



Desempenho produtivo e reprodutivo de matrizes de frangos de corte com dietas suplementadas com vitamina E, óleo de soja e óleo de peixe

Productive and reproductive performance of broiler breeders with diets supplemented with vitamin E and soybean and fish oil

A.E. Murakami, T.C Santos¹, J.I.M. Fernandes², A.C. Martinez³, C. Bortoluzzi²

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

²Laboratório de Experimentação Avícola, Universidade Federal do Paraná, Palotina, PR, Brasil.

³Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Maringá, Umuarama, PR, Brasil.

Correspondência: aemurakami@uem.br

Resumo

No experimento, foram avaliados duas fontes de óleo (soja e peixe) e quatro níveis suplementares de vitamina E (0, 150, 250 e 350 mg/kg de ração) em dietas de matrizes de frangos de corte da linhagem Ross, entre a 42ª e a 56ª semana de idade. A adição de óleo de soja teve efeito no peso de ovos, quando não houve inclusão de vitamina E. A suplementação de 215,96 mg de vitamina E/kg de dieta em dietas com óleo de soja aumentou o percentual de postura. A adição de níveis crescentes de vitamina E acima das exigências, independentemente da fonte de óleo utilizada, melhorou a fertilidade. Não houve efeito para peso dos pintos, eclodibilidade, mortalidade e número de espermatozoides na membrana vitelínica ou em valores métricos de testículos.

Palavras-chave: eclodibilidade, fertilidade, matrizes de corte, vitamina E.

Abstract

Two sources of oil (soybean and fish) and four supplemental levels of vitamin E (0, 150, 250 and 350 mg/kg diet) in diets of Ross broilers breeders, between the 42 and 56 weeks of age, were evaluated. The addition of soybean oil had an effect on egg weight, when there was no inclusion of vitamin E. Supplementation of 215.96 mg vitamin E/kg diet in diets with soybean oil increased the laying percentage. The increasing levels of vitamin E above requirements, regardless of source of oil used, improved fertility. There was no effect on chick weight, hatchability, mortality and number of spermatozoids in the vitelline membrane or metric values of testicles.

Keywords: broiler breeders, fertility, hatchability, vitamin E.

Introdução

Em dietas à base de milho e farelo de soja, para matrizes pesadas, normalmente não é necessária a inclusão de óleos ou gorduras nas rações para atender às necessidades energéticas. Entretanto, seu uso poderia trazer outros benefícios, como aumentar o peso do ovo, melhorar a eclodibilidade, interferir no desempenho da progênie e na composição em ácidos graxos da gema, entre outros (Atteh e Lesson, 1984; Brake, 1990).

A utilização de óleo de peixe na dieta de matrizes de frangos de corte permite elevar a concentração de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) da série ômega 3, os quais estão envolvidos com a modulação de processos inflamatórios e imunológicos. O principal problema associado à inclusão de ácidos poli-insaturados n-3 é que estes são propensos à oxidação ou ao ataque de radicais livres e é necessária sua associação com antioxidantes. A vitamina E (vit E) e o selênio são antioxidantes naturais e componentes-chave para reduzir a peroxidação lipídica (Surai et al., 2000). A vit E evita a peroxidação dos PUFA que ocorrem nas membranas celulares e combate os radicais livres formados (Surai, 2002). Além desses fatores nutricionais, a suplementação de vit E melhora a fertilidade, a viabilidade embrionária e a produtividade em aves.

Os embriões de aves precisam de antioxidantes para protegê-los da lesão tecidual causada pelos radicais livres e pela peroxidação lipídica. Para esse fim, antioxidantes lipídicos são adicionados à gema do ovo durante a maturação do ovócito no ovário e esses antioxidantes são oriundos da dieta das matrizes (Surai et al., 1998a, b). O incremento nos níveis de vit E na ração pode levar ao incremento dos níveis de vit E nos ovos embrionados e nos tecidos do embrião, reduzindo a suscetibilidade à peroxidação lipídica (Surai et al., 1999), dessa forma reduzindo também o estresse bioquímico causado durante a incubação pela peroxidação.

Em matrizes Cobb com 46 semanas, foi observado que as aves reduzem a capacidade de incorporar carotenoides, importantes antioxidantes, na gema do ovo, levando a uma significativa redução na coloração da gema (Cherian et al., 2007). Os carotenoides são antioxidantes naturais, como a vit E, e sua diminuição nos ovos deixaria os embriões susceptíveis ao estresse oxidativo, típico da incubação. Sendo assim, a adição de antioxidantes em matrizes velhas deve melhorar essa condição.

A nutrição da matriz afeta também o desempenho dos pintos. Muitos desafios de agentes patogênicos e



vacinais acontecem nos primeiros dias de vida, portanto a exigência da matriz em nutrientes específicos com função imunomoduladora assume um importante papel na transferência de imunidade materna e na resposta imune dos pintos. A suplementação na ração dos pintos com vit E também interfere na resposta imunitária das aves (Erf et al., 1998; Leshchinsky e Klasing, 2001).

Os antioxidantes naturais, incluindo a vitamina E, o selênio e os carotenoides, possuem também um importante papel na reprodução aviária (Freisleben e Packer, 1993). A vitamina E (vit E) melhora a qualidade do sêmen e a habilidade de fertilização em machos, o que previne a peroxidação lipídica das membranas dos espermatozoides (Biswas et al., 2009) e, conseqüentemente, leva a um aumento na concentração espermática, melhora a motilidade, bem como o *status* antioxidante do sêmen, e reduz anormalidades (Eid et al., 2006). Naturalmente encontrada no esperma de galos e perus, a vit E está envolvida na manutenção da integridade e da motilidade espermáticas (Donoghue e Donoghue, 1997), e sua suplementação na dieta de matrizes permite o aumento na *performance* reprodutiva destas.

