

## **Avaliação da motilidade e integridade de membrana espermática de galos alimentados com dietas com diferentes níveis de arroz integral sem casca em substituição ao milho na dieta**

**TAMIRIS BARBOSA BECK<sup>1</sup>; AMAURI TELLES TAVARES<sup>2</sup>, CAROLINA OREQUES DE OLIVEIRA<sup>3</sup>, CRISTIÉLI LANGE CONTREIRA<sup>4</sup>, MARCOS ANTÔNIO ANCIUTI<sup>5</sup>, DENISE CALISTO BONGALHARDO<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Mestranda Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UFPEL, Rio Grande do Sul, Brasil, Bolsista CAPES – [tamiris\\_beck@hotmail.com](mailto:tamiris_beck@hotmail.com)

<sup>2</sup>Graduando em Zootecnia – UFPEL, Rio Grande do Sul, Brasil - [importante.tavares@bol.com.br](mailto:importante.tavares@bol.com.br)

<sup>3</sup>Graduanda em Zootecnia – UFPEL, Rio Grande do Sul, Brasil - [carolina\\_oliveira2004@hotmail.com](mailto:carolina_oliveira2004@hotmail.com)

<sup>4</sup>Mestranda Mestranda Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UFPEL, Rio Grande do Sul, Brasil, Bolsista CAPES – [cristielecontreira@hotmail.com](mailto:cristielecontreira@hotmail.com)

<sup>5</sup>Professor Adjunto – IFSul, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil – [marcosanciuti@cavq.ifsul.edu.br](mailto:marcosanciuti@cavq.ifsul.edu.br)

<sup>6</sup>Prof. Associada – UFPEL, Rio Grande do Sul, Brasil – [denisebonga@hotmail.com](mailto:denisebonga@hotmail.com)

### **1. INTRODUÇÃO**

Os ingredientes utilizados na alimentação animal refletem diretamente nos custos da produção avícola. O milho é um dos principais componentes energéticos utilizados na alimentação de aves, em 2012 sofreu um aumento no seu custo devido à queda da produção nos EUA. Além disso, a sua disponibilidade para uso na produção animal é prejudicada pela utilização crescente na produção de biocombustíveis e pelo consumo do mesmo na alimentação humana. Portanto, se faz necessário estudos que possibilitem o uso de ingredientes alternativos como fonte energética a serem incorporadas à ração, que atendam às necessidades dos animais e que sejam economicamente viáveis. O arroz, em períodos de alta produção, pode ser uma alternativa para substituir o milho na ração, sendo um cereal rico em ácidos graxos insaturados. Além disso, os grãos descartados pelo mercado não apresentam alterações no seu valor nutritivo, podendo ser utilizado na alimentação animal.

A modificação ou substituição de ingrediente da dieta pode alterar características do sêmen, como por exemplo, a proporção de ácidos graxos na fertilidade (KELSO et al., 1996), e dessa forma modificar a fluidez da membrana espermática e conseqüentemente a motilidade e integridade de membrana espermática. Para que o espermatozoide se locomova pelo trato reprodutivo da fêmea, alcance as glândulas hospedeiras e, posteriormente, fecunde o óvulo, é importante que o sêmen possua boa motilidade. O teste de integridade da membrana espermática informa a quantidade de espermatozoides íntegros (vivos) no ejaculado. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da substituição do milho por arroz integral sem casca na motilidade e integridade da membrana espermática.

### **2. METODOLOGIA**

Foram utilizados 24 machos pesados, com idade inicial de 77 semanas, alojados em boxes individuais localizadas no aviário experimental do *Campus Pelotas - Visconde da Graça* – CAVG/IFSul. Os animais foram tratados diariamente, com fornecimento de ração controlada e água individual e a vontade. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (seis galos por tratamento) e cinco repetições (77, 78, 79, 80, 81 semanas). Cada

galo foi considerado uma unidade experimental. Os 24 galos foram distribuídos aleatoriamente nos quatro tratamentos e receberam a dieta experimental por 7 semanas, o sêmen começou a ser analisado após duas semanas, totalizando 5 semanas de análises. O nível de proteína bruta da dieta foi de 17,5% e o de energia, de 2850 kcal/kg. Os tratamentos tinham a mesma composição, exceto pelo milho, que foi substituído por arroz integral sem casca em níveis crescentes: T0%: 100% milho e 0% arroz (controle); T33%: 67% milho e 33% arroz, T67%: 33% milho e 67% arroz e T100%: 0% milho e 100% arroz. O período das coletas foi de 5 semanas. O sêmen foi coletado através de massagem dorso-abdominal. A motilidade foi avaliada subjetivamente ao microscópio. O sêmen foi diluído com NaCl na concentração de 0,9% para obter concentração de  $1 \times 10^7$  esp/ml, sendo classificado como móveis ou imóveis. A integridade de membrana foi medida utilizando-se a coloração dupla SYBR-14 e PI (Live/Dead Sperm Viability Kit, Molecular Probes, OR). No sêmen diluído em NaCl a 0,9% (500  $\mu$ l) foram adicionados 3  $\mu$ l de SYBR-14 e PI (Molecular Probes). Foram avaliados subjetivamente os espermatozoides, categorizados como vivos (corados com SYBR-14) ou mortos (corados com PI). Os dados não apresentaram distribuição normal após a transformação (raiz quadrada). A análise estatística foi realizada pelo programa estatístico Statistix9. A comparação de médias foi realizada pelo método Kruskal-Wallis One-Way, para dados não paramétricos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A motilidade e integridade da membrana espermática não foram influenciadas significativamente ( $p > 0,05$ ) pelos quatro diferentes níveis de substituição do milho pelo arroz integral sem casca, 0%, 33%, 67%, 100%, nas cinco semanas de idade, conforme representa a Tabela 1.

