



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CANTAXANTINA E 25-HIDROXICOLECALCIFEROL  
E SEUS EFEITOS SOBRE OS ASPECTOS  
REPRODUTIVOS DE GALOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Priscila Becker Ferreira**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CANTAXANTINA E 25-HIDROXICOLECALCIFEROL  
E SEUS EFEITOS SOBRE OS ASPECTOS  
REPRODUTIVOS DE GALOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Priscila Becker Ferreira**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2010**

**CANTAXANTINA E 25-HIDROXICOLECALCIFEROL E  
SEUS EFEITOS SOBRE OS ASPECTOS REPRODUTIVOS DE  
GALOS**

**por**

**Priscila Becker Ferreira**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia.**

**Orientador: Prof. Dr. Alexandre Pires Rosa**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2010**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**


A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**CANTAXANTINA E 25-HIDROXICOLECALCIFEROL E SEUS  
EFEITOS SOBRE OS ASPECTOS REPRODUTIVOS DE GALOS**

elaborada por  
**Priscila Becker Ferreira**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Zootecnia**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
**Paulo Roberto Nogara Rorato, Dr. (Presidente)**

  
\_\_\_\_\_  
**Sergio Luiz Vieira, Dr. (UFRGS)**

  
\_\_\_\_\_  
**Marcelo Soares, Dr. (UFSM)**

  
\_\_\_\_\_  
**Geni Salete Pinto de Toledo, Dr.<sup>a</sup> (UFSM)**

Santa Maria, 26 de fevereiro de 2010.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pelo dom que me deste, o dom da vida, e pela oportunidade de estar concluindo mais esta etapa.

Aos meus pais, Luiz Carlos e Maria da Glória, pela vida, pelo amor incondicional, educação, companheirismo, compreensão, confiança, por tudo que conquistei, pois foi graças a vocês. Vocês são meus exemplos e meu maior orgulho. Amo vocês mais que tudo!

Às minhas irmãs Débora e Andréia, por sempre estarem ao meu lado, pela amizade, apoio, conselhos, por dividir comigo os meus sonhos. Amo vocês! Aos meus cunhados, Volnei e Marcelo pela amizade, e ao meu sobrinho Pedro Henrique, por existir nas nossas vidas tornando tudo mais especial. Tu és o amor da tia Pitinha!

Ao André meu namorado pelo companheirismo, pela amizade, ajuda nos trabalhos, motivação, compreensão nos momentos mais difíceis, por festejar comigo nos momentos de conquistas. Obrigada, por tudo que passamos juntos, por ser tão especial para mim. Adoro-te.

Às minhas amigas Juliana e Andréia, pela amizade que começou na graduação e se manteve até os dias de hoje, também ao Renato grande colega e amigo. À vocês, obrigado por todo apoio, parceria em todos os momentos, festas, brincadeiras, comilanças, etc ...

Às amigas Lenise Boemo e Patrícia Ebling por serem tão especiais na minha vida, sei que sempre posso contar com a amizade de vocês. Adoro!

À Universidade Federal de Santa Maria, ao Curso, Departamento e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia por fazer parte da minha formação profissional.

Ao orientador Professor Alexandre Pires Rosa, pelos ensinamentos, pela confiança e pela amizade. Aos co-orientadores Irineo Zanella e João Radünz e aos professores Paulo Rorato e Geni S. P. de Toledo pela colaboração e ensinamentos durante minha formação acadêmica/profissional. À secretária do Programa de Pós-Graduação Olirta pela amizade e ajuda durante o Mestrado.

À DSM Nutritional Products pelo apoio para a realização desse trabalho.

À CAPES, pelo auxílio financeiro com a concessão da bolsa de estudo.

Ao LAVIC, pela estrutura cedida para a condução desse estudo. A todos os estagiários do Laboratório, pelo apoio na condução dos experimentos, e às funcionárias Lourdes Brittes e Carolina Fantinel, pelo apoio e amizade.

Ao prof. Marcelo Soares e aos estagiários do Laboratório de Medicina e Reprodução de Suínos, pela grande colaboração para realização das análises deste trabalho.

Muito obrigada!

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Universidade Federal de Santa Maria

### **CANTAXANTINA E 25-HIDROXICOLECALCIFEROL E SEUS EFEITOS SOBRE OS ASPECTOS REPRODUTIVOS DE GALOS**

AUTORA: Priscila Becker Ferreira

ORIENTADOR: Dr. Alexandre Pires Rosa

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 26 de fevereiro de 2010.

Com o objetivo de avaliar o desempenho e as características seminais de galos da raça White Plymouth Rock, alimentados com dietas contendo Cantaxantina e 25-hidroxicolecalciferol, foi conduzido um experimento no Laboratório de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria. Foram utilizados 80 galos White Plymouth Rock de 40 a 59 semanas de idade. As aves foram submetidas a 4 tratamentos: T1 = dieta controle, T2 = dieta controle + Cantaxantina, T3 = dieta controle + 25-OH-D<sub>3</sub>, T4 = dieta controle + Cantaxantina + 25-OH-D<sub>3</sub>. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos com 20 repetições cada, onde cada ave foi considerada uma repetição. A fase experimental teve duração de 140 dias, a qual foi dividida em 5 períodos de 28 dias para avaliar o desempenho das aves. Os parâmetros avaliados foram: peso corporal e consumo alimentar (mensurados no final de cada período), motilidade, vigor, alterações morfológicas (mensurados duas vezes por período, com intervalo de 14 dias) e concentração espermática. Os dados obtidos foram transformados para o ajuste da normalidade, após foram submetidos à análise de variância, e as diferenças entre tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 10% de significância. O consumo médio de ração durante a fase experimental foi menor em aves que consumiram 25-OH-D<sub>3</sub> em relação as que consumiram cantaxantina e 25-OH-D<sub>3</sub>, mesmo assim não alterou o peso médio das aves nesta fase. A adição de 25-OH-D<sub>3</sub> mais Cantaxantina na dieta melhora significativamente a concentração espermática. As alterações morfológicas do sêmen de galos são reduzidas com a utilização de 25-OH-D<sub>3</sub>, e Cantaxantina e 25-OH-D<sub>3</sub>. Cantaxantina, 25-OH-D<sub>3</sub>, e 25-OH-D<sub>3</sub> mais Cantaxantina, quando adicionados à dieta melhoram a motilidade e o vigor espermático.