Neste trabalho, foi testada a hipótese de que a oxidação de diferentes fontes de óleo em dietas de matrizes poderia ser compensada pela ação antioxidante da vitamina E adicionada à ração. Sendo assim, óleos de soja e de peixe foram associados a diferentes níveis de vitamina E, na ração de matrizes, com o objetivo de se analisar a influência dessas variáveis sobre parâmetros produtivos e reprodutivos.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no aviário experimental da Universidade Federal do Paraná - *Campus* Palotina, constituído de 32 boxes com dimensões de 2,5 x 1,5 m, cobertos com maravalha (± 10 cm) sobre o piso. Foram utilizados boxes telados e providos de um bebedouro pendular e de dois comedouros, um para os machos e outro para as fêmeas. Em cada box experimental, foram utilizados ninhos convencionais de um andar, com quatro bocas, de madeira, com dimensões de 1,20 m x 0,30 m x 0,30 m a 0,35 cm acima do nível do piso.

Foram utilizados 416 reprodutores de frangos de corte (384 fêmeas e 32 machos) da linhagem Ross. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2 x 4, com duas fontes de óleo (soja e peixe) e quatro níveis suplementares de vit E (0, 150, 250 e 350 mg/kg de ração), totalizando oito tratamentos e quatro repetições. O período experimental teve início na 42ª semana e foi finalizado na 56ª semana de idade das aves.

O programa de iluminação foi mantido constante com 17 horas de luz diárias. O fornecimento de ração foi limitado e controlado diariamente, de acordo com as recomendações do manual da linhagem, enquanto o de água foi *ad libitum*. As exigências nutricionais utilizadas para a formulação das dietas das fêmeas e dos machos foram baseadas nas recomendações contidas no manual da linhagem. Foram formuladas duas dietas basais, de acordo com a fonte de óleo e os diferentes níveis de vitamina E em substituição ao inerte. O óleo, independentemente da fonte utilizada, foi adicionado em todas as rações experimentais, na quantidade de 1,5% (Tab. 1). Os machos de cada unidade experimental receberam a ração correspondente ao tratamento recebido pelas matrizes.

Foi determinada a produção de ovos diariamente, e na 52ª semana de idade das matrizes, todos os ovos íntegros produzidos em cada repetição foram pesados para avaliação do peso médio do ovo.

Na 51ª semana, foram realizadas duas coletas de ovos de todas as repetições experimentais. Os ovos foram pesados e distribuídos em quatro incubadoras, com capacidade para 120 ovos cada. As incubadoras foram reguladas e monitoradas diariamente, para se manter a temperatura e a umidade relativa em 37,5°C e 55%, respectivamente, até o final da incubação.

Após a eclosão, os ovos não eclodidos foram abertos para se determinar a fertilidade e a mortalidade embrionária e a eclodibilidade, e os pintos nascidos foram pesados e comparados com o peso dos ovos.

Para se identificar o número de espermatozoides na membrana vitelínica, na 50ª semana de idade, foram coletados todos os ovos produzidos em um dia. Os ovos foram identificados e armazenados a 4°C. Os ovos foram quebrados e classificados como férteis ou inférteis, em função da morfologia do disco germinativo (Kosin, 1945; Fig. 1A-B). Dos ovos férteis foram obtidos fragmentos de 1 x 1 cm da membrana vitelínica sobre o disco germinativo (área 1) e no polo oposto a este (área 2). Os fragmentos foram lavados em NaCl 1%, dispostos sobre lâminas de vidro e foram tratados com DAPI (diamidinofenilindole) ($1\mu\text{g mL}^{-1}$ em PBS), recobertos com lamínula e vedados com esmalte de unha (Donoghue e Donoghue, 1997). As lâminas foram analisadas em até 48 horas, em microscópio de fluorescência para luz ultravioleta, em objetiva de 40X (Fig. 1C). Foram analisados cinco campos de microscópio (área total $0,72\text{ mm}^2$) de cada região (disco germinativo e polo oposto) e contados os espermatozoides (sptz), representados em sptz/ mm^2 .

Às 52 semanas de idade, os machos foram abatidos, os testículos coletados, pesados, medidos, e os fragmentos colhidos para análise histológica. Os fragmentos (0,5 cm) foram fixados em Bouin, emblocados em parafina e processados para rotina histológica. Cortes de 5 μm foram analisados em microscópio de luz, corados em hematoxilina e eosina, e foram determinados a altura do epitélio seminífero e o diâmetro dos túbulos seminíferos. As mensurações foram realizadas com o *software* Motic Image Plus 2.0. Em cada galo, foram obtidas 50 medidas de forma aleatória, em diferentes campos e cortes, para cada variável. Apenas túbulos seccionados transversalmente foram considerados.

Tabela 1. Composição percentual e calculada das dietas experimentais das matrizes de corte no período experimental

Ingredientes (%)	Ração postura II
Milho	64,69
Farelo de Trigo	5,03
Fonte de óleo ¹	1,50
Farelo de Soja	19,54
Sal Comum	0,30
Calcário 38%	6,69
Fosfato Bicálcico	1,16
Bicarbonato de Sódio	0,10
DL-Metionina 98%	0,12
Colina 60%	0,16
Carbonato Potássio 99%	0,21
Premix vit. e mineral ²	0,50
Valores Calculados	
Proteína, %	15,00
EM, Kcal/kg	2.800
Gordura, %	3,82
Ác. Linoleico, %	2,00
Cálcio, %	3,00
Fósforo disponível, %	0,42
Lisina dig., %	0,67
Met. + cistina dig., %	0,58
Treonina dig., %	0,50
Arginina dig., %	0,89
Sódio, %	0,18
Cloro, %	0,25
Potássio, %	0,70
Mongin, Meq/100g	187,57

¹ Óleo de soja ou óleo de peixe. ² Conteúdo por kg de premix Vit. A, 8.000.000 UI; Vit. D3, 2.200.000 UI; Vit. E, 6200 mg; Vit. K 3, 2000 mg; Vit. B 1, 2000 mg; Vit. B2, 3000 mg; Vit. B6, 6000 mg; Vit. B12, 10.000 mcg; Pantotenato de cálcio, 6000 mg; Niacina, 25.000 mg; Ác. fólico, 400 mg; Se, 100 mg; Mn, 65.000 mg; Fe, 40.000 mg; Cu, 10.000 mg; Zn, 50.000 mg; I, 1000 mg.

