermatozoide. Mas no plasma seminal o fosfolipídio foi de 34,17% para 28,39% do total de lipídios e o colesterol livre foi de 19,89% para 16,02% do total de lipídios. Os fosfolipídios mais abundantes nos espermatozoides e no plasma seminal são o fosfatidiletanolamina e a fosfatidilcolina. Com a idade, a proporção da fosfatidiletanolamina diminuiu de 30,33% para 17,20% do total de fosfolipídios e a proporção de fosfatidilcolina incrementou de 31,74% para 46,53% do total de fosfolipídios no espermatozoide. No plasma seminal a fosfatidiletanolamina também diminuiu de 52,60% para 34,58% do total de fosfolipídios e a

fosfatidilcolina também incrementou de 9,84% para 21,31% do total de fosfolipídios. A redução da fosfatidiletanolamina foi acompanhada por uma considerável redução dos ácidos graxos poliinsaturados mais freqüentes nas aves 20:4 n-6 de 28,91, para 13,99% do total de ácidos graxos e 22:4 n-6 de 33,49% para 23,09% do total de ácidos graxos. Uma possível explicação para isto é que existe uma significativa redução na capacidade das enzimas testiculares de sintetizar ácidos graxos poliinsaturados C₂₀ e C₂₂ (Kelso et al., 1996).

As diferenças observadas no conteúdo de ácidos graxos dos espermatozoides entre as aves e os mamíferos podem ser devido a uma adaptação à temperatura corporal (41°C e 37°C, respectivamente); entretanto, a temperatura dos testículos nos mamíferos é menor do que a temperatura corporal. O tamanho da cadeia entre os ácidos graxos mais comuns das aves e dos mamíferos é o mesmo, 22:4 n-6 e 22:6 n-3, respectivamente. A diferença fundamental é que nas aves ocorrem duas insaturações a menos, o que pode manter uma apropriada propriedade biológica da membrana dos espermatozoides (Kelso et al., 1997b).

Segundo Surai et al. (1998), os ácidos graxos mais abundantes no espermatozoide das aves são 20:4 n-6 e 22:4 n-6, sendo 40% em galos e 22% em perus do total de ácidos graxos. Ravie et al. (1992), observaram que a relação de poliinsaturados/saturados em galos e perus é de 0,9 e 1,1, respectivamente, em comparação com os espermatozoides dos mamíferos contendo altos níveis de n-3, particularmente ácido docosahexaénoico (22:6 n-3) (Lin et al., 1993; Nissen et al., 1983; Poulos et al., 1973).

Em experimento realizado por Cerolini (2003), utilizando galos de 37 a 42 semanas de idade, os ácidos graxos presentes nos espermatozoides foram 22:6 n-3; 22:5 n-3 para aqueles alimentados com rações suplementadas com óleo de peixe (rico em 22:6 n-3), e óleo de linhaça (rico em 18:3 n-3),

respectivamente e o conteúdo de 22:4 n-6 no espermatozóide foi influenciado pelo óleo de prímula (rico em 18:3 n-6) em associação com altos níveis de vitamina E (200mg/ kg) e com óleo Arasco (rico em 20:4 n-6).

Os ácidos graxos 22:4n-6, 18:0, 18:1n-9 e 20:4n-6 foram observados em maior proporção nos espermatozóides de galos com 25 semanas de idade (Surai et al., 1998). Nesse estudo, as percentagens de PUFA e ácidos graxos saturados foram de 52,13% e 30,19% total, respectivamente.

Em galos, a redução na espermatogênese e na qualidade do sêmen ocorre a partir de 60 semanas de idade, sendo acompanhada pela redução da proporção 20:4 n-6 e 22:4 n-6 na fração da fosfatidiletanolamina, segundo Kelso et al. (1996). A proporção de 22:4 n-6 no total dos fosfolipídios dos espermatozóides está positivamente correlacionada com a motilidade e a habilidade fertilizante do espermatozóide (Cerolini et al., 1997).

Os efeitos da manipulação dos ácidos graxos poliinsaturados sobre a qualidade e/ou fertilidade do espermatozóide têm sido avaliados. Dietas ricas em ácidos graxos n-3 e n-6 mostraram um efeito positivo na motilidade do espermatozóide durante o período reprodutivo. Os efeitos de dietas ricas em n-6 sobre a produção de sêmen têm sido variáveis. O 20:4 n-6 apresentou um efeito positivo no volume de sêmen e conseqüentemente, um maior número total de espermatozóides; dietas contendo 18:3 n-6 têm promovido um efeito negativo sobre a concentração de sêmen (Cerolini et al., 2003).

As diferentes linhagens de aves têm mostrado variação nas classes de fosfolipídios no espermatozóide. O fosfolipídio-etanolamida (PE) é o fosfolipídio insaturado que mostra mais diferença nas proporções de ácidos graxos entre as linhagens das aves. Este fosfolipídio contém cerca de 55% de 20:4 n-6 e 22:4 n-6 como ácidos graxos poliinsaturados nos espermatozóides das linhagens de alta seletividade, como ISA e ROSS e nas linhagens de baixa

seletividade, contém ao redor de 30% desses ácidos graxos. A diferença no conteúdo de ácidos graxos é pelos ácidos graxos monoinsaturados e oléico (18:1 n-9), segundo Cerolini et al. (1997b).

O efeito positivo sobre a taxa de fertilidade com dietas contendo ácidos graxos poliinsaturados depende da idade da ave e acontece em machos reprodutores novos, nos quais o potencial da atividade reprodutiva pode ser totalmente expressado. O incremento na fertilidade nem sempre está associado com a composição dos ácidos graxos dos espermatozóides provenientes da dieta (Cerolini et al., 2003).

A importância do ácido graxo poliinsaturado C₂₂ na fertilidade foi estudada em humanos. A quantidade de 22:6 n-3 encontradas nos espermatozóides está correlacionada positivamente com a motilidade do espermatozóide (Nissen & Kreysel, 1983; Zalata et al., 1998; Conquer et al., 1999).

2.4 Importância dos antioxidantes na prevenção da peroxidação de lipídeos

Grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados nos espermatozóides os tornam mais suscetíveis à peroxidação com conseqüentes riscos de danos na estrutura celular (Niki et al., 1993). Isto pode, conseqüentemente, causar baixa fertilidade nos machos (Aitken, 1994; Sikka et al., 1995).

Atingir o potencial máximo de fertilidade requer a combinação ótima de fosfolipídios e uma proteção adequada com antioxidantes. Em aves de maior idade ocorrem mudanças na composição dos fosfolipídios e uma queda na atividade antioxidante enzimática da glutathiona peroxidase (Kelos et al., 1996).

O sistema antioxidante da célula é composto por substâncias naturais solúveis em gordura, como é o caso da vitamina E, carotenóides e ubiquinonas e por substâncias solúveis em água, como o ácido ascórbico, glutatona e o ácido úrico, além dos antioxidantes enzimáticos, como a glutatona peroxidase, catalase e a superóxido dismutase (Yu, 1994). Também estão incluídos nessa última categoria os antioxidantes da mitocôndria, o superóxido dismutase dependente de manganês (Mn-SOD) e do citoplasma, as formas superóxido dismutase dependentes de cobre e de zinco (Cu, Zn-SOD), segundo Michalski, (1992).

A primeira linha de defesa contra os radicais superóxidos são as superóxido dismutase. O peróxido de hidrogênio formado durante as reações para a formação do superóxido é altamente tóxico ao espermatozóide (Delamirande et al., 1995). Este é removido pela glutatona peroxidase e a catalase (Griveau et al., 1995). A glutatona peroxidase apresenta uma atividade maior que a catalase, mas é dependente de selênio, sendo capaz de destruir os hidroperóxidos de lipídeo e o peróxido de hidrogênio (Lawrence e Burk, 1978).

O aumento da concentração de vitamina E na dieta, de 20 para 200 mg/kg de alimento, promove a concentração de ácido araquidônico (20:4n-6) de 10,7% para 11,5% e de do ácido docosahexanóico (22:4n-6) de 16,6% para 19,0% no fosfolípido dos espermatozoides, principalmente a fosfotidiletanolamida (Surai et al., 1996).

Estudos foram realizados por Surai et al.(1996), utilizando reprodutores da linhagem Rhode Island Red com 6 meses de idade e alimentados com uma suplementação 12 mg/kg de ~~acetato de~~ α -tocoferol como dieta basal, juntamente com outros três grupos que receberam suplementação com 20, 200 e 1000 mg de ~~acetato de~~ α -tocoferol. A concentração de α -tocoferol, tanto no plasma seminal como no espermatozóide, foi duas vezes maior quando a suplementação foi de

200 mg/kg comparada com a suplementação de 20 mg/kg; mas, quando a suplementação foi de 1000 mg/kg não foi observado nenhum aumento a mais na concentração de α -tocoferol. A concentração de α -tocoferol no sêmen mostra uma limitada resposta à manipulação da dieta. A concentração desta vitamina nos testículos e no fígado foram influenciados pela dieta, com aumentos de 6 a 7 vezes de acordo com o nível de suplementação.

O α -tocoferol (Vitamina E) é o maior antioxidante encontrado nas membranas celulares com a principal função de evitar a reação em cadeia da peroxidação (Freisleben e Packer, 1993). Dietas suplementadas com α -tocoferol têm demonstrado reduzir a peroxidação e promoveu melhora da fertilidade do sêmen em humanos (Kessopoulou et al., 1995 e Geva et al., 1996).

Em experimentos realizados com galos, perus, galinhas de angola, patos e gansos com idades de 25, 45, 27, 27 e 35 semanas, respectivamente, observou-se que a superóxido dismutase no espermatozóide de galos teve a menor atividade e a maior atividade foi para o espermatozóide de ganso (Surai et al., 1998).

A proporção dos ácidos graxos poliinsaturados e a susceptibilidade à peroxidação parece ser o principal fator da sobrevivência dos espermatozóides em galos e perus durante armazenamento *in vitro*, sendo também considerados como importantes fatores na sobrevivência dos espermatozóides *in vivo*.

Uma característica única na reprodução das aves é que os espermatozóides são armazenados dentro do sistema reprodutivo da fêmea por, em média, 5 dias, no caso da galinha. Por isso, os espermatozóides devem dispor de um sistema que mantenha a sua estabilidade durante esse período (Surai et al., 1998).

Em patos e galos alimentados com uma concentração de 20,63 e 19,88 mg de α -tocoferol/kg de alimento, respectivamente, foram observadas

concentrações de 32,4 ng de vitamina E/mL de plasma seminal e 48,1 ng de vitamina E/ 10^9 espermatozóides nos patos e 163,7 ng de vitamina E/mL de plasma seminal e 182,48 ng de vitamina E / 10^9 espermatozóides nos galos (Surai et al., 2000a). Como pode ser observado, o plasma seminal e o espermatozóide do sêmen de pato contêm baixos níveis de vitamina E, comparado com os valores observados no galo.

A falta de citoplasma no espermatozóide provavelmente evita a acumulação de tocoferol nas gotas de gordura dentro da célula, e talvez todo o tocoferol esteja distribuído nas membranas celulares. Fisiologicamente é aceito que os níveis de vitamina E nas membranas celulares são menores que 1 mol per 1000 mol de fosfolipídios (Packer 1992) Os espermatozóides têm uma capacidade limitada de incorporar α -tocoferol no interior das suas membranas e esta capacidade pode depender de muitos fatores, entre eles, principalmente, a composição dos ácidos graxos (Donoghe et al., 1997).

Existe pouca referencia bibliográfica sobre a concentração de vitamina E no espermatozóide, mas sabe-se que o nível de vitamina E no espermatozóide dos mamíferos é maior que nas aves. Nos suínos foram observados valores de 1600ng/ 10^9 espermatozóides (Marin-Guzman et al., 1997).