**Palavras chaves:** carotenóides, 25-hidroxicolecalciferol, espermatozóides

## **ABSTRACT**

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Universidade Federal de Santa Maria

### **EFFECTS OF CANTHAXANTHIN AND 25-HYDROXYCHOLECALCIFEROL ON REPRODUCTIVE ASPECTS OF MALES ROOSTERS**

**AUTHOR:** Priscila Becker Ferreira

**ADVISER:** Dr. Alexandre Pires Rosa

**Presentation Place and Date:** Santa Maria, 26 February, 2010.

In order to evaluate the performance and seminal characteristics of the White Plymouth Rock roosters, fed with diets containing canthaxanthin and 25-hydroxycholecalciferol (25-OH-D<sub>3</sub>), an experiment was conducted at the Laboratory of Poultry Department of Animal Science at The Federal University of Santa Maria. 80 White Plymouth Rock roosters from 40 to 59 weeks of age were used in this study. Birds were submitted to four treatments: T1 = control diet, T2 = control diet + Canthaxanthin, T3 = control diet + 25-OH-D<sub>3</sub>, T4 = control diet + Canthaxanthin + 25-OH-D<sub>3</sub>. A completely randomized design was used with four treatments with 20 replications of one bird. The experimental phase (140 days) was divided into five periods of 28 days to evaluate the performance of birds. The parameters evaluated were: body weight and food intake (measured at the end of each period), motility, vigor, sperm concentration and morphological anomalies (two times per period, with an interval of 14 days). Data were transformed to adjustment the normality and after they were subjected to analysis of variance. The differences between treatments were compared by Tukey test at 10% significance level. The average feed intake during the experimental period was lower in birds fed 25-OH-D<sub>3</sub> than males fed with canthaxanthin and 25-OH-D<sub>3</sub> diet, but the body weight was similar. The supplementation of 25-OH-D<sub>3</sub> and canthaxanthin in diets improved the sperm concentration significantly. Males fed with diets with 25-OH-D<sub>3</sub> and, Canthaxanthin and 25-OH-D<sub>3</sub> had the lowest level of morphological anomalies in the semen. Canthaxanthin, 25-OH-D<sub>3</sub>, and Canthaxanthin and 25-OH-D<sub>3</sub> when added to the diet improves the sperm motility and vigor of roosters.

**Keywords:** carotenoids, 25-hydroxycholecalciferol, sperm

## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

GRÁFICO 1 - Concentração espermática de galos White Plymouth Rock nos períodos experimentais, da 40ª a 59ª semana de idade.....	45
GRÁFICO 2 - Alterações espermáticas de galos White Plymouth Rock nos períodos experimentais, da 40ª a 59ª semana de idade.....	46



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição centesimal e perfil nutricional dos tratamentos.....	34
TABELA 2 - Quantidade recomendada dos princípios ativos dos produtos adicionados às dietas experimentais.....	34
TABELA 3 - Peso corporal médio (g/ave) de galos White Plymouth Rock ao final de cada período e peso médio total.....	39
TABELA 4 - Consumo de ração total (g/ave/período) de galos White Plymouth Rock nos períodos e consumo médio total.....	40
TABELA 5 - Motilidade espermática (%) dos galos do I ao III período de análise com as duas coletas .....	40
TABELA 6 - Motilidade espermática (%) dos galos do IV ao V período de análise com as duas coletas e a média total .....	41
TABELA 7 - Vigor espermático dos galos do I ao III período de análise com as duas coletas.....	41
TABELA 8 - Vigor espermático dos galos do IV ao V período de análise com as duas coletas e a média total .....	42
TABELA 9 - Concentração espermática (número de células $\times 10^8$ /ml) dos galos do I ao III período de análise com as duas coletas .....	43
TABELA 10 - Concentração espermática (número de células $\times 10^8$ /ml) dos galos do IV ao V período de análise com as duas coletas e a média total .....	43
TABELA 11 - Alterações morfológicas dos espermatozóides (%) dos galos do I ao III período de análise com as duas coletas .....	44
TABELA 12 - Alterações morfológicas dos espermatozóides (%) dos galos do IV ao V período de análise com as duas coletas e a média de total.....	44

## RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

µg e mcg	micrograma (s)
mg	miligrama (s)
g	grama (s)
kg	quilograma (s)
kcal	quilocaloria (s)
µm	Micrômetro (s)
µl	microlitro (s)
mm	milímetro (s)
cm	centímetro (s)
m	metro (s)
ppm	partes por milhão
ppb	partes por bilhão
UI	unidade internacional
%	valor percentual
°C	grau Celsius
PB	proteína bruta
ROS	espécies reativas ao oxigênio
PUFA <sub>s</sub>	ácidos graxos poliinsaturados
MSV	membrana do saco vitelínico

## LISTA DE ANEXOS

ANEXO A - Foto dos galos White Plymouth Rock utilizados no experimento.....	57
ANEXO B - Vista parcial do galpão experimental.....	57
ANEXO C - Vista parcial das unidades experimentais.....	58
ANEXO D - Controle de temperatura ambiente dentro do aviário experimental.....	59
ANEXO E - Gráfico da variação da temperatura ambiental dentro do aviário experimental..	60
ANEXO F - Ave sendo pesada no final de um dos períodos experimentais para obtenção do parâmetro peso corporal.....	61
ANEXO G - Coleta de sêmen.....	62
ANEXO H - Manuseio do ejaculado para análise espermática.....	62