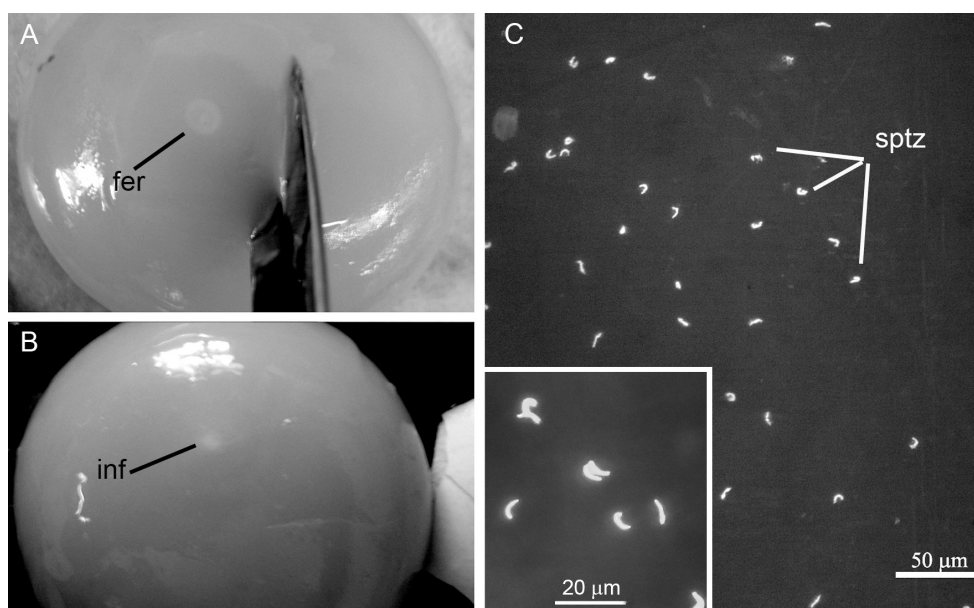


Figura 1. A-B) Fotografia da gema de ovos analisados considerados férteis (fer) ou inférteis (inf) de acordo com a morfologia do disco germinativo. C) Fotomicroscopia de membrana vitelínica de ovo fértil com espermatozoides (sptz) marcados por DAPI. O formato alongado da cabeça dos espermatozoides é evidenciado pela fluorescência.



Análise estatística

Os dados obtidos foram verificados quanto à igualdade de variâncias antes do prosseguimento das demais análises. Uma vez comprovada a normalidade das variáveis, estas foram analisadas pelo procedimento GLM do pacote estatístico SAS, 2000, ao nível de 5% de probabilidade. Aquelas variáveis que não atenderam a normalidade foram submetidas ao método de transformação pelo procedimento RANK do pacote estatístico SAS (2000), sendo posteriormente analisadas pela ANOVA no modo GLM.

Resultados e Discussão

No presente trabalho, foram avaliados os efeitos da suplementação da vitamina E e de diferentes fontes de óleo (soja e peixe) na dieta de matrizes da linhagem Ross sobre as características produtivas e reprodutivas. Os resultados estão apresentados nas Tab. 2 a 4.

Tabela 2. Valores médios de produção de matrizes de corte alimentadas com níveis de vitamina E e diferentes fontes de óleo. Povo (peso do ovo), Postura, Ppinto (peso do pinto), Repe (relação peso do ovo/peso do pinto), Ferti (fertilidade), Eclod (eclobilidade), Mortalidade Ini (inicial), Inter (intermediária) e Final.

	Povo (g)	Postura (%)	Ppinto (g)	Repe	Ferti (%)	Eclod (%)	Mortalidade (%)		
							Ini	Inter	Final
Óleo									
Soja	66,70	61,09	45,65	70,71 ^b	83,08	70,99	3,09	17,28	8,64
Peixe	65,16	59,43	46,26	71,80 ^a	83,33	78,62	3,45	10,34	8,28
Valor P	0,6667	0,7165	0,1142	0,0321	0,9469	0,1764	0,4893	0,1230	0,8430
Vit E									
0	65,99	54,86	46,30	72,59	72,73	71,88	4,69	20,31	4,69
150	65,79	64,68	45,35	70,82	87,90	75,79	3,16	13,68	7,37
250	65,45	63,81	46,07	71,35	80,00	80,88	1,47	7,35	10,29
350	66,47	57,69	46,37	70,68	91,00	68,75	3,75	16,25	11,25
Valor P	0,0149	0,3364	0,3154	0,1846	0,0045	0,1181	0,3638	0,3142	0,2011
Efeito	NS	NS	NS	NS	Linear	NS	NS	NS	NS
Óleo Vit E									
Soja 0	68,00 ^a	49,32	45,27	71,93	81,08	63,33	6,67	26,67	3,33
Soja 150	66,79	68,34	46,00	71,02	85,00	78,43	3,92	15,69	1,96
Soja 250	64,88	64,55	45,50	71,24	75,56	73,53	2,94	8,82	14,71
Soja 350	67,11	62,16	45,48	69,46	88,68	65,96	4,26	19,15	10,64
Efeito	NS	Quadr	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Peixe 0	63,99 ^b	60,39	46,82	72,93	66,67	79,41	2,94	11,76	5,88
Peixe 150	64,80	61,02	44,48	70,56	91,67	72,73	4,55	11,36	11,36
Peixe 250	66,01	63,07	46,52	71,44	85,00	88,24	0,00	8,82	2,94
Peixe 350	65,83	53,23	47,88	72,75	94,29	72,73	3,03	18,18	6,06
Valor P	0,0387	0,4088	0,1371	0,6213	0,1139	0,4932	0,6993	0,9301	0,0621
Efeito	Linear	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
EPM	0,34	2,24	0,26	0,26	1,95	2,60	0,47	1,57	1,18

Médias seguidas de letras desiguais nas colunas, entre as variáveis, diferem significativamente ($P < 0,05$). NS – não significativo.