Segundo Therond et al.(1996), a percentagem de motilidade do espermatozóide foi significativamente relacionada ao conteúdo de α -tocoferol ($r= 0,84$, $P<0,005$). O elevado conteúdo de lipídeos insaturados pode causar a peroxidação durante o armazenamento do sêmen de galos e perus, sendo responsável por uma queda significativa da capacidade fertilizante (Wishart et al., 1984).

Os antioxidantes presentes no plasma seminal das aves atuam como mecanismo de proteção para os espermatozóides contra a peroxidação (Cesil et al., 1993). Entretanto, os mecanismos de proteção, assim como os antioxidantes

presentes no plasma seminal das aves, não têm sido caracterizados. Em experimento desenvolvido por Surai et al.(1999), foi demonstrado que o plasma seminal do pato Muscovy possui uma alta atividade antioxidante quando comparado com o plasma seminal de galos.

As aves contem baixos níveis de vitamina E no plasma seminal e, dessa forma, sugere-se que a vitamina E tenha uma função mínima como elemento protetor, mas é muito importante como elemento estabilizador das membranas dos espermatozóides (Surai et al., 1999).

Em experimento realizado com galos de uma mesma linhagem, nas idades de 25 e 60 semanas, obteve-se uma efetiva redução de dez vezes na atividade da glutathione peroxidase do espermatozóide nos galos mais velhos, mas não se observou mudança na atividade da superóxido dismutase entre as duas idades (Kelso et al., 1996).

A peroxidação dos lipídios inibe severamente a capacidade fertilizante do espermatozóide de galos, mas a motilidade, o conteúdo de ATP e a morfologia não são afetados (Wishart, 1984). Em mamíferos ocorre o contrário, sendo observada uma perda da motilidade correlacionada com a peroxidação de lipídios em coelhos (Alvarez & Storey, 1982).

As células que têm grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados requerem um sistema eficiente de antioxidantes para a proteção contra os danos peroxidativos (Hammerstedt, 1993). A peroxidação de lipídios implica uma disfunção dos espermatozóides, resultam no dano estrutural da membrana plasmática, tanto no sêmen fresco como no sêmen armazenado (Cesil e Bakst 1993).

2.5 Características reprodutivas em galos

Os testículos têm uma função gametogenética, convertendo os precursores diplóides em células haplóides capazes de realizar a fertilização. Também possuem umas funções endócrinas, responsáveis por manter a espermatogênese, os caracteres sexuais secundários e o comportamento sexual nos machos (Etches, 1996)

Os testículos das aves estão localizados no centro da cavidade abdominal, efetuando-se a espermatogênese a uma temperatura de 41°C em contraste com a temperatura escrotal dos mamíferos de 25°C a 26°C. Embora nas fêmeas das aves só o ovário esquerdo seja funcional, nos machos ambos os testículos são funcionais. Na idade da maturidade sexual, os testículos passam de 2-4g para 25-35g. Normalmente, o testículo esquerdo é 0,5–3,0 g mais pesado que o direito (Parkhurst e Mountney, 1988).

Cada testículo está rodeado do tecido conjuntivo contendo os túbulos seminíferos e as células de Leydig dispersas entre os espaços tubulares. Estas células produzem vários andrógenos dos quais o principal é a testosterona (Etches, 1996)

As aves não têm as glândulas de Cowper, assim como também não possuem glândula prostática e vesículas seminais. Provavelmente, as diferenças físicas e químicas dos espermatozóides das aves, comparados com os mamíferos, sejam pela ausência da glândula prostática e as vesículas seminais. Segundo Parkhurst e Mountney (1988), os espermatozóides, nas aves, são armazenados nos ductos deferentes.

Os túbulos seminíferos das aves estão dispostos numa rede de condutos interconectados que se esvaziam dentro da rete testis. A periferia dos túbulos

seminíferos está recoberta de espermatogônias, que são células diplóides, consideradas como o primeiro estágio da espermatogênese. A formação dos espermátócitos haplóides precisa da participação das células de Sertoli, situadas na periferia dos túbulos seminíferos. Estas células proporcionam o ambiente específico para a espermatogênese. Ainda não se sabe a verdadeira função do hormônio FSH (hormônio folículo estimulante) em aves machos, mas se supõe que estimule o crescimento dos túbulos seminíferos e o desenvolvimento das células de Sertoli (Etches, 1996).

A cor do sêmen das aves varia de animal para animal, sendo geralmente, de cor branca e opaca, entre pH 7,0 e 7,6 (Parkhurst e Mountney, 1988).

A produção diária de espermatozóides parece ocorrer em ritmo constante, da mesma forma que o volume do ejaculado, mas estes parâmetros são reduzidos quando o sêmen é coletado em maior frequência (Etches, 1996). Mas, a concentração e o volume também variam de animal para animal. Geralmente, o volume de sêmen coletado de galos pesados e treinado pode variar de 0,5 a 1,0 mL por ejaculado, com uma concentração de 1,7 a 3,5 bilhões de espermatozóides (Parkhurst e Mountney, 1988). O volume seminal médio para reprodutores leves é de 0,15 mL, com variações de 0,01-0,3 mL e a concentração média é $5,0 \times 10^9$ células mL⁻¹, com variações de $2,0-7,5 \times 10^9$ células mL⁻¹ (Lake e Stewart, 1978 citados por Etches 1996).

Com base nos trabalhos citados pode-se considerar que os espermatozóides de galos contêm, principalmente, ácidos graxos insaturados de cadeias longas 20 e 22 carbonos da série (n-6). Neste experimento os conteúdos de ácidos graxos da série (n-6) dos óleos são de 55,4%, 20,6% e 68,3% e as relações (n-6)/(n-3) são 12,3; 3,37 e 683 para os óleos de soja, canola e girassol, respectivamente. Observou-se que os óleos utilizados são fontes de ácidos graxos, principalmente da série (n-6) e os níveis de vitamina “E” (200 e

400mg/kg de alimento) utilizados neste experimento baseiam-se nas revisões de literatura, nas quais não foram constatadas mudanças da concentração de vitamina “E” no plasma seminal nem nos espermatozóides, quando o nível foi de 200 para 1000 mg/kg de alimento sem a utilização de nenhuma fonte de óleo na linhagem Rhode Island Red Surai et al. (1996).

3. MATERIAL E METODOS

3.1 Local e período experimental

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do departamento da Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), durante o período de 17 semanas, de junho a outubro de 2003. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do Departamento de Medicina Veterinária. A UFLA está localizada no município de Lavras, região sul do estado de Minas Gerais, nas coordenadas latitude 21° 14' 30"(S), longitude de 45° (O) e altitude de 910 metros. O clima da região, segundo a classificação Koppen, é do tipo CWB, tropical úmido, com duas estações definidas: chuvosa (novembro a abril) e seca (maio a outubro). As temperaturas médias máxima e mínima registradas durante o período experimental foram de 24,9 e 12,0°C, respectivamente.

3.2 Animais experimentais, instalações e manejo

Foram utilizados 112 galos, da linhagem Lohman LSL, procedentes da Granja Planalto, Uberlândia, MG, com 16 semanas de idade e peso inicial médio de 1830g ($\pm 98,8$), alojados em gaiolas metálicas individuais, alocadas em galpão próprio.

Todos os galos foram treinados para a coleta de sêmen a partir das 16 semanas de idade. A coleta foi realizada pelo método de massagem abdominal proposto por Burrows e Quinn (1935). Duas semanas antes da coleta, os animais foram submetidos a uma "toilette", sendo retiradas as penas da região

pericloacal com uso de tesoura, para evitar a contaminação do sêmen coletado e permitir uma melhor visualização da cloaca. Durante a fase experimental, foram realizadas duas coletas seminais, às 28 e 29 semanas de idade dos animais. A coleta foi realizada com o uso de seringas graduadas pré-aquecidas a 40°C e protegidas da luz.

3.3 Delineamento experimental

Os galos foram distribuídos num delineamento experimental em blocos ao acaso, sendo 4 aves por blocos, com a seguinte distribuição peso 1(1.590-1.715g), peso 2 (1.720-1.845g), peso 3 (1.850-1.975g) e peso 4 (1.980-2.100g) com arranjo fatorial de 3 x 2 + 1, com três fontes de óleo ao 3% (soja, canola e girassol), dois níveis de vitamina “E” (200 e 400 mg/kg de alimento) e o tratamento controle sem óleo e 0 mg de vitamina E. Utilizaram-se 16 repetições por tratamento, sendo cada galo uma unidade experimental.

3.4 Rações experimentais e manejo alimentar

As rações experimentais foram isoprotéicas (17%) e isoenergéticas (2965kcal de EM/Kg), formuladas à base de milho e farelo de soja e suplementadas com minerais e vitaminas como indicado na Tabela 1. Os níveis nutricionais foram os recomendados pelo manual para está linhagem e a composição dos ingredientes segundo Rostagno et al 1992. O ajuste da vitamina “E” foi feito alterando-se a proporção de caulim e vitamina “E” nas rações. O consumo de ração foi à vontade.

TABELA 1- Composição percentual e calculada das rações experimentais

Ingredientes	Óleo			
	Controle	Soja	Canola	Girassol
Milho	70,96	59,55	59,52	59,45
Farelo de soja	22,89	21,87	21,85	21,84
Farelo de trigo	2,25	11,10	11,14	11,21
Óleo vegetal	-	3,00	3,00	3,00
Fosfato bicálcico	1,58	1,49	1,49	1,49
Calcário calcítico	1,20	1,23	1,23	1,24
Caulim	0,36	1,00	1,00	1,00
Sal iodado	0,36	0,36	0,36	0,36
DL-metionina 98%	0,13	0,14	0,14	0,14
Supl. mineral	0,10	0,10	0,10	0,10
Supl. vitamínico	0,10	0,10	0,10	0,10
L-lisina	0,07	0,06	0,07	0,07
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Energia metabolizável cal/kg	2965	2965	2965	2965
Proteína bruta%	17	17	17	17
Met + Cis %	0,7	0,73	0,73	0,73
Lisina %	0,885	0,883	0,885	0,085
Cálcio %	0,923	0,924	0,924	0,925
Fosforo disponível %	0,396	0,404	0,404	0,404
Sódio %	0,075	0,19	0,19	0,19
Vitamina "E" mg/kg	-	200 e 400	200 e 400	200 e 400
Ácido linoléico %		1,644	0,582	2,049
Ácido linolênico %		0,135	0,183	0,003

¹Suplemento vitamínico por quilo do produto: vitamina A, 10.000.000; Vitamina D3, 2.000.000 UI; vitamina E, 15.000 UI; vitamina K3, 2000 mg; vitamina B1, 1500 mg; vitamina B2, 4.000 mg; vitamina B6, 1000 mg; vitamina B12, 10.000 mcg; niacina, 30.000 mg; ácido fólico, 300 mg, ácido pantotênico, 5.350 mg; biotina 60 mg, Colina, 200 g; antioxidante, 100.000 mg.

²Suplemento mineral por quilo do produto: fósforo, 75 g; ferro, 20.000 mg; cobre, 4.000 mg; manganês; 75.000 mg; iodo, 1.500 mg; selênio, 150 mg; zinco, 50.000 mg; flúor, 1g; cobalto, 200 mg.

³Caulim utilizado como veículo para a adição da vitamina E.

O perfil de ácidos graxos e as percentagens de vitamina E dos óleos vegetais utilizados neste experimento estão indicado na Tabela 2 e 3, respectivamente.