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	15
2.1 Características reprodutivas dos galos.....	15
2.2 Carotenóides .....	21
2.3 Vitamina D e 25-OH-D <sub>3</sub> .....	26
2.4 Cantaxantina e 25-hidroxicolecalciferol.....	30
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1 Local e Período.....	32
3.2 Instalações, Aves e Manejo .....	32
3.3 Tratamentos .....	33
3.4 Parâmetros mensurados .....	35
3.4.1 Peso corporal e consumo alimentar.....	35
3.4.2 Análises espermáticas.....	35
3.4.2.1 Motilidade e vigor espermáticos.....	36
3.4.2.2 Concentração espermática .....	36
3.4.2.3 Morfologia espermática.....	37
3.5 Delineamento experimental.....	37
3.6 Análise estatística .....	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	39
5 CONCLUSÕES .....	47
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	48
7 ANEXOS .....	56

# 1 INTRODUÇÃO

A evolução da avicultura no contexto mundial e a necessidade de abastecimento dos mercados consumidores de proteína de origem animal (carne e ovos) promovem avanços no melhoramento genético, no manejo alimentar e ambiental, na produção avícola, elevando o potencial produtivo das aves. A garantia de alcançar a quantidade necessária de aves para o abate e de aves para a produção de ovos de consumo, depende principalmente das matrizes de linhagens pesadas e matrizes de linhagens leves respectivamente (Soares; Beletti, 2006).

A grande importância das matrizes, para o segmento avícola, pode ser observada pelos índices zootécnicos do segmento, no qual o alojamento acumulado até julho de 2009 foi de 25,642 milhões de matrizes pesadas e 118,133 mil de matrizes de postura de ovos de casca marrom (UBA, 2009). Partindo dessa realidade, as matrizes são exploradas ao máximo em seus recursos reprodutivos.

Apesar da proporção de machos representar apenas 10% em relação à das fêmeas, os machos contribuem com 50% da carga genética do plantel e são fundamentais para a fertilidade. Bongalhardo et al. (1994), estudando as características seminais dos galos, encontraram correlações positiva entre características seminais de galos e fertilidade dos ovos.

Tem-se observado, entretanto, uma queda nos parâmetros reprodutivos nos últimos anos que poderia ser atribuída à falta de atenção ao macho reprodutor, em relação à seleção no que se refere à fertilidade (Celeghini et al., 2001).

A nutrição é um dos fatores que afetam a fertilidade dos galos, além da temperatura ambiente, o fotoperíodo, as patologias e o manejo, sendo que a produção de espermatozoides e a fertilidade são influenciadas pela alimentação, tanto no período de crescimento, quanto no de produção (Etches, 1996). Porém, segundo Danikowski et al. (2002), o manejo nutricional das fêmeas tem recebido maior ênfase, enquanto, que a nutrição dos galos tem sido deixada em segundo plano.

Atualmente, as informações sobre os fatores nutricionais que influenciam o desempenho reprodutivo dos galos, não estão de acordo com a importância dos mesmos no processo reprodutivo (Danikowski et al., 2002). Para tanto, a utilização de aditivos alimentares, advindos da biotecnologia moderna, é primordial, pois podem aumentar a produtividade e/ou reduzir os custos das criações avícolas, onde a alimentação representa cerca de 70% do custo de produção (Araujo, 2005).

Entre os aditivos que estão sendo estudados, estão os carotenóides, pois apresentam funções antioxidantes, pigmentantes, pró-vitamina e imunomoduladoras (Williams et al., 1998). Segundo Bendich; Olson (1989), os carotenóides não são sintetizados pelas aves então devem ser ingeridos através da dieta, e a sua concentração na dieta está relacionada diretamente a sua concentração nos tecidos, associando-se principalmente com os lipídios dos tecidos e células de origem animal, incluindo membranas. Tendo em vista que os fosfolipídios são os principais componentes lipídicos dos espermatozóides, os quais possuem altas quantidades de ácidos graxos poliinsaturados, sugere-se que a composição de lipídios e ácidos graxos dos espermatozóides pode ser um fator determinante das taxas de fertilidade (Martin Rillo et al., 1996).

Estudos buscando fontes alternativas de vitamina D<sub>3</sub> tais como 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e 25-OH-D<sub>3</sub>, vêm sendo realizados, pois, podem estar relacionadas com melhorias do crescimento esquelético das aves, produção de ovos, qualidade de casca e reprodução, já que esta vitamina está diretamente envolvida no equilíbrio de cálcio e fósforo (Smith et al. 2007).

Neste contexto, o trabalho teve como objetivo avaliar dietas contendo Cantaxantina e 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D<sub>3</sub>) sobre o desempenho e as características seminais de galos da raça White Plymouth Rock.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Características reprodutivas dos galos

O sistema reprodutor do galo é basicamente constituído por testículos, epidídimos, vasos deferentes, e falo. Diferentemente do que ocorre em mamíferos, o macho das aves não possui órgãos reprodutores acessórios (Sesti, 2003).

Os testículos são estruturas pares, intracavitárias, localizadas na região cranial do rim e aderidas à parede dorsal do corpo (Sesti, 2003). Correspondem a 1% do peso vivo das aves e apresentam algumas particularidades que os diferenciam dos mamíferos. Eles estão localizados na cavidade abdominal, a uma temperatura entre 41 e 43°C e mesmo assim ocorre a espermatogênese (Sturkie; Opel, 1976).