Linear - Efeito linear significativo ($P < 0,05$). Quadro - Efeito quadrático significativo ($P < 0,05$).

Na Tab. 2, estão apresentados os valores médios de produção de ovos e de incubação de matrizes de corte. De acordo com os resultados, houve interação significativa ($P < 0,05$) entre as fontes de óleo e a suplementação de vitamina E para peso dos ovos. Desdobrando a interação, observou-se que apenas a suplementação de vitamina E em dietas com óleo de peixe afetou o peso dos ovos das matrizes de forma linear crescente ($\hat{Y} = 64,048 + 0,00591x$, $R^2 = 0,73$; Fig. 2). Por outro lado, comparando-se as fontes de óleo dentro de cada nível de vitamina E, houve um aumento no peso dos ovos cujas matrizes receberam óleo de soja na dieta em comparação com óleo de peixe apenas quando não houve suplementação de vitamina E. A adição de níveis de vitamina E além daquele utilizado em dietas convencionais não trouxe benefício ao peso do ovo, independentemente da fonte de óleo utilizada. A adição de óleo de peixe em dietas de matrizes aumenta o peso do ovo se as dietas forem suplementadas por níveis de vitamina E acima daqueles utilizados em dietas convencionais.

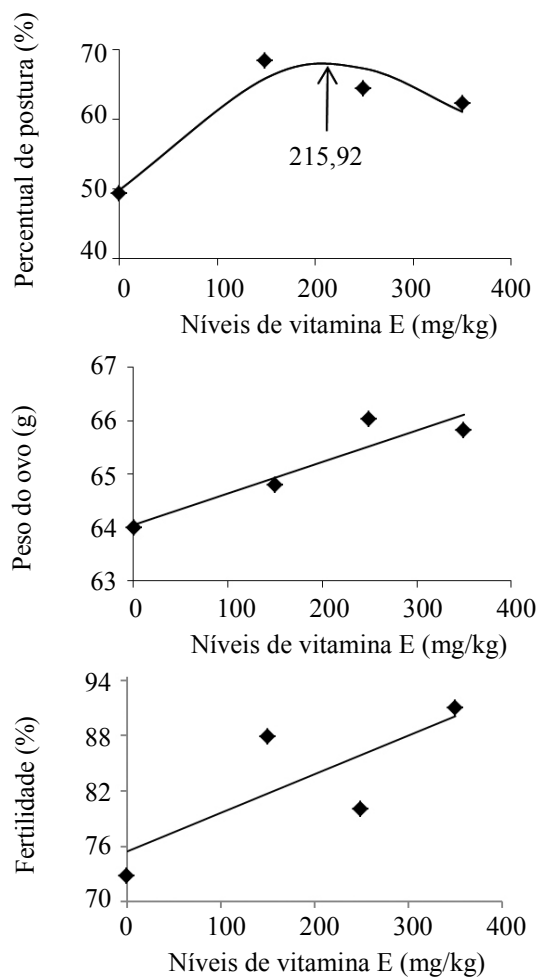


Figura 2. Porcentagem de postura de matrizes de corte e peso do ovo de matrizes de corte alimentadas com rações com óleo de soja, suplementadas com níveis de vitamina E. Percentual de postura = $49,858 + 0,1641x - 0,00038x^2$, $R^2 = 0,92$; Peso do ovo = $64,048 + 0,00591x$, $R^2 = 0,73$; Fertilidade = $75,46124 + 0,04183x$; $R^2 = 0,61$.

Conforme a idade avança nas matrizes, o peso do ovo e o da gema aumentam significativamente (O'Sullivan et al., 1991), no entanto a quantidade de lipídeos não, uma vez que, com a idade, as aves reduzem a capacidade de agregar lipídeos à gema e aumentam os níveis sanguíneos de LDL, HDL e colesterol (Latour et al., 1996). Desta forma, um ovo maior com gema maior não significa um embrião que terá maiores fontes nutricionais durante seu desenvolvimento.

Os embriões de aves caracteristicamente acumulam grandes quantidades de lipídeos poli-insaturados nos seus tecidos, levando a uma predisposição ao estresse oxidativo nos últimos dias da incubação e nas primeiras horas de vida (Noble e Speake, 1997). Para se prevenir o estresse oxidativo e proteger os tecidos, os embriões também acumulam antioxidantes nos seus tecidos, como é o caso da vit E (Surai et al., 1999).

A suplementação de vit E na ração aumenta os níveis de vit E na gema (Kirunda et al., 2001), fornecendo ao embrião uma proteção maior ao estresse oxidativo que ocorre durante a incubação. Cherian et al. (2007) descreveram que modificações na dieta alteraram o perfil lipídico de ovos de galinhas poedeiras que receberam dietas com ácido linoleico ou com óleo de peixe, havendo transferência de ácido graxos para o ovo.

Para a porcentagem de postura, houve interação significativa ($P < 0,05$) entre a fonte de óleo e os níveis de vitamina E. A utilização de níveis crescentes de vitamina E em dietas com óleo de soja alterou de forma quadrática ($\hat{Y} = 49,858 + 0,1641x - 0,00038x^2$, $R^2 = 0,92$) a postura de ovos. O maior percentual de postura foi estimado com suplementação de 215,92 mg/kg de vit E acima do nível utilizado no premix que compõe a ração das matrizes (Fig. 2).

O peso dos pintos não teve influência da fonte de óleo ou da suplementação de vit E neste experimento. Já o peso do pinto em relação ao peso do ovo foi maior ($P < 0,05$) em pintos cujas matrizes receberam óleo de peixe.