TABELA 2- Perfil de ácidos graxos dos óleos vegetais utilizados neste experimento ¹

Ácidos graxos	Fontes de óleos		
	Soja	Canola	Girassol
Ac. oléico n-9	24,2	64,1	21,9
Ac. linoléico n-6	54,8	19,4	68,3
Ac. ólindênico n-3	4,5	6,1	0,1
Ac. graxos saturados	15,6	7,9	9,6
Ac. graxos monossaturados	24,5	65,4	22
Ac. graxos poliinsaturado	59,9	26,7	68,4
Série n-6	55,4	20,6	68,3
Série n-3	4,5	6,1	0,1
n-6: n-3	12,3	3,37	683
Insaturados: saturado	5,41	11,6	9,42

¹Dados referenciados por: Zanini (2001)

TABELA 3- Níveis de vitamina E encontrados nos óleos utilizados nas rações experimentais. ¹

Conteúdo	Fontes de óleo		
	Soja	Canola	Girassol
Alfa-tocoferol (mg/100g)	15,26	18,82	62,26
B-tocoferol (mg/100g)	ND<0,01	ND<0,01	2,35
Gama-tocoferol (mg/100g)	57,70	38,03	0,97
Delta-tocoferol (mg/100g)	15,7	2,19	ND<0,01
Tocoferol Total (mg/100g)	88,66	59,04	65,58
Vitamina E (mg/100g)	26	26	69

¹Dados referenciados por: Zanini (2001)

ND= não detectado

Até o final do experimento e em intervalos de 7 dias, os galos e as sobras de ração foram pesados para a determinação do ganho de peso total (GPT) e o consumo diário de ração (CDR).

3.5 Variáveis estudadas

3.5.1 Parâmetros seminais

Os parâmetros seminais avaliados foram motilidade espermática, volume do ejaculado, concentração espermática, número total de células, anormalidades espermáticas, taxa de resistência osmótica e teste de termo resistência rápido. A motilidade geral foi avaliada segundo escala de 0 a 100. Retirou-se uma gota de sêmen imediatamente após a coleta, colocada sobre lâmina, recoberta por lamínula previamente aquecida a temperatura de 40°C para a leitura no microscópio óptico (40X).

O volume foi medido diretamente da seringa de coleta com graduação de 0,1 ml.

Para análise de concentração espermática, foi retirada uma amostra de 10 µL de sêmen para ser adicionado a 4ml de solução de formol citrato, sendo a contagem realizada com o uso de hemocitômetro (câmara de Neubauer) na diagonal com o resultado expresso em número de células por mm³ de sêmen. O número total de células foi calculado por meio da multiplicação da concentração e volume do ejaculado segundo a metodologia de Martin Rillo et al. (1996).

Para a avaliação das anormalidades dos espermatozóides 1 µL de sêmen foi adicionado a 250 µL de solução de formol citrato. Seguidamente, no microscópio de contraste de fase com aumento de 1000X, realizou-se a contagem de 100 células, expressando as alterações morfológicas em

percentagem. As alterações espermáticas avaliadas foram alterações de cabeça, cauda, presença de gota e alterações totais.

Para avaliação da resistência osmótica foi utilizado soro fisiológico como solução isotônica (300 miliosmois) e partes iguais de água destilada e soro fisiológico para obter a solução hipotônica (150 miliosmois). Em banho-maria a 40°C, incubaram-se 0,05 ml de sêmen adicionado a 1 ml de solução isotônica (primeira amostra) e solução hipotônica (segunda amostra), avaliando-se a motilidade aos 10 minutos de incubação.

Os valores de índice de taxa de resistência osmótica foram calculados pela fórmula $TRO\% = (\text{motilidade aos 20 minutos em solução isotônica} + \text{motilidade aos 20 minutos em solução hipotônica}) / 2$, de acordo com a metodologia modificada de Murgas (1999).

A análise de termo resistência de membrana consistiu em colocar 0,01 ml de sêmen em banho-maria a 45°C, avaliando-se a motilidade dos espermatozoides aos 20 minutos.

3.5.2 Desenvolvimento testicular e avaliação histológica

Quatro galos por tratamento foram sacrificados às 30 semanas de idade, para verificação do desenvolvimento testicular. Os testículos foram removidos e posteriormente pesados sendo um fragmento de parênquima testicular coletado e fixado em líquido de Bouin. Os fragmentos foram desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico, diafanizados em xilol e incluídos em parafina, de acordo com metodologia de rotina. Fez-se microtomia dos blocos obtendo-se cortes de 5 µm de espessura que foram corados com hematoxilina-eosina, de acordo com a técnica de Behmer et al. (1976) no Laboratório de Morfologia Microscópica do Departamento de Medicina Veterinária da UFPA.

Na análise histológica dos testículos, para cada animal, mediram-se 10 secções transversais de túbulos seminíferos, escolhidos ao acaso, apresentando contornos os mais circulares possíveis, considerando-se sempre seu menor diâmetro, conforme recomendações de Berndtson e Picket (1987). As variáveis histológicas avaliadas foram:

- diâmetro dos túbulos seminíferos (DTS),
- espessura do epitélio seminífero (EES), desde a membrana basal até a borda luminal.
- população de células dos túbulos seminíferos, estimada pela contagem de núcleos de espermatogônias (ESA), de espermátides arredondadas (EAR) e células de Sertoli (CSE), em dez secções transversais de túbulos seminíferos, de acordo com Silva (1997). As células espermatogônias e as espermátides arredondadas foram escolhidas por serem células do primeiro e último estágio, respectivamente, da formação dos espermatozóides, e a célula de Sertoli foi escolhida por ser uma célula que intervém na formação dos espermatozóides, proporcionando um ambiente idôneo.

3.5.3 Níveis de colesterol e de triglicérides no sangue

Coletaram-se amostras de sangue de 4 galos por tratamento, as quais foram colhidas no final do período experimental. As amostras foram colhidas com EDTA 4% e submetidas à centrifugação para separação do plasma.

O colesterol total do sangue foi determinado pelo método enzimático do colesterol oxidase (Alain et al. ,1974) por meio de “kits” (ANALISA). Os triacilgliceróis também foram medidos através de método enzimático

colorimétrico, utilizando-se kits apropriados (ANALISA), conforme Fosati & Precipe (1982). Errado

3.5.4 Avaliação da taxa de fertilidade do sêmen

Quatro galos por tratamento, com idade de 32 semanas, foram submetidos à coleta do sêmen para a realização da inseminação artificial de quatro galinhas da linhagem Isa Brown, no início da postura, com 20 semanas de idade por tratamento. Após coleta do sêmen, foi realizado um *pool* do volume coletado dos quatro animais por tratamento, sendo retiradas amostras de 0,1 ml para a inseminação artificial, com uma concentração média de 150 milhões de espermatozoides. Os ovos foram coletados durante 5 dias após a inseminação e incubados por 5 dias à temperatura de 37,5°C e 60% de umidade, com virador automático. Após o período de incubação os ovos foram quebrados para avaliar a taxa de fertilidade; aqueles que não tinham embrião foram considerados inférteis.

3.6 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas com o programa Sistema de análises estatísticas e Genéticas (SAEG) desenvolvido pela UFV (Euclides, 1993). Foi utilizado um arranjo fatorial $3 \times 2 + 1$, com 3 fontes de óleo, 2 níveis de vitamina E e a ração controle.

Para verificar a normalidade das variáveis, utilizou-se o teste de Lillefors. Houve transformação de dados para ajustar a normalidade para as seguintes variáveis: volume seminal para raiz de X; número total de

espermatozoides para raiz de X, morfologia espermática para Arcoseno raiz de X/10.

Para as variáveis avaliadas, utilizou-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + O_i + V_j + (OV)_{ij} + B_k + e_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} = característica avaliada, referente à fonte de óleo i, no nível j de vitamina E do bloco k;

μ = média geral;

O_i = efeito da fonte de óleo i, sendo i = 1, 2 e 3;

V_j = efeito do nível j de vitamina E, sendo j = 1 e 2;

$(OV)_{ij}$ = efeito da interação da fonte de óleo i e o nível j de vitamina E;

B_k = efeito do bloco k, sendo k = 1, 2, 3 e 4;

e_{ijk} = erro experimental associado a cada observação.

Para comparação das medias utilizou-se o teste de agrupamento Scott Knott e o teste de Dunnet.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desempenho produtivo

Os resultados de desempenho produtivo dos galos são apresentados na Tabela 4. Foi observada interação significativa ($P < 0,05$) entre as fontes de óleo utilizadas e os níveis de vitamina E somente para o consumo diário de ração (CDR).

TABELA 4.- Fontes de óleo e níveis de suplementação de vitamina E sobre o consumo médio diário de ração e ganho de peso total de galos Lohman-LSL.

Fonte de óleo	Nível de vitamina E (mg/kg)		
	200	400	Média
CONSUMO DE RAÇÃO (g/dia)			
Soja	98,1	100,8a	99,5
Canola	100,5a	94,7b	97,6
Girassol	98,4	100,7a	99,6
Média	99,0	98,7	99,4
Controle		102,8	
CV (%)		6,8	
GANHO DE PESO TOTAL (g)			
Soja	331,3 A	322,4 A	326,7 a
Canola	283,8 B	277,2 B	280,5 b
Girassol	335,0 A	330,6 A	332,8a
Média	316,7	310,1	315,2
Controle		324,6A	
CV (%)		17,8	

^{ab} Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem pelo teste Scott-Knott ($P < 0,05$)

^{ab} Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem pelo teste Dunnet ($P < 0,05$)

^{AB} Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste Scott-Knott ($P < 0,05$)

Tendo o ganho de peso total (GPT) sido afetado ($P < 0,05$) pelos tratamentos e pelas fontes de óleo. Entretanto, a análise de variância mostrou que houve diferença significativa ($P < 0,05$) para o CDR entre as fontes de óleos usadas neste experimento no nível de 400 mg de vitamina E na ração e também houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os níveis de vitamina E no óleo de canola.

Os galos alimentados com a ração suplementada com óleo de canola apresentaram um menor CDR quando o nível de vitamina E foi de 400 mg/kg na ração ($P < 0,05$). Entretanto, independentemente do nível de vitamina E utilizado, a suplementação da ração com óleo de canola afetou, significativamente ($P < 0,05$) o GPT dos galos.

Estes resultados são semelhantes aos observados por Ajuyah et al. (1993), os quais compararam o desempenho de frangos de corte quando as dietas foram suplementadas com dois níveis de óleo de canola mais farelo de canola e observaram que a inclusão de óleo de canola e de produtos à base de linhaça deprimiu a taxa de crescimento nesses animais. Por outro lado, Zanini (2001) não observou efeito significativo sobre o desempenho produtivo de reprodutores White Leghorn suplementados com óleos de girassol, soja, canola, linhaça e peixe.

O óleo de canola é obtido a partir das sementes de canola. Que foi desenvolvida usando-se métodos fitogenéticos tradicionais para a retirada de características indesejáveis das sementes de colza. Entretanto, alguns autores têm sugerido que o óleo de canola contém pequenas quantidades de substâncias indesejáveis, dentre as quais se menciona o ácido erúcido. Innis e Dyer (1999), em trabalho realizado com leitões neonatos, observaram, além de alterações em parâmetros sanguíneos, uma redução não significativa do peso corporal em

animais que receberam suplementação com óleo de canola, em comparação com óleo de soja, durante 18 dias.

Dessa forma, estes resultados possivelmente estão relacionados com o período prolongado de suplementação, no presente experimento e isto promoveu efeito negativo sobre o ganho de peso nos animais que receberam o óleo de canola no nível de suplementação de 400 mg de vitamina E. Os níveis elevados de vitamina E na ração podem causar alterações gastrointestinais, causando redução no consumo de alimento, segundo Combs (1992). Provavelmente, o ácido erúico, com níveis elevados de vitamina E, causa uma redução no consumo de alimento.

4.2 Características seminais

4.2.1. Volume seminal e motilidade espermática

Os resultados de volume do sêmen produzido e da motilidade espermática, às 28 e 29 semanas de idade dos reprodutores, estão apresentados nas Tabelas 5 e 6, respectivamente. Não foi observada interação significativa ($P>0,05$) entre as fontes de óleo e os níveis de vitamina E para o volume de sêmen nas duas idades. As fontes de óleo e os níveis de vitamina E na ração não influenciaram ($P>0,05$) o volume de sêmen nas idades de 28 e 29 semanas.