Nos machos das espécies avícolas, os testículos tem a função dupla de produzir espermatozóides (espermatogênese) e produzir e secretar hormônios esteróides. Os hormônios reprodutivos produzidos pelos testículos são principalmente os andrógenos, sendo a testosterona o mais importante (Sesti; Ito, 2000).

As fêmeas só apresentam o ovário esquerdo funcional, mas nos machos ambos os testículos são funcionais. Os testículos das aves são maiores, em relação ao peso corporal, do que dos mamíferos, sendo o esquerdo de 0,3 a 0,5 g mais pesado que o direito (Etches, 1996).

O desenvolvimento testicular do galo é caracterizado por três fases. A primeira fase é denominada pré-puberal (1 dia de idade a 10/12 semanas) quando ocorre um grande aumento do peso dos testículos, que passam dos 3 mg, ao primeiro dia, a 500 mg com 10 a 12 semanas de idade. Há intensa multiplicação das células de Sertoli. A segunda, chamada fase puberal (12 a 22/24 semanas), caracteriza-se pelo aparecimento dos primeiros espermatozóides nos tecidos, cujo peso aumenta muito rapidamente, de forma exponencial, até alcançar 25 a 30 g, com 22/24 semanas de idade. A terceira fase ou fase adulta, o peso dos testículos permanecem praticamente o mesmo de 24 até 39 semanas, começando então, a decrescer a partir das 40 semanas de idade (Adjanohoun, 1994).

Segundo este autor a produção de espermatozóides atinge seu máximo entre 24 e 30 semanas de idade e, assim, permanecem até aproximadamente 40 semanas e, então, decresce na medida em que os machos envelhecem. A queda de fertilidade com a idade é variável de

um macho para outro, e será retardada ou acelerada por diferentes fatores ambientais e de manejo.

Os testículos estão rodeados de tecido conjuntivo, contendo os tubos seminíferos e as células de Leydig, dispersas entre os espaços tubulares. As células de Leydig são secretoras de andrógenos, sendo o principal a testosterona. Os túbulos seminíferos de galos imaturos são alinhados por uma camada simples de células de Sertoli e espermatogônias. Já os machos maduros possuem túbulos de forma irregular, alinhados por um epitélio germinativo de múltiplas camadas (Bakst; Bahr, 1995).

O epitélio dos túbulos seminíferos também é chamado de epitélio germinativo, pois originará as células germinativas masculinas, que são os espermatozóides. O ciclo desse epitélio compreende a sua proliferação, a qual é seguida de regressão. A proliferação epitelial é também referida como espermatogênese. A espermatogênese é a citodiferenciação sofrida pelas espermátides, para se tornarem espermatozóides (Sesti, 2003).

Na primeira etapa da espermatogênese as espermatogônias que são células diplóides e, portanto, se dividem mitoticamente para manter constante a população de células-tronco da espermatogênese. Estas células dão origem aos espermatócitos, que passam pelo processo de meiose. Resultando em células haplóides, as espermátides, que sofrem uma série progressiva de modificações estruturais e de desenvolvimento, e dão origem aos espermatozóides (espermogênese). As células germinativas em desenvolvimento estão associadas às células de Sertoli, ou células sustentaculares, que as envolvem durante o desenvolvimento. Estas células proporcionam um microambiente preciso para que ocorram as diferenciações celulares durante a espermatogênese (Garner, 2004).

Os vários estágios da espermatogênese em espécies aviárias são de curta duração em comparação com os mamíferos. Enquanto que, o intervalo do início da meiose até a formação completa do espermatozóide é de, aproximadamente, 26 dias no rato e 37 dias no touro, somente, 14 dias são necessários para o galo e o pato, 11 dias para a codorna e 14 dias para a galinha d'angola (Marchand et al. 1997; Amir et al., 1963; Brillard, 1981, apud Maciel, 2006).

Segundo Etches (1996), o número de células de Sertoli presente nos testículos é proporcional ao tamanho e peso dos mesmos e, por isso, a produção diária de sêmen varia com o tamanho testicular. Existe uma correlação direta entre tamanho de testículo e produção de sêmen. Em geral, machos reprodutores de frangos de corte produzem mais sêmen que aqueles reprodutores de poedeiras.

Os galos não possuem vesículas seminais, glândulas bulbouretrais nem próstata. Estreitamente, justaposto a cada testículo, há uma estrutura denominada epidídimo. A região



do epidídimo consiste em tubos eferentes que transportam o esperma desde o testículo até o ducto epididimário, que é visível na superfície do epidídimo (Burke, 1996).

Os epidídimos dos galos não são caracteristicamente enrolados e subdivididos como a maioria dos mamíferos. Os espermatozóides passam dos túbulos seminíferos, através dos túbulos retos, para os ductos eferentes. A partir dos ductos eferentes, os espermatozóides atravessam uma série de ductos conectados e, são, então, transportados para o lúmen dos epidídimos. Em conjunto, estes ductos são denominados de região epididimária (Rutz et al., 2007).

A região epididimária compreende os túbulos retos, ductos eferentes distais e proximais, um túbulo curto de conexão e o ducto do epidídimo (Hess et al., 1976). Em aves, os ductos compõem mais do que 70% da região epididimária, sugerindo que os ductos eferentes representam um componente mais importante da região epididimária (Clulow; Jones, 1988). As principais funções dos ductos eferentes em todas as espécies incluem reabsorção de fluido, transporte, concentração espermática e secreção protéica (Ilio; Hess, 1994).

O ducto do epidídimo abre-se dentro do ducto deferente o qual é o primeiro local de armazenamento de espermatozóides no galo. O ducto deferente é um tubo bastante enrolado, o qual na sua extremidade distal, torna-se reto e dilata-se levemente, passa através da parede da cloaca e termina como extensão semelhante a uma papila que se projeta dentro da cloaca (Rutz et al., 2007). O falo é o órgão copulatório rudimentar do galo, é pequeno e não funciona como órgão para penetração. O sêmen é transferido para a fêmea pelo contato do falo rudimentar e a vagina evertida da fêmea (Burke, 1996).