A eclodibilidade não teve influência das fontes de óleo ou da suplementação de vit E, assim como a mortalidade durante a incubação. O processo de eclosão é considerado um período de alto estresse oxidativo (Surai,



2002) e, segundo esse princípio, aumentar os níveis de antioxidantes nos tecidos do embrião, via ovo, poderia ter efeito sobre a eclodibilidade. Já foi demonstrado que, além da vit E, ocorre transferência para a gema do ovo de outros antioxidantes como o Se e os carotenoides (Surai et al., 1998b). O efeito sobre a eclodibilidade é mais nítido em aves que sofreram condições estressantes, como, por exemplo, ao consumirem toxinas T-2 (Tobias et al., 1992). No presente trabalho, essa possível característica não teve efeito significativo na eclodibilidade.

Com relação aos parâmetros reprodutivos, a fertilidade foi influenciada de forma linear ($\hat{Y} = 75,461 + 0,0418x$; $R^2 = 0,61$) pelos níveis de vit E, independentemente da fonte de óleo (Tab. 2; Fig. 2). A idade é um fator adverso no sucesso reprodutivo das aves, e em galinhas a relação com o decréscimo na reprodução tem sido muito bem descrita (Robinson et al., 1990). Os principais fatores citados são a redução na produção de ovos associada à provável redução da habilidade de reter espermatozoides nas glândulas da junção uterovagina, local de estocagem dos espermatozoides (Fasenko et al., 1992); o declínio na habilidade de transportar esses espermatozoides para o local de fertilização; e a possível redução no número de receptores para espermatozoides na superfície do oócito (Bramwell et al., 1996).

Essa diminuição na fertilidade em galinhas velhas pode ser contornada, até certo ponto, pelo aumento no número de espermatozoides em inseminações artificiais, por exemplo, ou pelo aumento do número de inseminações por intervalo de tempo (Bramwell e McDaniel, 1986; Brillard, 1993). Já nos galos a redução na fertilidade está associada à redução no número de espermatozoides no ejaculado de volume de sêmen produzido e à redução da habilidade de monta deles (Lake, 1989). Matrizes Cobb que receberam adição de 1,75% de óleo de peixe +1,75% de óleo de fritura apresentaram, nas 46 semanas de vida, eclosão de 98,6% e fertilidade de 80% (Cherian et al., 2008).

Um método para estudar e quantificar a eficiência reprodutiva em aves é estimar o número de espermatozoides que interagem com o oócito, no infundíbulo, como, por exemplo, o número de espermatozoides na membrana vitelínica externa, ou o número de buracos produzidos pelos espermatozoides na membrana vitelínica interna (Wishart, 1987; Hazary et al., 2000).

Analisar a interação do espermatozoide com o ovo e, assim, determinar o número de espermatozoides ou de buracos causados por estes na membrana vitelínica representa uma possibilidade não invasiva de inferir quantos espermatozoides atingiram o local de fertilização no trato reprodutivo da fêmea durante a fecundação, estabelecendo, de forma indireta, a sua capacidade reprodutiva (Wishart e Staines, 1999).

A contagem de espermatozoides na membrana vitelínica de ovos férteis sobre o disco germinativo (área 1) não foi influenciada pelos tratamentos experimentais, já na área oposta houve efeito da fonte de óleo, sendo observados mais espermatozoides nos ovos obtidos dos tratamentos que receberam óleo de peixe (Tab. 3; Fig. 3). A dispersão dos dados em relação às duas regiões vitelínicas observadas demonstrou que os machos que receberam óleo de peixe produziram mais espermatozoides, uma vez que maior quantidade de ovos com mais de 100 spz/mm² foi observada nas membranas vitelínicas dos ovos obtidos de matrizes que receberam dietas formuladas com óleo de peixe (Fig. 3). Esse parâmetro apresenta altíssima fonte de variação, pois os ovos férteis apresentaram, em geral, número mínimo e máximo de spz/mm² para área sobre o disco germinativo de 11 a 152 e de 6 a 497, em ovos de matrizes que receberam ração com óleo de soja e óleo de peixe, respectivamente.

Ovos de galinha podem conter mais de 250.000 espermatozoides na membrana vitelínica, e, em galinhas, o número de espermatozoides presos nessa membrana é cerca de 10x mais que o número de buracos causados pelos espermatozoides (Wishart, 1997). Ovos de peruas e galinhas possuem 50% de chance de serem férteis quando em torno de três espermatozoides penetram na camada perivitelínica interna sobre o disco germinativo e máxima fertilidade quando pelo menos seis espermatozoides penetram nessa região, sendo a fertilidade em galinhas e peruas uma função dos espermatozoides estocados e transportados no oviduto das fêmeas (Wishart, 1997).

O maior número de ovos com maior número de espermatozoides observados nas matrizes alimentadas com óleo de peixe é, provavelmente, resultado do efeito que o óleo de peixe tem sobre a composição da membrana celular. Os espermatozoides de aves são únicos, com uma composição lipídica rica em ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (PUFAs) na fração fosfolipídica da membrana celular (46 a 54,4%). Tais células são altamente suscetíveis à peroxidação. Essa é a razão de nas aves haver a necessidade de agentes antioxidantes para preservação e manutenção da qualidade do sêmen, por exemplo, principalmente quando este é manipulado, como ocorre nas inseminações artificiais (Cerolini et al., 2005). A suplementação na dieta de galos leva ao aumento nas concentrações de vit E no sêmen, no testículo e no fígado (Surai et al., 1997). Apesar das comprovadas ações da vit E nos espermatozoides, no presente trabalho o número de espermatozoides recuperados na membrana vitelínica do ovo não teve influência da suplementação de vit E na ração das matrizes.



Tabela 3. Valores médios de produção e da contagem de espermatozoides nas áreas sobre o disco germinativo (área 1) e na face oposta (área 2) de matrizes de corte alimentadas com níveis de vitamina E e diferentes fontes de óleo no peso do ovo, % de postura e fertilidade.