Tabela 1 - Médias e erro padrão do Motilidade e Integridade da membrana espermática em cinco diferentes semanas avaliadas sobre os tratamentos de 0%, 33%, 67% e 100% substituição do milho pelo arroz integral sem casca.

Tratamentos	Idade (Semanas)				
	77	78	79	80	81
	Semanas	Semanas	Semanas	Semanas	Semanas
0%	76,2 $\pm$ 3,7	85,0 $\pm$ 0,0	83,7 $\pm$ 3,1	76,2 $\pm$ 5,5	70,0 $\pm$ 5,5
33%	67,6 $\pm$ 4,7	83,3 $\pm$ 1,6	80,0 $\pm$ 5,0	78,3 $\pm$ 6,0	80,0 $\pm$ 0,0
67%	75,0 $\pm$ 2,8	73,7 $\pm$ 2,4	79,0 $\pm$ 5,1	85,0 $\pm$ 10	73,7 $\pm$ 6,8
100%	78,5 $\pm$ 1,2	87,5 $\pm$ 7,5	65,0 $\pm$ 10,4	86,6 $\pm$ 3,3	73,3 $\pm$ 3,3

  

Tratamentos	Idade (Semanas)				
	77	78	79	80	81
	Semanas	Semanas	Semanas	Semanas	Semanas
0%	82,5 $\pm$ 5,9	55,0 $\pm$ 5,7	*	55,0 $\pm$ 6,1	54,0 $\pm$ 7,8
33%	63,0 $\pm$ 4,6	50,0 $\pm$ 13,2	*	56,7 $\pm$ 14,2	51,2 $\pm$ 12,4
67%	78,8 $\pm$ 7,4	76,2 $\pm$ 3,1	*	80,0 $\pm$ 5,0	55,0 $\pm$ 4,1
100%	81,2 $\pm$ 5,1	80,0 $\pm$ 5,0	*	68,3 $\pm$ 6,6	66,7 $\pm$ 7,2

\* Não foi realizado o teste de integridade de membrana na 79ª semana de idade.

A composição lipídica da membrana do espermatozoide é um importante determinante da motilidade e viabilidade (integridade da membrana) (BAKST E SEXTON, 1979). O teor de ácidos graxos poliinsaturados da dieta pode interferir na motilidade de uma forma positiva, pois pode promover maior fluidez na membrana, permitindo melhor locomoção dos espermatozoides (HAMMERSTEDT, 1993). Apesar de o arroz integral ser rico em ácidos graxos, o seu perfil de ácido linolênico (0,6mg/g) e ácido graxo linoléico (0,1mg/g) (GOMES, 2008), é bastante inferior ao encontrado no milho, 330mg/g de ácido linolênico e 4mg/g de ácido linoléico (ROSTAGNO, 2011); e apesar desta diferença existente entre os ingredientes, não houve influência na motilidade e integridade da membrana espermática.

Os principais ácidos graxos poliinsaturados que afetam na reprodução são os ácidos graxos docosahexanoico (C22:4w6), DHA, e eicosopentanoico (C22:5w3), EPA. O ácido graxo linoléico (C18:3 w3) é precursor do DHA e EPA, sendo convertido à eles através da ação de enzimas (CEPERO, 1998). Apesar de o milho ser composto por mais ácido graxo linolênico (4mg/g) do que o arroz (0,6mg/g) (ROSTAGNO, 2011), esta diferença não teve efeito sobre o teste de penetração espermática, pois o ácido graxo linoléico (C18:3 w3) não chegou a ser convertido o bastante.

#### 4. CONCLUSÕES

Nas condições em foi realizado este trabalho, pode-se considerar que os níveis de substituição do milho pelo arroz integral sem casca em 0%, 33%, 67% e 100%, nas idades entre 77 e 81 semanas, não influenciou na motilidade e integridade da membrana espermática.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

GOMES, M. A. B. **Ácidos Graxos Essenciais  $\Omega$ -3 - (AAL) Ácido  $\alpha$  Linolênico 18:3(n-3), (EPA) Ácido Eicosapentaenóico 20:5(n-3) e (DHA) Ácido Docosahexaenóico 22:6(n-3)**. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá. Maringá/Paraná, Abril 2008.

HAMMERSTEDT, R. H. Maintenance of bioenergetic balance in sperm and prevention of lipid peroxidation: a review of the effect on design of storage preservation systems *Reproduction, Fertility and Development* 5675-690, 1993.

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

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. **Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos**. Tabelas Brasileiras. 252 p. Viçosa: Universitárias, 2011.

BAKST, M.R. and SEXTON, T. J. Fertilizing capacity and ultra structure of fowl and turkey spermatozoa before and after freezing Journal of Reproduction and Fertility 55 1-7, 1979.

STATISTIX 9.0, Analytical Software, PO Box 12185, Tallahassee FL 32317.USA, 2009.