O sêmen é uma mistura de células espermáticas e líquidos de transporte. Nas aves domésticas, o ejaculado característico tem alta concentração e baixo volume. A concentração do sêmen coletado artificialmente é muito variável, estando às células espermáticas misturadas com líquidos secretados a partir do aparelho fállico ingurgitado e, muitas vezes com resíduos dos sistemas digestivo e urinário. Esses fatores não são facilmente controláveis e, em consequência disso, consideráveis variações no volume e na composição do sêmen têm sido observada (Burke, 1996).

A produção diária de espermatozóides parece ocorrer em ritmo constante, da mesma forma que o volume do ejaculado. Estes parâmetros são reduzidos quando o sêmen é coletado com maior frequência e com o avançar da idade (Etches, 1996)

As características seminais, tais como volume seminal, concentração espermática e motilidade espermática são influenciadas pela idade dos galos, aumentando nas primeiras

semanas reprodutivas até alcançar a maturidade sexual completa e, diminuindo após um período de pico de produção (Cerolini, 1997).

Antes ou durante o alojamento das aves no aviário de produção, as características seminais dos galos de matrizes pesadas podem ser avaliadas. De acordo com Donoghue (1999), os procedimentos de avaliação seminal podem ser uma técnica interessante no manejo dos galos (Hammerstedt, 1996).

Segundo Burke (1996), os espermatozoides das aves são compostos por acrossoma, cabeça, peça intermediária e cauda. Porém, diferente dos mamíferos, a cabeça é estreita e alongada ( $0,5 \times 12 \mu\text{m}$ ), com um pequeno acrossoma cobrindo a extremidade apical do núcleo. Nos galos e perus, o comprimento total do espermatozoide é de cerca de  $10 \mu\text{m}$  e o diâmetro de cauda é de cerca de  $0,5 \mu\text{m}$  ou ligeiramente menor, dando ao espermatozoide uma forma filiforme.

Trabalhos sobre morfologia espermática em galos são bastante escassos e em menor número são aqueles que relacionam esses achados a problemas reprodutivos. As anomalias espermáticas são incompatíveis com a boa fertilidade, qualquer alteração nas características morfológicas pode comprometer a motilidade e a sobrevivência do espermatozoide (Maciel, 2006).

Segundo Correa; Arceo (1995), a percentagem de defeitos espermáticos é maior no início da vida reprodutiva dos galos (16%) e diminui ao alcançar a maturidade sexual (11%). Variações no peso corporal alteram a morfologia espermática, sendo mais evidente em animais com excesso de peso (Jaenisch, 1998).

Moss et al. (1978) afirmam que todas as amostras de sêmen das diferentes espécies animais contem uma proporção de células anormais. Elas podem ser classificadas em anormalidades primárias, originadas durante o desenvolvimento dos espermatozoides no túbulo seminífero e secundárias, que são alterações que ocorrem após a formação completa do espermatozoide, durante a passagem pelo epidídimo.

Muitos estudos têm registrado a ausência de espermatozoides morfologicamente anormais no lúmen das glândulas hospedeiras de espermatozoides, pode ser concluído que existe um mecanismo eficiente na seleção espermática na vagina para eliminar parte da população espermática inicial, criando assim condições para a seleção de uma subpopulação limitada, mas altamente selecionada de espermatozoides (Brillard, 1993).

A quantidade de espermatozoides depositados na vagina das aves excede (em bilhões) o número de células espermáticas necessárias para fertilizar de 1 a 15 oócitos. Pesquisas conduzidas em perus e galináceos demonstraram que somente de 1-2% da população inicial

de espermatozóides alcançam as glândulas hospedeiras da junção útero-vaginal. Destes, aproximadamente 1% (ou 0,0001% da dose utilizada na inseminação artificial) alcançam o infundíbulo (Brillard; Bakst, 1990; Brillard, 1993; Bakst et al., 1994).

Os espermatozóides devem apresentar motilidade e sobreviver no ambiente vaginal para alcançar as glândulas hospedeiras de espermatozóides (criptas que armazenam espermatozóides na galinha durante longos períodos). Este armazenamento assegura a disponibilidade espermática e a probabilidade de fertilização. Após ser liberado das glândulas hospedeiras de espermatozóides e deslocarem para o infundíbulo, os espermatozóides devem ser capazes de se ligar e penetrar na membrana perivitelínica (camada simples não celular que envolve o óvulo) e fertilizar o óvulo. É importante que cada etapa seja bem sucedida para que ocorra o sucesso da fertilização (Rutz et al., 2007).

Estudos iniciais demonstraram que a migração espermática aos sítios de armazenamento é um processo ativo onde a motilidade individual e progressiva é necessária. Assim, espermatozóides mortos ou que não apresentam motilidade não alcançam as glândulas hospedeiras de espermatozóides (Allen; Grigg, 1957).

A motilidade é um dos testes utilizados para avaliar a qualidade do sêmen e tem sido considerada um bom indicador da viabilidade espermática em geral. Porém, deve ser reconhecida como apenas um dos fatores para a estimativa da fertilidade (Gomes, 1970).

Froman; Feltman (1998 apud Maciel, 2006), afirmam que em estudo com galos selecionados para baixa e alta motilidade espermática, observaram que estes últimos produziram sêmen com maior capacidade fertilizante. Bowling et al. (2003), verificaram resultado semelhante, encontrando ainda menor percentagem de anomalias espermáticas em galos com maior motilidade espermática. Lake (1971 apud Maciel, 2006), afirma que a variação média da motilidade espermática em galos está entre 60% e 80%.