	Área 1	Área 2	
Óleo			
Soja	67,32	37,63 ^b	
Peixe	120,15	67,57 ^a	
Efeito	NS	*	
Valor P	0,1274	0,0459	
Vit E			
0	47,33	24,71	
150	81,91	56,38	
250	91,89	43,33	
350	71,01	41,30	
Efeito	NS	NS	
Valor P	0,1351	0,8261	
Óleo	Vit E		
Soja	0	47,35	24,71
Soja	150	81,91	56,39
Soja	250	91,89	43,33
Soja	350	53,53	31,56
Efeito	NS	NS	
Peixe	0	118,58	71,24
Peixe	150	99,93	64,20
Peixe	250	198,40	97,45
Peixe	350	89,26	48,57
Efeito	NS	NS	
Valor P	0,3544	0,4792	
EPM	55,21	56,97	

Médias seguidas de letras desiguais nas colunas, entre as variáveis, diferem significativamente ($P < 0,05$). EPM – erro padrão da média. NS – não significativo.

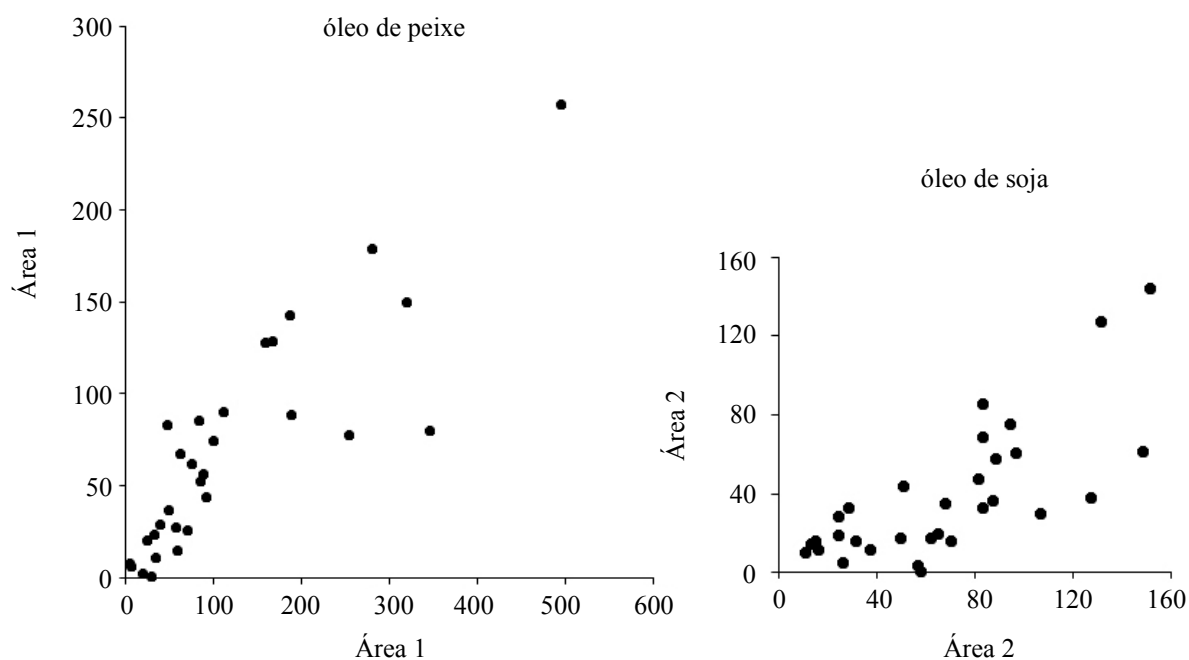


Figura 3. Gráfico de dispersão entre o número de espermatozoides por mm² de membrana vitelínica na área sobre o disco germinativo (Área 1) e na área oposta (Área 2) quando os machos são tratados com diferentes



fontes de óleo (soja e peixe).

A manipulação da dieta causa alterações na composição de PUFAS na membrana dos espermatozoides (Blesbois et al., 1997; Kelso et al., 1997), com efeito direto sobre as variáveis seminais (Cerolini et al., 2005). Embora neste trabalho não tenham sido realizadas análises do sêmen, os resultados de fertilidade demonstram que os machos que receberam incremento nos níveis de vit E na ração apresentaram potencial maior de fertilizar os ovos de suas fêmeas. Esse efeito foi devido à provável ação antioxidante que a vit E teve sobre os PUFAS na membrana celular dos espermatozoides, permitindo que um maior número destes chegasse ao oviduto e fertilizasse o óvulo, bem como um maior número de ovos com grande número de espermatozoides fossem encontrados nos tratamentos com óleo de peixe.

A adição de níveis moderados (150 UI) de vit E na ração melhorou a fertilidade e reduziu as anormalidades dos espermatozoides em codornas (Biswas et al., 2007) e em machos caipiras indianos da raça Kadaknath (Biswas et al., 2009).

Na Tab. 4, estão demonstrados os valores da biometria macro e microscópica dos testículos dos reprodutores alimentados com dietas suplementadas com óleo de soja ou de peixe e vit E. Não houve efeito dos tratamentos para essas características. As médias gerais obtidas foram de 14,44 g de peso e 4,48 cm de comprimento por 2,45 cm de largura, com 14,14 mL³ de volume. Histologicamente, as médias gerais foram de 43,17 µm de altura do epitélio germinativo e 200,57 µm de diâmetro para os túbulos seminíferos.

Tabela 4. Valores médios da biometria dos testículos de matrizes machos alimentados com dietas suplementadas com óleo de soja ou peixe e vitamina E. Alt (altura epitélio germinativo), Diam (diâmetro túbulo seminífero), Comp (comprimento), Larg (largura), Vol (volume) e peso dos testículos direito e esquerdo.