Para a motilidade espermática, foi observada interação significativa ($P<0,05$) entre as fontes de óleo e os níveis de vitamina E às 28 semanas de idade, observando-se que, no nível de 400 mg de vitamina E, a ração suplementada com óleo de girassol promoveu uma motilidade espermática maior ($P=0,08$).

A motilidade espermática na idade de 29 semanas não apresentou interação significativa ($P>0,05$) das fontes de óleo e níveis de vitamina E. Entretanto, o óleo de girassol apresentou um valor numérico maior, não significativo ($P>0,10$) para este parâmetro no nível de 400 mg de vitamina E, acompanhando o resultado às 28 semanas de idade.

TABELA 5. Volume seminal de galos Lohman-LSL, em mL, às 28 e 29 semanas de idade, de acordo com as fontes de óleo e níveis de suplementação de vitamina E.

Fonte de óleo	Nível de vitamina E (mg/kg)		
	200	400	Média
VOLUME DE SÊMEN ÀS 28 SEMANAS DE IDADE (mL)			
Soja	0,13	0,13	0,13
Canola	0,11	0,10	0,10
Girassol	0,12	0,12	0,12
Média	0,12	0,12	0,12
Controle		0,10	
CV (%)		27,9	
VOLUME DE SÊMEN ÀS 29 SEMANAS DE IDADE (mL)			
Soja	0,15	0,17	0,16
Canola	0,12	0,13	0,13
Girassol	0,17	0,19	0,18
Média	0,15	0,16	0,15
Controle		0,14	
CV (%)		28,2	

O volume de sêmen observado nos animais, neste trabalho, está de acordo com Rouvier et al.(1984) citados por Etches (1996), os quais relataram uma variação entre 0,05 e 0,30 mL para galos leves. Em mamíferos, a maior proporção do volume seminal é originária das glândulas acessórias (Hafez, 1982). Por outro lado, em aves, a ausência de vesículas seminais e glândula

prostática resulta em reduzido volume seminal, o qual é composto basicamente de frutose, fosfatidilcolina e alguns eletrólitos (Parkhurst & Mountney, 1988).

TABELA 6. Motilidade espermática de galos Lohman-LSL, em percentagem, nas 28^a e 29^a semanas de idade, de acordo com as fontes de óleo e níveis de suplementação de vitamina E.

Fonte de óleo	Nível de vitamina E (mg/kg)		
	200	400	Média
MOTILIDADE ÀS 28 SEMANAS DE IDADE (%)			
Soja	84,5	83,3b	83,9
Canola	86,8	83,3b	85,0
Girassol	81,6	87,3a	84,3
Média	84,3	84,6	83,8
Controle		80,0	
CV (%)		12,0	
MOTILIDADE ÀS 29 SEMANAS DE IDADE (%)			
Soja	85,8	80,4	83,5
Canola	85,4	82,1	83,8
Girassol	85,8	88,3	87,1
Média	85,6	83,6	84,3
Controle		81,6	
CV (%)		10,5	

Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem pelo teste Scott-Knott ($P < 0,08$)

Segundo Celeghini et al. (2000), a motilidade espermática e o volume seminal não se correlacionam com o peso corporal em galos da linhagem AgRoss. Diferente desse resultado, foi observado, neste estudo, que o peso influenciou significativamente ($P < 0,01$) o volume seminal às 29 semanas de idade, com 2.145 (± 115 g) de peso corporal, comparado com o peso corporal de 2.098 (± 117 g) às 28 semanas de idade. Estes resultados são semelhantes aos observados por Rouvier et al. (1984), citados por Etches, (1996), os quais

observaram um aumento do volume seminal com o aumento do peso corporal, dependendo da linhagem dos reprodutores.

A motilidade e o volume seminal não foram afetados pela adição de óleo de linhaça (rico em ácido alfa linolênico) em reprodutores da linhagem Cobb que receberam suplementação (6%) das 24 às 72 semanas de idade, comparados com os animais que receberam suplementação com óleo de soja, rico em ácido linoléico (Kelso et al., 1997b).

Segundo Zanini (2001), o óleo de girassol apresenta um teor bastante elevado de ácidos graxos poliinsaturados, o que pode ter promovido uma viabilidade maior das células com conseqüente maior motilidade. Neste experimento, a suplementação de vitamina E na ração no nível de 400 mg/kg no óleo de girassol pode melhorar a motilidade espermática pela proteção do epitélio germinativo testicular contra a peroxidação dos lipídeos de membrana. Uma vez que o óleo de girassol apresenta uma maior proporção de ácidos graxos poliinsaturados, em relação ao óleo de soja e canola, a exigência por antioxidante se torna maior.

4.2.2 Concentração espermática e número total de células

Os resultados de concentração espermática e número total de espermatozóides estão apresentados nas Tabelas 7 e 8, respectivamente. Não foi observada interação significativa ($P>0,05$) entre as fontes de óleo e os níveis de vitamina E utilizados neste experimento sobre essas variáveis, nas idades de 28 e 29 semanas. Entretanto, a concentração espermática observada no nível 200 mg de vitamina E com óleo de canola apresentou valor numérico maior, não significativo ($P>0,05$) comparado com os óleos de soja e girassol às 29 semanas

de idade. Biologicamente, este valor representa um aumento de milhões de espermatozoides nos animais que receberam este tratamento. A relação ácidos graxos insaturados/ácidos graxos saturados observada no óleo de canola é maior do que para os óleos de girassol e soja (Zanini, 2003). Este fator pode ter promovido uma melhor relação entre os ácidos graxos das séries n-6 e n-3.

TABELA 7. Concentração espermática em galos Lohman-LSL, nas 28^a e 29^a semanas de idade, de acordo com as fontes de óleo e níveis de suplementação de vitamina E.

Fonte de óleo	Nível de vitamina E (mg/kg)		
	200	400	Média
CONCENTRAÇÃO ESPERMÁTICA ÀS 28 SEMANAS DE IDADE (x 10⁹)			
Soja	1,42	1,46	1,44
Canola	1,62	1,20	1,41
Girassol	1,32	1,46	1,39
Média	1,45	1,37	1,39
Controle		1,23	
CV (%)		60,5	
CONCENTRAÇÃO ESPERMÁTICA ÀS 28 SEMANAS DE IDADE (x 10⁹)			
Soja	1,78	2,03	1,90
Canola	2,44	1,70	2,05
Girassol	1,83	1,68	1,76
Média	2,02	1,80	1,87
Controle		1,70	
CV (%)		60,8	

Diferentemente do volume seminal, a concentração espermática apresenta correlação significativa de 0,29, com o peso corporal em galos (Celeghini et al., 2000). Isto está de acordo com os resultados obtidos neste trabalho, no qual se observou um efeito significativo do peso corporal sobre a

concentração espermática ($P < 0,05$). Os animais mais pesados apresentaram maior concentração espermática, independentemente do tratamento utilizado.

TABELA 8. Número de células espermáticas totais em galos Lohman- LSL, nas 28^a e 29^a semanas de idade, de acordo com as fontes de óleo e níveis de suplementação de vitamina E.

Fonte de óleo	Nível de vitamina E (mg/kg)		
	200	400	Média
NÚMERO DE CÉLULAS TOTAIS ÀS 28 SEMANAS DE IDADE (x 10⁷)			
Soja	18,8	20,4	19,6
Canola	18,8	15,6	17,2
Girassol	21,2	21,9	21,5
Média	19,6	19,3	18,7
Controle		14,4	
CV (%)		50,4	
NÚMERO DE CÉLULAS TOTAIS ÀS 29 SEMANAS DE IDADE (x 10⁷)			
Soja	23,0	35,0	29,2
Canola	35,9	24,8	30,4
Girassol	32,8	29,1	31,1
Média	30,6	29,6	29,3
Controle		24,0	
CV (%)		43,2	

Segundo Surai et al. (2000b), a concentração espermática e o número de células totais de galos da linhagem Ross suplementados com óleos de milho (rico em ácido linoléico), óleo de Arasco (rico em ácido araquidônico) e óleo de *Tuna orbital* (rico em ácido docosahexaenóico) com suplementação de vitamina E nos dois últimos, não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos às 26 semanas de idade. Esses autores mencionam que o resultado da concentração espermática está diretamente relacionado ao volume seminal. Da mesma forma, Celeghini et al. (2000) observaram uma correlação positiva

significativa entre o volume seminal, concentração espermática e número de células totais em galos.

Em trabalhos realizados com suínos, por Brezezinska-Slebozinska et al. (1995), foi observado que a concentração espermática aumentou com a suplementação de vitamina E na ração de suínos. Por outro lado, segundo Klasing (1998), altos níveis de vitamina E podem causar deficiência de outras vitaminas lipossolúveis, como, por exemplo, a vitamina A que tem um papel importante na proteção do epitélio germinativo e manutenção da integridade das células produtoras de testosterona nos machos.

4.2.3 Morfologia espermática

Os dados de morfologia espermática incluindo anormalidades de cabeça, cauda, presença de gota e o total de espermatozoides anormais, estão apresentados na Tabela 9.

Não foi observado efeito significativo ($P>0,05$) do peso corporal dos animais sobre estes parâmetros. A interação entre as fontes de óleo e os níveis de vitamina E não foi significativa ($P>0,05$) para estes parâmetros.

As anormalidades espermáticas são incompatíveis com a fertilidade, a despeito dos parâmetros físicos do sêmen. Em mamíferos, a percentagem de alterações morfológicas totais é um parâmetro importante para determinar a escolha dos melhores reprodutores. Murgas (1999) relata que, para manter uma taxa de fertilidade constante, a percentagem total de espermatozoides com alterações morfológicas, em suínos, não deve ultrapassar 20% do número total de espermatozoides por ejaculado.

TABELA 9. Morfologia espermática de galos Lohman-LSL, em percentagem na 29ª semana de idade, de acordo com as fontes de óleo e níveis de suplementação de vitamina E.

Fonte de óleo	Nível de vitamina E (mg/kg)		
	200	400	Média
CABEÇAS ANORMAIS DOS ESPERMATOZÓIDES (%)			
Soja	2,4	3,8	3,1
Canola	3,1	2,1	2,6
Girassol	3,2	2,1	2,6
Média	2,9	2,7	2,9
Controle		3,4	
CV (%)		44,8	
CAUDAS ANORMAIS DOS ESPERMATOZÓIDES (%)			
Soja	1,80	2,4	2,1
Canola	2,2	2,2	2,2
Girassol	2,5	2,2	2,5
Média	2,2	2,3	2,3
Controle		3,1	
CV (%)		51,7	
PRESCENCIA DE GOTA DOS ESPERMATOZÓIDES (%)			
Soja	4,5	6,6	5,5
Canola	5,2	4,6	4,9
Girassol	3,5	4,5	4,0
Média	4,4	5,3	4,9
Controle		5,2	
CV (%)		29,3	
TOTAL DE ESPERMATOZÓIDES ANORMAIS (%)			
Soja	8,7	12,7	10,7
Canola	10,4	8,8	9,6
Girassol	9,2	8,8	9,0
Média	9,4	10,1	10,1
Controle		11,7	
CV (%)		24,8	

Trabalhos abordando a morfologia espermática em galos são bastante escassos e em menor número ainda são os que relacionam esses achados aos problemas reprodutivos de um plantel.

Em trabalho realizado por Jaenisch (1998), utilizando galos da linhagem de corte Peterson, foi observado que as variações no peso corporal comprometem as morfologias espermáticas de galos, sendo mais evidente em galos com excesso de peso. Esses autores observaram um máximo de 11,21% de alterações espermáticas totais nos galos mais pesados. A média de alterações totais observadas no presente trabalho foi de 10,1%.