Segundo Rutz et al. (2007) os espermatozóides possuem algumas características que devem ser identificadas para avaliação: 1) Devem apresentar motilidade para atravessar a vagina e alcançar as glândulas hospedeiras de espermatozóides; 2) O armazenamento de espermatozóides nas glândulas hospedeiras pode ser quantitativamente avaliado; 3) A capacidade dos mesmos de se ligar à membrana perivitelínica pode ser avaliada *in vitro*. Esta capacidade pode ser avaliada usando um extrato solubilizado da camada perivitelínica da gema para determinar a ligação espermática *in vitro* (Barbato et al., 1998); 4) O número de espermatozóides presentes no local da fertilização no momento da ovulação pode ser estimado.

Segundo Cerolini et al. (1997), os espermatozóides são células especializadas consistindo de várias estruturas de membrana. Suas propriedades físicas e integridade funcional determinam funções fisiológicas importantes, incluindo motilidade e capacidade fertilizante.

Entre os vários nutrientes que exercem efeito sobre a biologia dos espermatozóides estão os lipídeos (Kelso et al., 1997). Existem 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 fosfolipídios são os principais componentes lipídicos dos espermatozóides, caracterizados por conter grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados – PUFAs, o que sugere que a composição de lipídios e ácidos graxos dos espermatozóides pode ser um fator determinante das taxas de fertilidade (Martin Rillo et al., 1996).

Os PUFAs são materiais oxidáveis, por possuírem duplas ligações que formam radicais livres ao se juntarem ao O<sub>2</sub> metabólico, dando origem aos peróxidos. Um dos antioxidantes mais utilizados na membrana é a vitamina E, que neutraliza os radicais livres, evitando assim os danos celulares, que ocasionam desarranjos metabólicos como, por exemplo a inibição de atividades enzimáticas (McDowell, 1989).

Segundo Surai (2002), a composição lipídica do sêmen de aves é um fator determinante na sua qualidade. Espermatozóides de galos apresentam um alto conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados. Bongalhardo et al. (2002) em um estudo constataram que a membrana plasmática da cabeça apresentou menos ácidos graxos poliinsaturados que o corpo espermático. A membrana plasmática da cabeça do espermatozóide contém maior nível de esfingomiélna e fosfatidilserina e menos fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina que a membrana do corpo espermático. No espermatozóide peroxidado, a fluidez diminui e a capacidade de fertilização também (Aitken, 1995).

Sendo o espermatozóide aeróbio, o oxigênio torna-se um elemento essencial para manutenção de suas funções. Porém, este elemento pode ocasionar sérios danos à célula espermática, caso esteja presente em elevadas concentrações, o que ocorre, por exemplo, quando ocorre elevada elaboração de (ROS) espécies reativas ao oxigênio (Ortega, 2003).

Segundo Bilodeau et al. (2002), os espermatozóides e os leucócitos presentes no sêmen são capazes de gerar ROS e que a susceptibilidade do espermatozóide aos danos oxidativos causados pelos ROS decorrem da alta quantidade de ácidos graxos polinsaturados presentes na sua membrana plasmática. Estes ácidos graxos são altamente predispostos ao

ataque dos radicais livres e conseqüentemente, a peroxidação dos lipídios. A acumulação de peróxidos de lipídios na superfície do espermatozóide causa disfunção e morte celular.

Rutz et al. (2007), afirmaram que um sistema antioxidante é crucial para a manutenção da integridade da membrana espermática e para as propriedades fisiológicas, incluindo fluidez de membrana, flexibilidade e permeabilidade necessária para o processo de fertilização. Assim, um sistema antioxidante eficiente é necessário para proteger as membranas espermáticas da ação peroxidativa.

O espermatozóide possui um sistema intracelular de defesa antioxidante contra as ROS, que consiste principalmente, de enzimas como: superóxido dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase e redutase, bem como, antioxidantes não enzimáticos como: ácido ascórbico e a-tocoferol (Aitken, 1995).

Surai (2002), sugeriu um sistema antioxidante para espermatozóides que inclui três níveis de defesa, responsáveis para manter as funções espermáticas em várias condições de estresse. A superóxido dismutase juntamente com a glutathione peroxidase e proteínas carreadoras de metais, compreende a primeira linha de defesa antioxidante, responsável por impedir a formação de radicais livres. Antioxidantes naturais, juntamente com a glutathione peroxidase perfazem a segunda linha de defesa antioxidante que atua na prevenção e neutralização da formação da cadeia e sua propagação. O terceiro nível de defesa é em um sistema enzimático responsável pela reparação e remoção de moléculas lesadas na célula.

Em geral, o sêmen de aves contém vitamina E, vitamina C, glutathione, glutathione peroxidase e a superóxido dismutase. A mitocôndria é responsável pela produção de energia para manter a motilidade espermática. Durante este processo ocorre a formação de radicais livres. Assim, a presença de glutathione peroxidase nesta região auxilia na neutralização de radicais livres, impedindo a peroxidação lipídica e mantendo a qualidade espermática (Rutz et al., 2007).

## **2.2 Carotenóides**

Carotenóides são moléculas orgânicas com funções antioxidantes, pigmentantes, pró-vitamina e imunomoduladoras. Os animais e o homem não são capazes de sintetizar esses pigmentos, mas são capazes de fazer algumas alterações fundamentais para a estrutura química. Tais compostos participam ainda de funções vitais, fazendo parte de pigmentos

estruturais importantes. Vários compostos de fórmulas estruturais isoméricas ou derivados de carotenóides têm a capacidade de serem convertidos em vitamina A (Williams et al., 1998).

