

## Influência de dietas com diferentes níveis de arroz integral sem casca sobre o teste de penetração espermática

\*TB Beck<sup>2</sup>, CO de Oliveira<sup>3</sup>, AT Tavares<sup>3</sup>, GFarina<sup>3</sup>, CL Contreiras<sup>4</sup>, MA Anciuti<sup>5</sup>, J Shafhaüser<sup>6</sup>, DCBongalhardo<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

<sup>2</sup>Mestranda Programa de Pós-Graduação em Zootecnia–UFPel, Rio Grande do Sul, Brasil, Bolsista CAPES. E-mail: tamiris\_beck@hotmail.com

<sup>3</sup>Graduandos em Zootecnia da UFPel, Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>4</sup>Mestranda Programa de Pós-Graduação em Zootecnia –UFPel, Rio Grande do Sul, Brasil

<sup>5</sup>Professor Adjunto – IFSul, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>6</sup>Pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>7</sup>Prof. Associada – UFPel, Rio Grande do Sul, Brasil

**Abstract:** The objective of this work was to evaluate the effects of replacing corn with brown rice (hulled rice) in the sperm penetration test. Twenty four broiler breeders housed in *Campus* Pelotas – Visconde da Graça – CAVG/IFSul experimental aviary were used. A completely random design was used, with four treatments and five repetitions; each rooster was an experimental unity (six by treatment). Diets had the same brute protein (17.5%) and energy (2850 kcal/kg) content, differing only in corn and brown rice amounts: T1 – 100% corn and 0% rice (control); T2 – 67% corn and 33% rice; T3 – 33% corn and 67% rice, and T4 – 0% corn and 100% rice. Five collections were made (from 77 to 81 weeks of age), one by week, using dorso-abdominal massage. Inner perivitelline layers from fresh eggs were isolated, incubated with semen in water-bath, stained with eosin-nigrosin, and photographed under microscope. Holes were counted later, and penetration capacity was expressed as number of sperm holes by mm<sup>3</sup>. Statistical analyses and media comparisons were made by Kruskal-Wallis One-Way ANOVA, for non-parametric data, using the Analytical Software Statistix9. Treatments were not significantly different (p>0.05) in sperm penetration capacity. Broiler breeders can be fed with diets containing brown rice in replacement of corn, at 33%, 67%, or 100% levels, without altering penetration capacity, and probably without affecting fertility.

### Introdução

A disponibilidade do milho, que é um dos principais componentes energéticos utilizados na alimentação de aves, é diminuída pela sua utilização crescente na produção de biocombustíveis e pelo consumo do mesmo na alimentação humana. Além disso, com a grande estiagem que ocorreu nos EUA em 2012, houve um aumento nos preços dos principais insumos, sendo o milho um deles, causando reflexos graves nos custos da produção avícola, gerando uma crise na avicultura brasileira. No entanto, é importante a busca alimentos alternativos a serem incorporados à ração, que sejam economicamente viáveis e atendam às necessidades das aves. O arroz é uma opção de ingrediente alternativo quando sua produção estiver em alta, já que os grãos são descartados pelo mercado quando não apresentam características de cozimento, integridade e translucidez. Estes grãos não apresentam alterações no seu valor nutritivo e podem ser utilizados na alimentação animal. A modificação ou substituição de ingredientes da dieta podem alterar características do sêmen, como por exemplo, a proporção de ácidos graxos na fertilidade (Kelso et al., 2006) membrana espermática podendo alterar a . O arroz integral é rico em ácidos graxos. O seu perfil de ácido linolênico (0,6mg/g) e ácido linoléico (0,1mg/g) (Gomes, 2008), é muito inferior ao encontrado no milho, 330mg/g de ácido linoléico e 4mg/g de linolênico (Rostagno, 2011). A fertilização depende da capacidade dos

espermatozoides de penetrar na membrana perivitelina interna do ovo, é medida pelo número de furos presentes na membrana (Robertson *et al.*, 1997). O teste de penetração espermática é o mais completo e que melhor representa o que acontece *in vivo* na reprodução animal, pois engloba a maioria dos parâmetros utilizados nas análises seminais. Para que ocorra a perfuração da camada perivitelina interna, o sêmen deve apresentar bons resultados nos parâmetros mencionados anteriormente, para manter sua capacidade fecundante. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da substituição do milho por arroz integral sem casca na capacidade de penetração espermática de galos pesados.