Wishart (1984) observou que os níveis de peróxidos endógenos formados no sêmen de galos não afetaram a motilidade espermática e nem a morfologia dos espermatozoides. Entretanto, Jones & Mann (1977) observaram alterações morfológicas nos espermatozoides de carneiros, provavelmente causadas pela peroxidação endógena dos fosfolipídeos.

4.2.4 Taxa de resistência osmótica e termorresistência espermática

Os dados de taxa de resistência osmótica da membrana e termorresistência dos espermatozoides estão apresentados na Tabela 10. Não foi observado efeito significativo ($P>0,05$) do peso corporal dos animais sobre estes parâmetros. A interação entre as fontes de óleo e os níveis de vitamina E não foi significativa ($P>0,05$) para estes parâmetros. As fontes de óleos utilizadas neste experimento não influenciaram significativamente ($P>0,05$) estas variáveis; entretanto, quando comparadas com o tratamento controle (sem adição de óleo e vitamina E) houve diferença significativa ($P<0,05$) para a termorresistência dos espermatozoides. O uso de qualquer fonte de óleo promoveu um aumento na termorresistência dos espermatozoides.

TABELA 10.-A taxa de resistência osmótica e termorresistência dos espermatozoides de galos Lohman-LSL, em percentagem na 29^a semana de idade, de acordo com as fontes de óleo e níveis de suplementação de vitamina E.

Fonte de óleo	Nível de vitamina E (mg/kg)		
	200	400	Média
TAXA DE RESISTÊNCIA OSMOTICA (%)			
Soja	43,8	40,0	41,9
Canola	35,0	44,4	39,7
Girassol	43,1	44,4	43,8
Média	40,6	42,9	
Controle		41,25	
CV (%)		21,6	
TERMORRESISTÊNCIA (%)			
Soja	72,50	60,00	66,25a
Canola	58,75	61,25	60,00a
Girassol	68,75	58,75	63,75a
Média	66,67	60,00	
Controle		47,50b	
CV (%)		19,81	

^{a,b}Médias seguidas de letra distintas diferem pelo teste Scott-Knott (P<0,05)

A composição dos óleos, em termos de ácidos graxos poliinsaturados, independentemente da proporção entre as séries n-6 e n-3 encontradas em cada uma das fontes, pode ter promovido uma maior estabilidade das membranas espermáticas, levando a uma maior resistência dessas células à temperatura elevada.

Segundo Kelso et al. (1997a), existem diferenças na porcentagem e composição dos ácidos graxos da membrana espermática entre aves e mamíferos. Está característica, associada à elevada temperatura corporal das aves em relação aos mamíferos (41°C e 37°C), pode resultar em manutenção adequada das propriedades biofísicas das membranas dos espermatozoides nos galos.

A utilização de óleo na ração, como fonte de ácidos graxos, pode ter promovido a incorporação desses ácidos graxos nas membranas espermáticas, principalmente o ácido araquidônico (22:4n-6). Segundo Surai et al. (1998), os espermatozoides de perus e galos são caracterizados por conterem uma elevada proporção de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente araquidônico e docosatetraenóico. Por outro lado, os espermatozoides de mamíferos contêm uma proporção maior de ácidos graxos poliinsaturados da série n-3 (docosahexanóico), segundo Kelso et al. (1997b).

Murgas (1999), adicionando óleo de soja como fonte de ácidos graxos essenciais na ração de reprodutores suínos, não observou efeito sobre a termorresistência dos espermatozoides quando comparado com reprodutores que não receberam o óleo de soja. O óleo de soja contém maior proporção de ácidos graxos da série n-6 em relação à série n-3. Isto pode ter promovido uma menor incorporação dos ácidos graxos da série n-3, os quais são importantes na manutenção da integridade das membranas dos espermatozoides de mamíferos.

No presente estudo, mesmo com a maior termorresistência espermática observada, a taxa de resistência osmótica não foi afetada pela adição de óleos como fonte de ácidos graxos essenciais. Isto indica que a maior estabilidade de membrana provocada pela adição dos óleos não protege os espermatozoides contra a variação osmótica do meio.

4.3 Desenvolvimento testicular

Os dados de peso corporal e pesos testiculares estão apresentados na Tabela 11. Não foi observada interação significativa ($P > 0,05$) entre as fontes de óleo utilizadas e os níveis de vitamina E para o peso corporal. Entretanto, para o peso dos testículos direito e esquerdo houve interação significativa ($P < 0,05$). A

análise de variância mostrou que houve diferença significativa ($P<0,05$) para o peso corporal entre as fontes de óleos usadas neste experimento.

TABELA 11.- Peso corporal, peso do testículo direito (PTD) e peso do testículo esquerdo (PTE), em gramas, de galos Lohman LSL com 30 semanas de idade, de acordo com as fontes de óleo e níveis de suplementação vitamina de E.

Fonte de óleo	Nível de vitamina E (mg/kg)		
	200	400	Média
PESO CORPORAL (g)			
Soja	2197,5	2170,0	2183,8 b
Canola	2163,3	2057,5	2102,9c
Girassol	2217,5	2230,0	2223,8 a
Média	2192,8 A	2152,5 B	-
Controle		2226,3	
CV (%)		4,1	
PESO DE TESTÍCULO DIREITO (g)			
Soja	17,00a	16,91	16,95
Canola	17,73a	16,94	17,27
Girassol	16,19b	16,90	16,54
Média	16,97	16,91	-
Controle		16,85	
CV (%)		15,3	
PESO DO TESTÍCULO ESQUERDO (g)			
Soja	16,26 b	18,10	17,18
Canola	18,71 a	17,05	17,76
Girassol	16,96 b	17,76	17,36
Média	17,31	17,64	-
Controle		17,29	
CV (%)		18,4	

^{ab}Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem estatisticamente, pelo teste Scott-Knott ($P<0,05$).

^{AB}Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem estatisticamente, pelo teste Scott-Knott ($P<0,05$).

Os animais que consumiram ração suplementada com óleo de girassol apresentaram maior peso corporal ao abate às 30 semanas de idade. Por outro

lado, a suplementação da ração com óleo de canola promoveu redução no peso corporal dos reprodutores.

Alguns trabalhos realizados com leitões têm mostrado que o baixo conteúdo de ácido erúico encontrado no óleo de canola (0,5-2,0%) é responsável pela redução no número de plaquetas e conseqüentes alterações cardiovasculares, além de promover uma redução, não significativa, no peso corporal desses animais (Kramer et al., 1998; Innis & Dyer, 1999; Green & Innis, 2000). Pode-se sugerir que o ácido erúico residual no óleo de canola atua como fator antinutricional; entretanto, ainda existe pouca literatura relacionando os efeitos que essa substância possa exercer sobre o ganho de peso em aves.

Em trabalhos realizados por Ajuyah et al. (1993) comparando dietas com dois níveis de óleo de canola mais farelo de canola, observou-se que a inclusão de óleo de canola e de produtos à base de linhaça deprimiram a taxa de crescimento em frangos de corte.

Independentemente da fonte de óleo utilizada neste estudo, o nível de 200 mg de vitamina E proporcionou maior peso corporal dos reprodutores às 30 semanas de idade. Segundo Combs (1992), o aumento dos níveis de vitamina E na alimentação pode exercer um antagonismo sobre outras vitaminas lipossolúveis (A, D e K), além de causar alterações gastrointestinais que podem comprometer o consumo de alimento e, conseqüentemente, o peso corporal.

O peso testicular (testículos direito e esquerdo) foi maior ($P < 0,05$) nos animais que consumiram ração suplementada com óleo de canola no nível de 200mg de vitamina E. Entretanto, e o peso do testículo direito dos animais que consumiram a ração suplementada com óleo de soja não variou significativamente do peso testicular para os animais que receberam o óleo de canola. Apesar da literatura citar uma elevada correlação positiva entre o peso corporal e peso testicular (Etches, 1996), o óleo de canola proporcionou elevado

peso testicular nos animais que apresentaram menor peso corporal. Segundo Zanini et al. (2003), o óleo de canola promove maior taxa de fertilidade do sêmen de galos reprodutores leves. Segundo esses autores, a relação entre os ácidos graxos insaturados e ácidos graxos saturados, observada no óleo de canola, pode proporcionar maior estabilidade das membranas celulares e, conseqüentemente, promover maior crescimento do epitélio testicular, com maximização das propriedades funcionais das membranas das células espermáticas.

4.4 Avaliação histológica testicular

Os dados de histologia testicular estão apresentados nas Tabelas 12 e 13. Não foi observada interação significativa ($P>0,05$) entre as fontes de óleo utilizadas e os níveis de vitamina E para essas variáveis. O diâmetro dos túbulos seminíferos não foi influenciado significativamente ($P>0,05$) pelas fontes de óleo nem os níveis de vitamina E, utilizados neste experimento. Por outro lado, a espessura do epitélio seminífero sofreu influência significativa ($P<0,05$) das fontes de óleo utilizadas. Os animais que receberam rações suplementadas com óleo de soja e de canola apresentaram maior espessura do epitélio seminífero. Como observado na Tabela 13, o peso testicular dos animais que receberam a ração com óleo de soja e canola no nível de 200 mg de vitamina E, foi maior. Provavelmente, a maior espessura do epitélio seminífero maior observada nesses animais pode ter influenciado o peso testicular.

Em estudo realizado por Artoni et al. (1999) avaliando a histologia testicular de codornas (*coturnix coturnix japonica*) influenciadas pelo fotoperíodo, observou-se que o peso testicular apresentou relação significativa com a atividade espermatogênica. Nesse estudo, a maior atividade

espermatogênica foi determinada pelo aumento na espessura do epitélio seminífero ou germinativo.

TABELA 12. Diâmetro dos túbulos seminíferos e espessura do epitélio seminífero de galos Lohman LSL, em μm , de acordo com as fontes de óleo e níveis de suplementação vitamina de E.

Fonte de óleo	Nível de vitamina E (mg/kg)		
	200	400	Média
DIÂMETRO DOS TÚBULOS SEMINÍFEROS (μM)			
Soja	278,2	279,9	279,1
Canola	275,6	277,3	276,5
Girassol	277,5	275,9	276,7
Média	277,1	277,7	-
Controle		288,3	
CV (%)		12,81	
ESPESSURA DO EPITÉLIO SEMINÍFERO (μM)			
Soja	101,1	96,5	98,8 a
Canola	95,5	91,5	93,5 b
Girassol	89,8	92,7	91,2 b
Média	95,5	93,6	-
Controle		91,7 b	
CV (%)		18,92	

^{ab}Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste Scott-Knott ($P < 0,05$).

O número de células avaliadas no epitélio seminífero não foi influenciado pelos tratamentos ($P > 0,05$). Os valores observados para esses parâmetros foram semelhantes aos encontrados nos animais que receberam a ração controle. Supõe-se que a maior espessura do epitélio seminífero observada nos animais que consumiram as rações suplementadas com óleo de soja (Tabela 12) possa ser resultado de uma maior atividade metabólica celular e não motivada por uma hiperplasia

celular. Neste caso, pode ter ocorrido uma hipertrofia da célula de Sertoli com maior atividade metabólica.

TABELA 13.- Número de células de Sertoli, espermatogônias e espermátides arredondadas por túbulo seminífero de galos Lohman LSL de acordo com as fontes de óleo e níveis de suplementação vitamina de E.