Entre características químicas e biológicas dos carotenóides, encontra-se um sistema de duplas ligações conjugadas responsáveis pelo poder corante e, pela ação antioxidante. Apesar disso esse sistema também é responsável pela instabilidade e conseqüente isomerização e oxidação das moléculas de carotenóides durante o processamento e a estocagem do alimento que o contém (Rodrigues-Amaya, 1999).

Os carotenóides são quimicamente definidos como tetraterpenóides  $C_{40}$  (hidrocarbonetos de ocorrência natural e seus derivados), ou seja, união de oito unidades isoprenóides ( $C_5$ ) de cinco átomos de carbono, formando uma cadeia carbônica de quarenta átomos de carbono, exceto a crocetina e a bixina, que possuem menos de quarenta átomos de carbono na cadeia carbônica. A cadeia carbônica de alguns carotenóides apresenta um ou dois anéis  $\beta$ -ionona nas extremidades (Villela, 1976).

As cetonas são carotenóides que possuem grupos carbonilas ligados aos anéis iononas. São exemplos: a equinenona (4-ceto- $\beta$ -caroteno), encontrada em invertebrados marinhos; a cantaxantina (4,4'-diceto- $\beta$ -caroteno), presente em cogumelos; a astacina (3,3',4,4'-tetraceto- $\beta$ -caroteno), responsável pela cor da carcaça de crustáceos (Morais, 2006).

Cada carotenóide possui um padrão individual de absorção, transporte no plasma e metabolismo. Os alimentos que possuem carotenóides, ao serem ingeridos, liberam no estômago através da ação mecânica do trato digestivo na forma de gotículas de gordura. Posteriormente, são emulsificados em gotas menores através de sais biliares. Então os carotenóides são incorporados em micelas compostas de ácidos biliares, ácidos graxos livres, monoglicerídeos e fosfolipídeos que serão absorvidos pelas células da mucosa duodenal por um mecanismo envolvendo a difusão passiva, mecanismo similar ao colesterol. Todos carotenóides, pró-vitâmicos ou não, são incorporados aos quilomícrons e transportados da mucosa intestinal para corrente sanguínea através do sistema linfático. Os carotenóides também podem ser transportados por outras lipoproteínas, como a lipoproteína de alta densidade (VLDL) (Parker, 1996).

Segundo Bendich; Olson (1989), os carotenóides são associados principalmente com os lipídios dos tecidos e células de origem animal, incluindo membranas. Carotenóides não são sintetizados pelas aves então devem ser ingeridos através da dieta, e a sua concentração na dieta está relacionada diretamente a sua concentração nos tecidos. Inúmeras experiências comprovam que um dos fatores influente na deposição de carotenóides é que haja

disponibilidade de grupos funcionais que contenham oxigênio, como hidroxila, acetona, éster ou outros grupos, que apresente características polares.

Dentre os carotenóides mais intensamente oxigenados destacam-se a astaxantina, presente na levedura basidiomiceta róseo-alaranjada *Xanthophyllomyces dendrorhous* e a cantaxantina pigmento das plumas do flamingo, do guará maranhense e do “champignon” *Cantharellus cinnabarinus*. O consumo desses carotenóides está crescendo devido as atividades industriais de aquicultura (“fish farming”) e avicultura (Fontana et al., 2000).

Os carotenóides são eficientes na interação com oxigênio e são igualmente eficazes para neutralizar os radicais livres. No entanto, a atividade antioxidante é altamente dependente do tipo de carotenóide, da sua natureza, a quantidade de oxigênio do meio, e de interação com outros antioxidantes (Rock et al., 1997; Edge et al., 1997).

Por apresentarem propriedades antioxidantes, os carotenóides protegem as células de danos oxidativos provocados por radicais livres (são átomos ou moléculas altamente reativos, contendo um ou mais elétrons desemparelhados nos orbitais externos, que formam um campo magnético e atraem qualquer composto próximo à sua órbita externa) e por espécies reativas de oxigênio (ROS). ROS são moléculas não radicalares derivadas do oxigênio, como peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias, ou na membrana, atacando lipídios, proteínas, carboidratos e DNA (Shami; Moreira, 2004).

A proteção antioxidante é fornecida pelos carotenóides acíclicos, que possuem nove ou mais duplas ligações conjugadas, eles são capaz de retirar do meio espécies altamente reativas de oxigênio (McBride, 1996). A ordem crescente de capacidade de sequestrar o oxigênio singlete por parte dos carotenos e xantofilas é: licopeno, astaxantina ou cantaxantina,  $\beta$ -caroteno ou bixina, luteína e crocina (Fontana et al., 2000).

Alguns estudos sugerem que carotenóides são capazes de funcionar eficazmente como antioxidantes durante a incubação, mesmo na presença de oxigênio atmosférico. Em experimentos com matrizes de corte onde todas as aves foram alimentadas com dietas ricas em vitamina E, foi possível ver que os efeitos antioxidantes podem ser alcançados através de interações entre carotenóides e vitamina E (Edge et al., 1997). O nível de vitamina E no fígado de pintos de um dia foi também significativamente elevado quando as matrizes receberam alta quantidade de carotenóides na dieta. Sendo reflexo das propriedades antioxidantes dos carotenóides, impedindo a depressão de níveis de vitamina E durante períodos de estresse oxidativo, tais como o processo incubação (Surai et al., 1999).

Conforme Meléndez-Martínez et al. (2004), os carotenóides  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, e  $\beta$ -criptoxantina são carotenóides que possuem alta atividade pró-vitamina A, pois apresentam

ao menos um anel ionona no final de sua estrutura. Enquanto isso, a luteína, o licopeno e a cantaxantina tem pouca ou nenhuma atividade pró-vitamina A, pois não apresentam o anel ionona nas suas estruturas químicas.