### **Material e Métodos**

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 e água individual e *ad libitum*. 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 recebendo as dietas, 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. O teste de penetração espermática foi realizado de acordo com Robertson & Wishart (1997). A membrana perivitelina interna (IPVL) foi separada da membrana perivitelina externa por hidrólise ácida. Após separação, a IPVL foi cortada em quadrados de aproximadamente 0,5 x 0,5 cm e cada quadrado foi incubado, em banho-maria com agitação a 40°C, por 5 minutos com sêmenna concentração final  $1,25 \times 10^7$ . As membranas foram lavadas, com solução salina, para remoção dos espermatozoides. Logo após, foram esticadas em lâminas identificadas, coradas com eosina-nigrosina e fotografadas ao microscópio. A contagem de furos foi feita posteriormente e a capacidade de penetração expressa como número de buracos por  $\text{mm}^2$ . A análise estatística foi realizada pelo programa estatístico Analytical Software Statistix9. Os dados não apresentaram distribuição normal após a transformação (raiz quadrada), por isso a comparação de médias foi realizada pelo método Kruskal-Wallis One-Way, para dados não paramétricos.

### **Resultados e Discussão**

A capacidade de penetração espermática, medida pelo teste de penetração da membrana perivitelina, não foi influenciada significativamente ( $p > 0,05$ ) pelos quatros diferentes níveis de substituição do milho pelo arroz integral sem casca, 0%, 33%, 67%, 100%, nas cinco semanas estudadas, conforme apresenta a Tabela 1.

Os ácidos graxos poliinsaturados precisam ser fornecidos na ração, por serem considerados essenciais, já que o organismo das aves não é capaz de sintetizá-los. Estes tem importância fisiológica para os espermatozoides, pois podem elevar a aptidão à sobrevivência no aparelho reprodutivo da fêmea. Os ácidos graxos são constituintes dos fosfolipídios da membrana biológica dos espermatozoides. Quando a quantidade de ácidos graxos poliinsaturados presente nos espermatozoides é diminuída, a motilidade e capacidade fertilizante que conseqüentemente também será reduzida (Kelso *et al.*, 1996).

Os principais ácidos graxos poliinsaturados que afetam na reprodução são os ácidos graxos docosahexanoico (C22:4w6), DHA, e eicosapentanoico (C22:5w3), EPA, que tem como precursor o ácido graxo linolênico (C18:3 w3). Apesar da

composição do milho e do arroz serem distintas, quanto aos valores de ácido graxo linoleico, no milho 330mg e no arroz 0,1mg; e linolênico, no milho 4mg e arroz 0,6. Esta diferença não surtiu efeito sobre o teste de penetração espermática pois o ácido graxo precursor do DHA e EPA não chegou a ser convertidos o bastante. Diferente do que foi relatado por Kelso. (1997), que ao suplementar com o ácido linolênico, observou um aumento na fertilidade do sêmen de 83 para 97%, nas idades de 39 e 54 semanas.

Tabela 1 – Médias e erro padrão do teste de penetração espermática interna(esp/mm<sup>2</sup>) em cinco diferentes semanas avaliadas sobre os tratamentos de 0%, 33%, 67% e 100% de substituição do milho pelo arroz integral sem casca.

Tratamentos	Idade (Semanas)				
	77 Semanas	78 Semanas	79 Semanas	80 Semanas	81 Semanas
T0%	117,2 ± 83,0	35,0 ± 18,1	08,2 ± 08,2	881,0 ± 861,6	59,0 ± 19,1
T33%	93,1 ± 35,0	337,0 ± 253,0	86,0 ± 46,0	14,3 ± 01,4	61,7 ± 12,9
T67%	58,7 ± 18,8	138,0 ± 96,9	25,6 ± 16,0	22,0 ± 05,0	44,5 ± 05,3
T100%	17,2 ± 10,1	32,00 ± 09,0	16,6 ± 16,6	12,3 ± 06,2	59,3 ± 21,9

### Conclusão

Pode-se considerar que, dentro das condições em que foi realizado este experimento, a substituição do milho pelo arroz integral sem casca, em 33%, 67% e 100%, nas idades entre 70 e 74 semanas, não influenciou significativamente ( $p > 0,05$ ) a capacidade de penetração espermática. Sendo assim, as dietas dos machos podem conter estes níveis de substituição sem que altere a fertilidade do sêmen.

### Referências bibliográficas

- 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 Docosaheptaenóico 22:6(n-3). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá. Maringá/Paraná, Abril 2008.
- KELSO, K.A. et al. Lipid and antioxidant changes in semen of broiler fowl from 25 to 60 weeks of age. **J. Reprod. Fert.**, v. 106, p. 201-206, 1996.
- KELSO, K.A. et al. Effects of dietary supplementation with  $\alpha$ -linolenic acid on the phospholipid fatty acid composition and quality of spermatozoa in cockerel from 24 to 72 weeks of age. **J. Reprod. Fert.**, v. 110, n. 1, p. 53-59, 1997.
- ROBERTSON, L; BROWN, H. L; STAINES, H. J; WISHART, G. J. Characterization and application of an avian in vitro spermatozoa-egg interaction assay using the inner perivitelline layer from laid chicken eggs. **J. Reprod. Fertil**, 110:205–211, 1997.
- 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
- STATISTIX 9.0, Analytical Software, PO Box 12185, Tallahassee FL 32317.USA, 2008.