Fonte de óleo	Nível de vitamina E (mg/kg)		
	200	400	Media
NÚMERO DE CÉLULAS DE SERTOLI			
Soja	11,60	11,35	11,48
Canola	11,38	11,65	11,51
Girassol	11,50	11,35	11,43
Média	11,49	11,45	-
Controle		11,95	
CV%		12,52	
NÚMERO DE ESPERMATOGÔNIAS			
Soja	1,45	1,35	1,40
Canola	1,43	1,43	1,43
Girassol	1,45	1,53	1,49
Média	1,44	1,44	-
Controle		1,68	
CV%		50,34	
NÚMERO DE ESPERMÁTIDES ARREDONDADAS			
Soja	43,18	45,58	44,37
Canola	45,50	44,00	44,75
Girassol	45,70	44,98	45,34
Média	44,79	44,85	-
Controle		42,40	
CV%		14,62	

4.5 Níveis de triglicerídeos e colesterol

Os dados de níveis de triglicerídeos e colesterol no plasma dos galos reprodutores estão apresentados na Tabela 14. Foi observado efeito significativo ($P < 0,01$) do peso corporal dos animais sobre estes parâmetros. A interação entre as fontes de óleo e os níveis de vitamina E não foi significativa ($P > 0,05$) para os níveis de triglicerídeos e colesterol. Os tratamentos testados não influenciaram significativamente ($P > 0,05$) estas variáveis. Entretanto, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os níveis de vitamina E, independentemente das fontes de óleo, sendo que, ao nível de 200 mg, os níveis de triglicerídeos e colesterol foram menores que ao nível de 400 mg.

TABELA 14. Nos níveis de triglicerídeos e colesterol no sangue de galos Lohman-LSL, em mg/dl, na 30ª semana de idade, de acordo com as fontes de óleo e níveis de suplementação vitamina de E.

Fonte de óleo	Nível de vitamina E (mg/kg)		
	200	400	Média
NÍVEIS DE TRIGLICERÍDEOS NO SANGUE (mg/dl)			
Soja	98,00	128,25	113,13
Canola	106,00	108,75	107,38
Girassol	100,75	121,25	111,25
Média	101,58b	119,58a	
Controle		114,75	
CV (%)		17,67	
NÍVEIS DE COLESTEROL NO SANGUE (mg/dl)			
Soja	110,50	115,25	112,88
Canola	114,75	124,00	119,38
Girassol	106,75	123,25	115,00
Média	110,66b	120,83a	
Controle		111,0	
CV (%)		8,96	

^{ab}Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste Dunnet ($P < 0,05$).

Em trabalho realizado por Zanini et al. (2003), a ingestão de ração suplementada com óleo de soja resultou em aumento do conteúdo de lipídeos totais e colesterol no sangue quando comparado a outras fontes de óleo.

Os animais mais pesados apresentaram níveis maiores de triglicerídeos e colesterol. Estes resultados estão de acordo com os relatados por Sousa (2002), que observou um aumento da colesterolemia e dos níveis sanguíneos de lipídeos totais em suínos com pesos variando entre 70 e 100 kg.

Em estudo realizado com ratos machos, foi observado que os níveis de colesterol e triglicerídeos plasmáticos foram reduzidos quando os animais receberam suplementação com óleo de peixe, rico em n-3, a 6% (Zák et al., 1990). Entretanto, no presente estudo, não foi observada diferença significativa nos níveis dessas variáveis entre as fontes de óleo e o controle, provavelmente pela reduzida quantidade de ácidos graxos da série n-3 observada nos óleos aqui utilizados.

As aves, por possuírem um sistema linfático rudimentar, têm o fígado como o primeiro tecido exposto aos lipídeos absorvidos da dieta, isso significa que , os lipídeos da dieta caem na circulação porta-hepática, por meio de portomícrons e sua passagem pelo fígado faz com que este modifique a composição dos ácidos graxos dos triglicerídeos antes de fornecê-los para outros tecidos, por meio da lipoproteína de densidade muito baixa. Isto não acontece em mamíferos, nos quais os ácidos graxos da dieta entram nos quilomícrons, que deixam os intestinos via linfa e, posteriormente, ganham a circulação sistêmica, onde muitos tecidos os retiram sem modificação prévia feita pelo fígado (Zanini, 2001). Dessa forma, possivelmente, no presente estudo, os níveis de triglicerídeos e colesterol se mantiveram constantes, sem apresentar diferenças, entre os tratamentos.

Segundo Harper (1982), a LDL (lipoproteína de baixa densidade) é a mediadora da captação do colesterol e de ésteres do colesterol por muitos tecidos. O colesterol livre é removido dos tecidos pela HDL (lipoproteína de alta densidade) e transportado para o fígado para conversão aos ácidos biliares, no processo conhecido como o transporte reverso do colesterol. A vitamina E é um antioxidante que evita a oxidação e a presença de radicais livres dos lipídeos do LDL-colesterol para evitar a formação do colesterol ruim. Por isso, maiores níveis de vitamina E também protegem o HDL que, possivelmente, ajuda a remoção do colesterol dos tecidos, aumentando o nível de colesterol no sangue.

4.6 Taxa de fertilidade

Os dados de taxa de fertilidade estão apresentados na Tabela 15. Não foi observada interação significativa ($P > 0,05$) entre as fontes de óleo e os níveis de vitamina E utilizados neste experimento sobre essa variável, assim como também os tratamentos não a influenciaram ($P > 0,05$).

Uma vez que a motilidade espermática e a termorresistência dos espermatozoides foram afetadas pelos tratamentos neste estudo, esperava-se que a fertilidade fosse maior para os animais que receberam os melhores tratamentos para as variáveis citadas. Entretanto, isto não aconteceu, provavelmente por influência da elevada concentração espermática na dose inseminante usada neste experimento (150 milhões de espermatozoides).

TABELA 15. Fontes de óleo e níveis de suplementação de vitamina E sobre a taxa de fertilidade dos espermatozóides de galos Lohman-LSL, em percentagem, na 32ª semana de idade.

Fonte de óleo	Nível de vitamina E (mg/kg)		
	200	400	Média
	TAXA DE FERTILIDADE %		
Soja	61,43	70,00	67,71
Canola	53,33	75,00	64,17
Girassol	61,43	62,90	62,17
Média	59,00	69,60	
Controle		60,00	
CV (%)		31,19	

Em todas as aves domésticas, a concentração da dose inseminante varia entre 50 e 200 milhões de espermatozóides (Etches 1996).

Segundo Sexton (1977), citado por Etches (1996), a taxa de fertilidade ótima, na inseminação artificial, depende de vários fatores, como a idade do galo, da galinha, método de coleta de sêmen, intervalo entre coleta e inseminação, técnica de inseminação e qualquer outro fator que afeta a capacidade de fertilização.

As baixas taxas de fertilidade observadas neste estudo podem ter sido ocasionadas pela idade das galinhas, as quais se encontravam no início do primeiro ciclo de postura.

Em trabalhos realizados por Kelso et al. (1997c) utilizando galos da linhagem Cobb suplementados com óleo de soja e linhaça, observou-se um aumento da taxa de fertilidade às 39 semanas de idade nos animais que receberam o óleo de linhaça (rico em ácidos graxos da série n-3).

A maior proporção de ácido araquidônico observada nos espermatozóides de galos, apresentou uma significativa correlação negativa com

a idade do animal, mas, correlação positiva com a motilidade e a capacidade fertilizante do espermatozóide (Cerolini et al., 1997a).

Rações suplementadas com óleos ricos em ácidos graxos melhoram a capacidade fertilizante do sêmen de galos a partir das 39 semanas de idade, segundo Blesbois et al. (1997).

5 CONCLUSÃO

Nas condições que foi realizado o experimento e pelos resultados obtidos concluiu-se que qualquer fonte óleo das utilizadas neste estudo pode ser adicionada à ração de galos reprodutores sem necessidade de elevados níveis de vitamina ‘E’.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AITKEN, R. J. A free radical theory of male infertility. **Reproduction Fertility and Development**, Collingwood, v. 6, n. 1, p. 19-24, 1994.
- ALLAIN, C. A.; POON, L. S.; CHAN, C. S. G.; RICHMOND, W.; FU, P. C. Enzymatic determination of total serum-cholesterol. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 20, n. 4, p. 470-475, 1974
- ALVAREZ, J. C.; STOREY, B. T. Spontaneous lipid peroxidation in rabbit epididymal spermatozoa; its effect on sperm motility. **Biology Reproduction**, Madison, v. 27, n. 5, p. 1102-1108, 1982.
- ARTONI, S. M.; ORSI, A. M.; CARVALHO, T. L.; VICENTINI, C. A.; STEFANINI, M. A. Seasonal morphology of the domestic quail (*Coturnix coturnix japonica*) testis. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, Berlin, v. 28, n. 4, p. 217-220, Aug. 1999.
- AJUYAH, A. O.; HARDIN, R. T.; SIM, J. S. Effect of full-fat flax seed with and without antioxidant on the fatty acid composition of major lipid classes of chicken meats. **Poultry Science**, Champaign, v. 72, n. 1, p. 125-136, Jan. 1993.
- BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; NETO, A. G. F. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Edart, 1976, 346 p.
- BERNDTSON, W. E.; PICKET, B. W. Relationship of absolute number of Sertoli cells to testicular size and spermatogenesis in young beef bulls. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 64, n. 3, p. 241-246, Oct. 1987.
- BLESBOIS, E.; LESSIRE, M.; HERMIER, D. Effect of cryopreservation and diet on lipid of fowl sperm and fertility. **Poultry And Avian Biology Reviews**, Middx, v. 8, n. 3/4, p. 149-154, 1997.
- BREZEZINSKA-SLEBODZINSKA, E. et al. Antioxidant effect of vitamin E and glutathione on lipid peroxidation in boar semen plasma. **Biological Trace Element Research**, Totowa, v. 47, n. 1/3, p. 69-74, Jan./Mar. 1995.
- BURROWS, W. R.; QUINN, A. Method of obtaining spermatozoa from the domestic fowl. **Poultry Science**, Champaign, v. 14, p. 253, 1935.

CELEGHINI, E. C. C.; ALBUQUERQUE, R.; ARRUDA, R. P.; LIMA, C. G. Correlações entre as características seminais, parâmetros testiculares (peso) e histologia e peso corporal em galos. In: CONFERENCIA APINCO-2000, DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas. v. 1, p. 56.

CEPERO BRIZ, R. Ovos enriquecidos com n-3. **Aves e Ovos**, São Paulo, v. 14, n. 5, p. 10-17, maio 1998.

CEROLINI, S.; KELSO, K. A.; NOBLE, R. C.; SPEAKE, B. K.; PIZZI, F.; CAVALCHINI, L. G. Relationship between spermatozoa lipid composition and fertility during aging of chickens **Biology of Reproduction**, Madison, v. 57, n. 5, p. 976-980, Nov. 1997a.

CEROLINI, S.; PIZZI, F.; GLIOZZI, T.; MALDJIAN, A.; ZANIBONI, L.; PARODI, L. Lipid manipulation in chicken semen by dietary means and its relation to fertility: a review. **World Poultry Science Journal**, Washington, v. 59, n. 1, p. 65-75, 2003.

CEROLINI, S.; SURAI, P.; MALDJIAN, A.; GLIOZZI, T.; NOBLE R. Lipid composition of semen in different fowl breeders. **Poultry and Avian Biology Reviews**, Middx, v. 8, n. 3/4, p. 141-148, 1997b.

CESIL, H. C.; BAKST, M. R. In vitro lipid peroxidation of turkey spermatozoa. **Poultry Science**, Champaign, v. 72, n. 7, p. 1370-1378, July 1993.

COMBS, G. F. **The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health**. New York: Academic Press, 1992. 526 p.

CONQUER, J. A.; MARTIN, J. B.; TUMMON, I.; WATSON, L.; TEKPETEY, F. fatty acid analysis of blood serum, seminal plasma and spermatozoa of normozoospermic versus asthenozoospermic males **Lipids**, Champaign, v. 34, n. 8, p. 793-799, Aug. 1999.

DARIN-BENNET, A.; POULOS, A.; WHITE, I. G. The phospholipids and phospholipids-bound fatty acids and aldehydes of dog and fowl spermatozoa **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 41, n. 2, p. 471-474, 1974.

DELAMIRANDE, E.; GAGNON, C. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa –a balancing act between beneficial and detrimental effects. **Human Reproduction**, Oxford, v. 10, p. 15-21, 1995. Supplement.