	Alt (µm)	Diam (µm)	Comp (mm)	Larg (mm)	Vol (ml ³)	Peso (g)
Óleo						
Soja	43,72	200,24	45,36	24,17	13,70	13,59
Peixe	43,17	200,57	44,93	24,71	14,27	14,56
Valor P	0,6612	0,9378	0,8348	0,6337	0,7155	0,5388
Vit E						
0	44,60	204,79	45,98	25,35	15,00	14,95
150	42,40	201,37	44,49	23,92	12,75	12,63
250	45,65	194,40	44,70	24,89	15,00	15,57
350	41,60	202,68	45,61	23,84	13,44	13,36
Valor P	0,0872	0,3616	0,9489	0,7428	0,9320	0,9539
EPM	0,64	1,99	0,91	0,51	0,70	0,72

EPM – erro padrão da média.

O peso e o tamanho dos testículos em aves estão diretamente relacionados com a produção de espermatozoides, e quanto maior o órgão maior a produção e a concentração por ejaculado de espermatozoides (Moller e Erritzoe, 1988; Briskie e Montgomerie, 2007). Em geral, há uma relação positiva entre o peso corporal e o peso testicular dos machos de aves, e os testículos podem representar até 1% do peso corporal (Lake, 1981). Os dados apresentados sugerem que as dietas propostas não tiveram interferência sobre essas variáveis, uma vez que não foram observadas diferenças significativas.

Durante o desenvolvimento do experimento, notou-se que, em duas unidades experimentais, os ovos estavam com altíssima infertilidade, coincidentemente nos tratamentos-controle, os quais não receberam suplementação de vitamina E. No final do experimento, durante o abate dos machos, estes apresentaram peso testicular reduzido, com 2,06 e 3,92 g, em média, entre os testículos direito e esquerdo, com evidente degeneração testicular quando comparado à média geral de 13,27 g encontrada nos demais machos. Na análise histológica, a regressão testicular foi nítida, com testículos apresentando epitélio seminífero baixo, com 15,7 µm e 28,5 µm de altura, e túbulos seminíferos com diâmetro reduzido de 115,4 µm e 105,6 µm, respectivamente. Pela evidente redução na atividade testicular nesses machos, os dados de produção dessas unidades experimentais foram desconsiderados no experimento.

Conclusão

A adição de óleo de soja aumentou o peso dos ovos de matrizes de frangos de corte pós-pico, em comparação ao óleo de peixe, apenas quando não houve suplementação acima das exigências de vitamina E. A adição de óleo de peixe aumentou o peso dos ovos quando as dietas foram suplementadas por níveis de vitamina E acima daqueles utilizados em dietas convencionais. A suplementação de 215,96 mg de vitamina E/kg de dieta acima das exigências em dietas formuladas com óleo de soja aumentou o percentual de postura. A adição de níveis crescentes de vitamina E (0 a 350 mg/kg) acima das exigências, independentemente da fonte de óleo



utilizada, melhora a fertilidade. A fonte de óleo e os níveis de vit E não tiveram efeito no peso dos pintos, na eclodibilidade, na mortalidade e no número de espermatozoides que chegaram ao oócito no momento da fertilização ou em valores métricos de testículos em matrizes de corte com até 56 semanas de idade.

Agradecimento

Os autores agradecem o suporte financeiro do CNPq para o desenvolvimento do projeto.

Referências

- Atteh OJ, Lesson S.** Effects of dietary saturated or unsaturated fatty acids and calcium levels on performance and mineral metabolism of broiler chicks. *Poult Sci*, v.63, p.2252-2260, 1984.
- Biswas A, Mohan J, Sastry KVH.** Effect of higher dietary vitamin E concentrations on physical and biochemical characteristics of semen in Kadaknath cockerels. *Br Poult Sci*, v.50, p.733-738, 2009.
- Biswas A, Mohan J, Sastry KVH, Tyagi JS.** Effect of dietary vitamin E on the cloacal gland, foam and semen characteristics of male Japanese quail. *Theriogenology*, v.67, p.259-263, 2007.
- Blesbois E, Lessire M, Grasseau I, Hallouis JM, Hermier D.** Effect of dietary fat on the fatty acid composition and fertilizing ability of fowl semen. *Biol Reprod*, v.56, p.1216-1220, 1997.
- Brake J.** Effect of four levels of added fat on broiler breeder performance. *Poult Sci*, v.69, p.1659-1663, 1990.
- Bramwell RK, McDaniel CD.** Influence of spermatozoa numbers and insemination frequency on fertility in dwarf broiler breeder hens. *Poult Sci*, v.65, p. 2330-2334, 1986.
- Bramwell RK, McDaniel CD, Wilson JL, Howarth B.** Age effect of male and female broiler breeders on sperm penetration of the perivitelline layer overlying the germinal disc. *Poult Sci*, v.75, p.755-762, 1996.
- Brillard JP.** Sperm storage and transport following natural mating and artificial insemination. *Poult Sci*, v.77, p.923-928, 1993.
- Briskie JV, Montgomerie R.** Testis size, sperm size and sperm competition. In: Jamieson BGM (Ed.). *Reproductive biology and phylogeny of birds. Phylogeny, morphology, hormones, fertilization. vol. 6 Part A.* Enfield: Science Publishers, 2007. p.513-552.
- Cerolini S, Surai PF, Speake BK, Sparks NHC.** Dietary fish and evening primrose oil with vitamin E effects on semen variables in cockerels. *Br Poult Sci*, v.46, p.214-222, 2005.
- Cherian G.** Egg Quality and yolk polyunsaturated fatty acid status in relation to broiler breeder hen age and dietary n-3 oils. *Poult Sci*, v.87, p.1131-1137, 2008.
- Cherian G, Traber MG, Goeger MP, Leonard SW.** Conjugated linoleic acid and fish oil in laying hen diets: effects on egg fatty acids, thiobarbituric acid reactive substances, and tocopherols during storage. *Poult Sci*, v.86, p.953-958, 2007.
- Donoghue AM, Donoghue DJ.** Effects of water and lipid soluble antioxidants on turkey sperm viability, membrane integrity and motility during lipid storage. *Poult Sci*, v.76, p.1440-1445, 1997.
- Eid Y, Ebeid T, Younis H.** Vitamin E supplementation reduces dexamethasone-induced oxidative stress in chicken in semen. *Br Poult Sci*, v.47, p.350-356, 2006.
- Erf GF, Bottje WG, Bersi T, Kheadrick, MD, Fritts CA.** Effects of dietary vitamin E on the immune system in broilers: altered proportions of CD4 T Cells in the thymus and spleen. *Poult Sci*, v.77, p.529-537, 1998.
- Fasenko GM, Hardin RT, Robinson FE.** Relationship of hen age and sequence position with fertility, hatchability, viability, and preincubation embryonic development in broiler breeders. *Poult Sci*, v.71, p.1374-1383, 1992.
- Freisleben HJ, Packer J.** Free radical scavenging activities, interactions and recycling of antioxidants. *Biochem Soc Trans*, v.21, p.325-330, 1993.
- Hazary RC, Staines HJ, Wishart GJ.** Assessing the efficiency of mating in broiler breeder flocks by enumerating the spermatozoa which penetrate the inner perivitelline layer over the germinal disc. *Br Poult Sci*, v.41, p.395-400, 2000.
- Kelso AK, Cerolini S, Speake BK, Cavalchini LG, Noble RC.** The effects of dietary supplementation with a -linolenic acid on the phospholipid fatty acid composition and the quality of spermatozoa in the cockerel from 24 to 72 weeks of age. *J Reprod Fertil*, v.110, p.53-59, 1997.
- Kirunda DFK, Scheideler SE, Mckee SR.** The efficacy of vitamin E (DL- α -tocopheryl acetate) supplementation in hen diets to alleviate egg quality deterioration associated with high temperature exposure. *Poult Sci*, v.80, p.1378-1383, 2001.
- Kosin II.** The accuracy of the macroscopic method in identifying unincubated germ discs. *Poult Sci*, v.24, p.281-295, 1945.
- Lake PE.** Male genital organs. In: King, A.S., McLelland, J. (ed.). *Form and function in birds.* v.2, p.1-61, 1981.
- Lake PE.** Recent progress in poultry reproduction. *Worlds Poult Sci J*, v.45, p.53-59, 1989.
- Latour MA, Peebles ED, Boyle CR, Doyle SM, Pansky T, Brake JD.** Effects of breeder hen age and dietary