DELL, K. R.; SEVERSON, D. L. Effect of cis-unsaturated fatty acids on aortic protein kinase C activity. **Biochemistry Journal**, London, v. 258, n. 1, p. 171-175, Feb. 1989.

DONOGHE, A. M.; DONOGHE, D. J. Effects of water- and lipid soluble antioxidants on turkey sperm viability, membrane integrity, and motility during lipid storage, **Poultry Science**, champaign, v. 76, n. 10, p. 1440-1445, Oct. 1997.

ETCHES, R. J. **Reproducción aviar** Zaragoza: Acribia, 1996. 339 p.

EUCLYDES, R. F. **Manual de utilização do programa SAEG (Sistema de Análise Estatísticas e Genéticas)**. Viçosa: UFV-CPD, 1993.

FOSATI, P.; PRENCIPE, L. Serum triglycerids determinate colorimetrically with an enzyme that produce hydrogen peroxide. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 28, n. 10, p. 2077-2080, Oct. 1982.

FREISLEBEN, H. J.; PACKER, L. Free radical scavenging activities interaction and recycling of antioxidants. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 21, n. 2, p. 325-330, May 1993.

FUJIHARA, N.; HOWARTH, B. Lipid peroxidation in fowl spermatozoa **Poultry Science**, Champaign, v. 57, n. 6, p. 1766-1768, Nov. 1978.

FUJIHARA, N.; KOGA, O. Prevention of the production of lipid peroxide in rooster spermatozoa. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 7, n. 4, p. 385-390, 1984.

GENNIS, R. B. **Biomembranes: Molecular structure and function**. New York: Springer-Verlag, 1989.

GEVA, E.; LESSING, J. B.; BARTOOV, B.; LENERGEVA, L.; ZABLUDOVKY, N.; AMIT, A. The effect of antioxidant treatment on human spermatozoa and fertilization rate in an *in vitro* fertilization program. **Fertility and Sterility**, Birmingham, v. 66, n. 3, p. 430-434, Sept. 1996.

GREEN, T. J.; INNIS, S. M. Low erucic acid canola oil does not induce heart triglyceride accumulation in neonatal pigs fed formula. **Lipids**, Champaign, v. 35, n. 6, p. 607-612, June 2000.

GRIVEAU, J. F.; RENARD, P.; LELANNOU, D. Superoxide anion production by human spermatozoa as a part of the ionophore – induced acrosome reaction process. **International Journal Andrology**, New York, v. 18, n. 2, p. 64-74, Apr. 1995.

GUR, M. G. **Rol of fats in food and nutrition**. London: Elsevier applied science, 1992.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 4. ed. São Paulo: Manole, 1982. 720 p.

HAMMERSTEDT, R. H. Maintenance of bioenergetic balance in sperm and preservation of lipid peroxidation: a review on the effect on design of storage preservation systems **Reproduction, Fertility and Development**, Collingwood, v. 5, n. 6, p. 675-690, 1993.

HARPER, H. A.; RODWELL, V. W.; MAYES, P. A. **Manual de química fisiológica**, 5. ed. São Paulo: atheneu, 1982.846 p.

HOLMAN, R. T. A long scaly tale- the study of essential fatty acid deficiency at the university of Minnesota. In essential fatty acids and eicosanoids. In: SINCLAIR, A.; GIBSON, R. (Ed.). **American oils chemists'society**. Champaign: II USA, 1992.

HWANG, D. H.; CARROLL, A. E. Decrease formation of prostaglandins derived from arachidonic acid by dietary linolenate in rats. **American Journal of clinical Nutrition**. Baltimore, v. 33, n. 6, p. 590-597, 1986.

INNIS, S. M.; DYER, R. A. Dietary canola oil alters hematological indices and blood lipids in neonatal piglets fed formula. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 129, n. 7, p. 1261-1268, July 1999.

JAENISCH, F. R. F. Morfologia espermática em galos com diferentes pesos corporais. In: REUNIÃO ANNUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Fortaleza. p. 401-403.

JAIN Y. C.; ANAND S. R. Fatty acids fatty aldehydes of buffalo seminal plasma and sperm lipid. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 47, n. 2, p. 261-267, 1976.

JONES, R.; MANN, T. Toxicity of exogenous fatty acid peroxides towards spermatozoa. **Journal Reproduction Fertility**, Cambridge, v. 50, n. 2, p. 255-260, 1977.

KELSO, K. A.; CEROLILNI, S.; NOBLE, R. C.; SPARK, N. H. C.; SPEAKE, B. K. The Effect of Dietary Supplementation with Docosahexaenoic Acid on the phospholipid fatty acid composition of avian spermatozoa. **Comparative Biochemistry Physiological**, B, Oxford, v. 118, n. 1, p. 65-69, Sept. 1997a.

KELSO, K. A.; CEROLINI, S.; NOBLE, R. C.; SPARKS, N. H. C.; SPEAKE, B. K. Lipid and antioxidant changes in semen broiler fowl from 25 to 60 weeks of age. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 106, n. 2, p. 201-206, Mar. 1996.

KELSO, K. A.; CEROLINI, S.; SPEAKE, B. K.; CAVALCHINI, L. G.; NOBLE, R. C. Effect of dietary supplementation with α Linolenic acid on the phospholipids fatty acid composition and quality of spermatozoa in cockerel from 24 to 72 week of age. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 110, n. 1, p. 53-59, May 1997b.

KELSO, K. A.; REDPATH, A.; NOBLE, R. C.; SPEAKE, B. K. Lipid and antioxidant changes in spermatozoa and seminal plasma throughout the reproductive period of bulls **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 109, n. 1, p. 1-6, Jan. 1997c.

KESSEPOULOU, E.; POWER, H. J.; SHARMA, K. K.; PEARSON, M. J. RUSSELL, J. M.; COOKE, I. D.; BARRAT, C. L. R. A double-blind randomized placebo cross-over controlled trial using the antioxidant vitamin E to treat oxygen species-associated male infertility. **Fertility and Sterility**, Birmingham, v. 64, n. 4, p. 825- 883, Oct. 1996.

KLASING, K. C. **Comparative avian nutrition**. UK: Cab International, 1998. 350 p.

KRAMER, J. K.; SAUER, F. D.; FARNWORTH, E. R.; STEVENSON, D.; ROCK, G. A. Hematological and lipid changes in newborn piglets fed milk-replacer diets containing erucic acid. **Lipids**, Champaign, v. 33, n. 1, p. 1-10, Jan. 1998.

LAWRENCE, R. A.; BURK, R. F. Species tissues and sub-cellular distribution of non-Se dependent glutathione peroxidase activity. **Journal Nutrition**, Bethesda, v. 108, n. 2, p. 211-215, Feb. 1978.

LIN, D. S.; CONNOR, W. E.; WOLF, D. P.; NEURINGER, M.; HATCHEY, D. L. Unique lipid of primate spermatozoa: demosterol and DHA **Journal Lipid Research**, Bethesda, v. 34, n. 3, p. 491-499, Mar. 1993.

MARIN-GUZMAN, J.; MAHAN, D. C.; CHUNG, Y. K.; PATE, J. L.; POPE, W. F. Effect of dietary selenium and vitamin E on boar performance and tissues responses, semen quality, and subsequent fertilization rates in mature gilts. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 11, p. 2994-3003, Nov. 1997.

MARTIN RILLO, S.; MARTINEZ, E.; GARCIA ARTIAGA, C.; DE ALBE, C. Bora semen evaluation in practice. **Reproduction Domestic Animal**, Berlin, v. 31, n. 4, p. 519-526, 1996.

McDOWELL, L. R. Essential fatty acids. In: **Vitamins in animal nutrition**. London: Academic Press, 1989. p. 400-421

MICHALSKI, W. Resolution of three forms of superoxide dismutase by immobilised metal affinity chromatography. **Journal Chromatography B**, Amsterdam, v. 576, p. 340-345, 1992.

MURGAS, L. D. S. **Desempenho reprodutivo de varrões híbridos alimentados com rações suplementadas com óleo de soja como fonte de ácidos graxos**. 1999. 111 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG.

NIKI, E.; NOGUCHI, N.; GOTOH, N. Dynamics of lipid peroxidation and its inhibition by antioxidants. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 21, n. 2, p. 313-317, May 1993.

NISSEN, H. P.; KREYSEL, H. W. Polyunsaturated fatty acids in relation to sperm motility. **Andrologia**, Berlin, v. 15, n. 3, p. 264-269, 1983.

NISSEN, H. P.; KREYSEL, H. W.; SCHIRREN, C. Composition of lipid-bound fatty acids of human semen in relation to its fertility values. **Andrologia**, Berlin, v. 13, n. 4, p. 444-451, 1981.

PACKER, L. Interactions among antioxidants in health and disease: vitamin E and its redox cycle. **Proceedings of the Society Experimental Biology and Medicine**, Malden, v. 200, n. 2, p. 271-276, June 1992.

PARKHURST, C. R.; MOUNTNEY, G. J. **Poultry meat and egg production**. New York: An Avi Book, 1988. 294 p.

POULOS, A.; DARIN-BENNET, A.; WHITE, I.G. The phospholipids bound fatty acid and aldehydes of mammalian spermatozoa. **Comparative Biochemistry Physiology, B**, Sydney, v. 46, n.36, 541-549, 1973.

RAVIE, O.; LAKE, P. E. The phospholipids bound fatty acid of fowl and turkey spermatozoa. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 189-192, 1985.

ROSTAGNO, H. S.; SILVA, D. J.; COSTA, P. M. A.; FONSECA, J. B.; SOARES, P. R. **Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos** (tabelas brasileiras) Viçosa: UFV, 1992. 60 p.

SIKKA, S. C.; RAJASEKARAN, M.; HELLSTROM, W. J. G. Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. **Journal and Andrology**, Lawrence, v. 16, n. 6, p. 464-468, Nov. 1995.

SILVA, F. C. O. **Níveis de energia digestível para suínos machos inteiros e fêmeas dos 60 aos 100 kg**. 1997. 89 p. (Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SOUSA, R. V. **Desempenho, qualidade de carcaça e da carne e perfil lipídico de suínos de 70 a 100kg de peso vivo alimentados com rações contendo diferentes óleos**. 2002. 146 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG

SURAI, P. F. Vitamin E in avian reproduction. **Poultry Avian Biology Review**, Middx, v. 10, n. 1, p. 1-60, 1999.

SURAI, P. F.; BLESBOIS, E.; GRASSEAU, I.; CHALAH, T.; BRILLARD, J. P. WISHART, G. J.; CEROLINI, S.; SPARKS, H. N. C. Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity of avian semen. **Comparative Biochemistry and Physiology, B**, Oxford, v. 120, n. 3, p. 527-533, July 1998a.

SURAI, P. F.; BRILLARD, J. P.; BLEBOIS, E.; SPEAKE, B. K.; SEIGNEURIN, F.; SPARKS, N. H. C. Phospholipid fatty acid composition, vitamin E content and susceptibility to lipid peroxidation of duck spermatozoa. **Theriogenology**, New York, v. 53, n. 5, p. 1025-1039, Mar. 2000a.

SURAI, P. F.; NOBLE, R. C.; SPARKS, N. H. C.; SPEAKE, B. K. Effect of long-term supplementation with arachidonic or docosahexaenoic acids on sperm production in broiler chicken. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 120, n. 2, p. 257-264, Nov. 2000b.

SURAI, P. F.; NOBLE, R. C.; SPEAKE, B. K. Tissue specific differences in antioxidant distribution and susceptibility to lipid peroxidation during development of the chick embryo. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v 1304, n-4, p. 1 10, Nov. 1996.

SWENSON, J. M. **DUKES: fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabra-Koogan, 1996. 697 p.