- fat on embryonic and neonatal broiler serum lipids and glucose. *Poult Sci*, v.75, p.695-701, 1996.
- Leshchinsky TV, Klasing KC.** Relationship between the level of dietary Vitamin E and the immune response of broiler chickens. *Poult Sci*, v.80, p.1590-1599, 2001.
- Møller AP, Erritzøe J.** Badge, body and testes size in house sparrows *Passer domesticus*. *Ornis Scand*, v.19, p.72-73, 1988.
- Noble RC, Speake BK.** Observations on fatty acid uptake and utilization by the avian embryo. *Prenat Neonatal Med*, v.2, p.92-100, 1997.
- O'Sullivan NP, Dunnington EA, Siegel PB.** Relationships among age of dam, egg components, embryo lipid transfer, and hatchability of broiler breeder eggs. *Poult Sci*, v.70, p.2180-2185, 1991.
- Robinson FE, Hardin RT, Robblee AR.** Reproductive senescence in domestic fowl: egg production, sequence length and intersequence pause length. *Br Poult Sci*, v.31, p.871-879, 1990.
- Surai PF.** Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction. Nottingham: Nottingham University Press, 2002.
- Surai P, Ionov I, Kuchmistova E, Noble R, Speake B.** The relationship between the levels of a-tocopherol and carotenoids in the maternal feed, yolk and neonatal tissues: Comparison between the chicken, turkey, duck and goose. *J Sci Food Agric*, v.76, p.593-598, 1998a.
- Surai PF, Ionov IA, Kuklenko TV, Kostjuk IA, Acpheerson AM, Speake BK, Noble RC, Sparks NHC.** Effect of supplementing the hen's diet with vitamin A on the accumulation of vitamins A and E, ascorbic acid and carotenoids in the egg yolk and in the embryonic liver. *Br Poult Sci*, v.39, p.257-263, 1998b.
- Surai PF, Kostjuk IA, Wishart G, Macpherson A, Speake B, Noble RC, Ionov IA, Kutz E.** Effect of vitamin E and selenium of cockerel diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in sperm, testes and liver. *Biol Trace Elem Res*, v.64, p.119-132, 1997.
- Surai PF, Noble RC, Speake BK.** Relationship between vitamin E content and susceptibility to lipid peroxidation in tissues of the newly hatched chick. *Br Poult Sci*, v.40, p.406-410, 1999.
- Surai PF, Noble RC, Sparks NHC, Speake BK.** Dietary supplementation of male chickens with oils rich in arachidonic or docosahexaenoic acids sustains spermatogenesis at 60 weeks of age. *J Reprod Fertil*, v.120, p.257-264, 2000.
- Surai PF, Sparks NHC, Noble RC.** Antioxidant systems of the avian embryo: Tissue-specific accumulation and distribution of vitamin E in the turkey embryo during development. *Br Poult Sci*, v.40, p.458-466, 1999.
- Tobias S, Rajic I, Vanyi A.** Effect of T-2 toxin on egg production and hatchability in laying hens. *Acta Vet Hung*, v.40, p.47-54, 1992.
- Wishart GJ.** Quantitative aspects of sperm:egg interaction in chickens and turkeys. *Anim Reprod Sci*, v.48, p.81-92, 1997.
- Wishart GJ.** Regulation of the length of the fertile period in the domestic fowl by numbers of oviducal spermatozoa. *J Reprod Fertil*, v.80, p.493-498, 1987.
- Wishart GJ, Staines HJ.** Measuring sperm:egg interaction to assess breeding efficiency in chickens and turkeys. *Poult Sci*, v.78, p.428-436, 1999.
-