THEROND, P.; AUGER, J.; LEGRAND, A.; JOUANNET, P.; Alpha tocopherol in human spermatozoa and seminal plasma: relationship with motility, antioxidant enzymes and leukocytes. **Molecular Human Reproduction**, Oxford, v. 10, p 739-744, 1996.

WHITTEMORE, C. **The science and practice of pig production**. Singapura: Long Scientific & Technical, 1993. 564 p.

WISHART, G. J. Effects of lipid peroxide formation in fowl semen on sperm motility, ATP content and fertilizing, ability. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 71, n. 1, p. 113-118, 1984.

WISHART, G. J. Maintenance of ATP concentration in and of fertilizing ability of fowl and turkey spermatozoa in vitro. **Journal Reproduction Fertility**, Cambridge, v. 66, n. 2, p. 457-462, 1982.

YU, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiology Review**, Bethesda, v. 74, n. 1, p. 139-62, Jan. 1994.

ZÁK, A.; HÁTLE, K.; MARES, P.; VRANA, A.; ZEMAN, M. SINDELKOVÁ, E. SKOREPA, J.; HRABÁK, P. Effects of dietary n-3 fatty acids on the composition of colesteryl éster and triglycerides in plasma and liver perfusate of the rat. **Journal Nutrition Biochemistry**, Woburn, v. 1, n. 9, p. 472-477, Sept. 1990.

ZALATA, A. A.; CHRISTOPHE, A. B.; DEPUYDT, C. E.; SCHONNJANS, F.; COMHAIRE, F. H. The fatty acid composition of phospholipids of spermatozoa from infertile patients. **Molecular Human Reproduction**, Oxford, v. 4, n. 2, p. 111-118, Feb. 1998.

ZANINI, S. F. **Fontes de óleo e níveis de suplementação de vitamina E na ração sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de galos leves.** 2001. 115 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG.

ZANINI, S. F.; TORRES, C. A. A.; BRAGAGNOLO, N.; TURATTI, J. M.; SILVA, M. G.; ZANINI, M. S. Fontes de óleo e níveis de vitamina E sobre desempenho produtivo e reprodutivo de galos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 5, p. 71, 2003. Suplemento.

ANEXO

ANEXO A	Página
TABELA 1A	Quadrados médios da análise de variância para o consumo de ração diário e ganho de peso total de galos Lohmann.....64
TABELA 2A	Quadrados médios da análise de variância para o peso do testículo direito e esquerdo, de galos Lohmann LSL, às 30 semanas de idade.....64
TABELA 3A	Quadrados médios da análise de variância para o volume e a motilidade espermática, de galos Lohmann LSL, às 28 semanas de idade.....64
TABELA 4A	Quadrados médios da análise de variância para o volume e a motilidade espermática, de galos Lohmann LSL, às 29 semanas de idade.65
TABELA 5A	Quadrados médios da análise de variância para a concentração espermática e número de células totais, de galos Lohmann LSL, às 28 semanas de idade.65
TABELA 6A	Quadrados médios da análise de variância para a concentração espermática e número de células totais, de galos Lohmann LSL, às 29 semanas de idade.65
TABELA 7A	Quadrados médios da análise de variância para o diâmetro do túbulo seminífero e para a espessura do epitélio seminífero, de galos Lohmann LSL, às 30 semanas de idade.66
TABELA 8A	Quadrados médios da análise do número de células de Sértoli e o número de espermatogônias, de galos Lohmann LSL, às 30 semanas de idade.66
TABELA 9A	Quadrados médios da análise de variância para o número de espermátides arredondadas, de galos Lohmann LSL, às 30 semanas de idade.66

TABELA 10A	Quadrados médios da análise de variância para a taxa de resistência osmótica e a taxa de resistência ao calor de galos Lohmann LSL..	67
TABELA 11A	Quadrados médios da análise de variância para a anormalidade de cabeça e cauda do espermatozóide às 29 semanas de idade de galos Lohmann LSL.	67
TABELA 12A	Quadrados médios da análise de variância para a presença de gota e a anormalidade total, de galos Lohmann LSL, às 29 semanas de idade..	67
TABELA 13A	Quadrados médios da análise de variância para o nível de triglicerídeos e colesterol no sangue, de galos Lohmann LSL, às 30 semanas de idade..	68
TABELA 14A	Quadrados médios da análise de variância para taxa de fertilidade, de galos Lohmann LSL, às 32 semanas de idade.....	68

TABELA 1A. Quadrados médios da análise de variância para o consumo de ração diário e ganho de peso total de galos Lohmann LSL.

FONTES DE VARIACÃO	G.L.	CONSUMO DE RAÇÃO	GANHO DE PESO
Bloco	3	983114,5*	6795,1**
Fontes de óleo	2	62854,9	26979,9*
Níveis de vitamina	1	2808,3	890,5
F. Óleo x N. Vitamina	2	311399,2*	27,3
Erro	103	73677,6	3140,6
CV (%)		6,80	17,80

TABELA 2A. Quadrados médios da análise de variância para o peso do testículo direito e esquerdo, de galos Lohmann LSL, às 30 semanas de idade.

FONTES DE VARIACÃO	G.L.	PESO TESTÍCULO DIREITO	PESO TESTÍCULO ESQUERDO
Bloco	3	24,613*	42,8211*
Fontes de óleo	2	0,9022	0,8757
Níveis de vitamina	1	0,00012	0,6489
F. Óleo x N. Vitamina	2	0,798	5,5977
Erro	18	6,686	10,084
CV (%)		15,3	18,4

TABELA 3A. Quadrados médios da análise de variância para o volume e a motilidade, de galos Lohmann LSL, às 28 semanas de idade.

FONTES DE VARIACÃO	G.L.	VOLUME	MOTILIDADE
Bloco	3	0,02909*	117,768
Fontes de óleo	2	0,00347	4,158
Níveis de vitamina	1	0,00079	0,00007
F. Óleo x N. Vitamina	2	0,0025	125,673
Erro	68	0,08291	102,581
CV (%)		27,88	12,07

TABELA 4A. Quadrados médios da análise de variância para o volume e a motilidade espermática, de galos Lohmann LSL, às 29 semanas de idade.

FONTES DE VARIAÇÃO	G.L.	VOLUME	MOTILIDADE
Bloco	3	0,0148*	30,637
Fontes de óleo	2	0,02	133,569
Níveis de vitamina	1	0,0085	84,931
F. Óleo x N. Vitamina	2	0,00154	70,224
Erro	68	0,0113	78,453
CV (%)		28,21	10,54

TABELA 5A. Quadrados médios da análise de variância para a concentração espermática e número de células totais, de idade de galos Lohmann LSL, às 28 semanas de idade.

FONTES DE VARIAÇÃO	G.L.	CONCENTRAÇÃO	NÚMERO DE CÉLULAS T.
Bloco	3	0,3840	5,3196
Fontes de óleo	2	0,0168	1,1569
Níveis de vitamina	1	0,0899	0,1368
F. Óleo x N. Vitamina	2	0,4983	1,8854
Erro	68	0,699	3,7708
CV (%)		60,5	50,36

TABELA 6A. Quadrados médios da análise de variância para a concentração espermática e número de células totais às 29 semanas de idade de galos Lohmann LSL.

FONTES DE VARIAÇÃO	G.L.	CONCENTRAÇÃO	NÚMERO DE CÉLULAS T.
Bloco	3	2,6660	15,9188*
Fontes de óleo	2	0,2250	0,7299
Níveis de vitamina	1	0,5490	0,4830
F. Óleo x N. Vitamina	2	1,1890	9,8461
Erro	68	1,26	4,5917
CV (%)		60,8	43,17

TABELA 7A. Quadrados médios da análise de variância para o diâmetro do túbulo seminífero e para a espessura do epitélio seminífero, de galos Lohmann LSL, às 30 semanas de idade.

FONTES DE VARIAÇÃO	G.L.	D. TUBULO SEMINÍFERO	E.EPITELIO SEMINIFERO
Bloco	3	0,02515	0,04004
Fontes de óleo	2	0,03107	0,22246*
Níveis de vitamina	1	0,00010	0,00685
F. Óleo x N. Vitamina	2	0,00694	0,03918
Erro	260	0,21589	0,05364
CV (%)		12,81	18,92

TABELA 8A. Quadrados médios da análise do número de células de Sertoli e o número de espermatogônias de galos Lohmann LSL, às 30 semanas de idade.

FONTES DE VARIAÇÃO	G.L.	N. CÉLULAS DE SERTOLI	N. ESPERMATIDES ARREDONDADAS
Bloco	3	1,3088	28,3293
Fontes de óleo	2	0,1797	13,1197
Níveis de vitamina	1	0,0382	4,5542
F. Óleo x N. Vitamina	2	1,3747	70,7511
Erro	260	2,0864	42,3288
CV (%)		12,52	14,62

TABELA 9A. Quadrados médios da análise de variância para o número de espermatides arredondadas de galos Lohmann LSL, às 30 semanas de idade.

FONTES DE VARIAÇÃO	G.L.	N. ESPERMATOGONIAS
Bloco	3	0,1053
Fontes de óleo	2	0,1137
Níveis de vitamina	1	0,0027
F. Óleo x N. Vitamina	2	0,1547
Erro	260	0,5487
CV (%)		50,34

TABELA 10A. Quadrados médios da análise de variância para a taxa de resistência osmótica e a taxa de resistência ao calor de galos Lohmann LSL.

FONTES DE VARIAÇÃO	G.L.	T.RESISTENCIA OSMOTICA	T.TERMORRÊ-SISTENCIA
Fontes de óleo	2	33,0720	79,16676
Níveis de vitamina	1	31,5100	266,6666
F. Óleo x N. Vitamina	2	87,7600	129,1666
Erro	18	81,0019	144,4444
CV (%)		21,585	19,81

TABELA 11A. Quadrados médios da análise de variância para a anormalidade de cabeça e cauda do espermatozóide, de galos Lohmann LSL, às 29 semanas de idade.

FONTES DE VARIAÇÃO	G.L.	ANORMALIDA DE CABEÇA	ANORMALIDADE CAUDA
Bloco	3	0,0093	0,0049
Fontes de óleo	2	0,0007	0,0001
Níveis de vitamina	1	0,0101	0,0005
F. Óleo x N. Vitamina	2	0,0093	0,0012
Erro	74	0,0048	0,005
CV (%)		44,8	51,69

TABELA 12A. Quadrados médios da análise de variância para a presença de gota e a anormalidade total, de galos Lohmann LSL, às 29 semanas de idade.

FONTES DE VARIAÇÃO	G.L.	PRESENCIA GOTA	ANORMALIDADE TOTAL
Bloco	3	0,0028	0,1057
Fontes de óleo	2	0,0053	0,0020
Níveis de vitamina	1	0,0058	0,0013
F. Óleo x N. Vitamina	2	0,0068	0,0147
Erro	74	0,0040	0,0061
CV (%)		29,93	24,81

TABELA 13A. Quadrados médios da análise de variância para o nível de triglicerídeos e colesterol no sangue, de galos Lohmann LSL, às 30 semanas de idade.

FONTES DE VARIÇÃO	G.L.	TRIGLICERÍDEOS SANGUÍNEO	COLESTEROL SANGUÍNEO
Bloco	3	3542,769*	1190,650*
Fontes de óleo	2	137,0820	91,2150
Níveis de vitamina	1	3669,236*	564,234*
F. Óleo x N. Vitamina	2	113,1340	64,4100
Erro	17	385,8260	106,3700
CV (%)		17,67	8,96

TABELA 14A. Quadrados médios da análise de variância para taxa de fertilidade, de galos Lohmann LSL, às 32 semanas de idade.

FONTES DE VARIÇÃO	G.L.	TAXA DE FERTILIDADE
Fontes de óleo	2	65,598
Níveis de vitamina	1	1194,11
F. Óleo x N. Vitamina	2	348,418
Erro	22	406,692
CV (%)		31,19