Segundo Garcia et al. (2002), a pigmentação resulta da deposição de xantofilas (grupo de pigmentos carotenóides) na gema do ovo. As fontes de pigmentos carotenóides podem ser naturais, como por exemplo, as do grupo do milho e do pimentão vermelho, entre outros. Podem ser empregados também carotenóides sintéticos, tais como a cantaxantina 10% (pigmento vermelho) e o etil éster beta apo-8-caroteno (pigmento amarelo). A cantaxantina, que é o carotenóide responsável pela coloração vermelha dos flamingos e de outras espécies de aves, vem sendo muito utilizada na alimentação de aves, buscando aumentar a coloração da carcaça de frangos de corte e da gema dos ovos.

Angeles; Scheideler (1998), comparando duas dietas basais (glúten de milho e farelo de alfafa) com dois níveis de xantofilas (45 e 60 ppm) e duas fontes sintéticas (*carophyll* amarelo e *carophyll* vermelho) durante 8 semanas, observaram diferenças significativas apenas na coloração das gemas sendo que o desempenho não foi influenciado pelo efeito dos tratamentos. Também Baião et al. (1996), avaliando três fontes de pigmentos amarelos e duas fontes de pigmentos vermelhos, observaram efeitos significativos sobre a pigmentação das gemas e não sobre o desempenho.

Os ovos possuem em sua constituição aproximadamente 11% de lipídios, localizados principalmente na gema (33 a 35%). Os lipídios presentes na gema possuem um papel importante no desenvolvimento do embrião, servindo como fonte de energia, ácidos graxos e vitaminas lipossolúveis. Esses lipídios sofrem instaurações adicionais no fígado do embrião para formar ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa (PUFAs). Altas concentrações de PUFAs nas membranas celulares aumentam a susceptibilidade à degradação por peróxidos. Estudos têm sugerido, que os sistemas antioxidativos dos embriões se baseiam na interação de vários antioxidantes, e que os carotenóides são uma parte essencial nesses sistemas. Entre os carotenóides, a cantaxantina se caracteriza pela sua atividade antioxidante relativamente elevada. É facilmente transferida para a gema e distribuída para os tecidos do embrião (Surai, 2003).

Segundo Surai; Speake (1998), o perfil de carotenóides presentes na gema do ovo é altamente dependente do tipo de carotenóides presentes na dieta que foi consumida pela matriz de postura. Mas outros fatores relacionados às galinhas poedeiras, também são importantes determinantes do perfil nutricional da gema, tais como, a eficiência de absorção



dos diferentes carotenóides no intestino e na medida em que os carotenóides são convertidos em vitamina A na mucosa intestinal ou do fígado (Hamilton, 1992).

Uma vez que os carotenóides não são sintetizados pelas aves, eles devem ser absorvidos da dieta, a concentração de carotenóides nos tecidos está relacionada com sua concentração na dieta. Durante o desenvolvimento dos óvulos, xantofilas são depositadas na gema de ovo (Hinton et al., 1974).

Durante a embriogênese, os carotenóides são transferidos a partir da gema para os tecidos em desenvolvimento (Plack, 1963). O embrião das aves desenvolve-se dentro de um sistema fechado, o ovo, que contém todos os nutrientes necessários para os 21 dias do processo de desenvolvimento embrionário (Speake et al., 1998). A gema é rica em lipídios, vitaminas lipossolúveis E e A, e também uma gama de carotenóides (Griffin et al., 1984).

Segundo Noble; Cochi (1990), durante o desenvolvimento embrionário, os lipídios e componentes associados são transferidos a partir da gema à membrana que envolve o saco vitelino (MSV) por fagocitose. Dentro da MSV, os lipídios formam conjuntos com a vitamina E, carotenóides e proteínas para formar partículas de lipoproteínas, que são liberadas na circulação embrionária (Maldjian et al., 1995; Surai et al., 1996).

A ação da lipase lipoprotéica nos capilares do tecido adiposo do embrião e do músculo, gera resíduos de lipoproteínas que consiste principalmente em ésteres de colesterol, mas que também contém vitamina E e carotenóides e são depositados no fígado embrionário. Assim, altos níveis de vitamina E e carotenóides acumulam no fígado, particularmente durante os últimos dias de desenvolvimento do pintainho (Surai et al., 1996). O fígado, portanto, funciona como um local de acúmulo de carotenóides durante a vida embrionária e depois como centro de sua redistribuição deles após a eclosão. Foi demonstrado que para os primeiros 9 dias de desenvolvimento pós-natal a concentração de carotenóides no fígado de galinha, peru, pato e ganso diminuiu aproximadamente 3 vezes, indicando a importância das reservas carotenóides que foram acumulados no fígado durante o desenvolvimento embrionário (Surai et al., 1998).

Quando matrizes de corte foram alimentadas com a dieta suplementada com a luteína, a concentração de carotenóide presente no plasma de frangos de corte foi elevada e esta diferença em relação aos frangos que consumiram o tratamento controle foi mantida por até 5 semanas pós eclosão (Haq et al., 1995). Portanto, a dieta materna determina a concentração de carotenóides no plasma dos pintos durante o desenvolvimento pós-natal.

Vários aspectos da ação do carotenóide podem ser considerados benéficos para o desenvolvimento do embrião. Os carotenóides podem aumentar a capacidade antioxidante

total disponível para o embrião, protegendo assim os tecidos em desenvolvimento dos efeitos prejudiciais de espécies reativas de oxigênio e radicais livres (Sies; Stahl, 2003). Essa proteção é importante, porque vários tecidos do embrião das aves são ricos em lípidos poliinsaturados que são muito suscetíveis a peroxidação (Speake et al., 1998).

As pesquisas atuais sugerem que o embrião de aves tem acesso a um sistema integrado, sendo o sistema antioxidante, os compostos de derivados da gema (por exemplo, a vitamina E, carotenóides, selênio) e de compostos sintetizados pelo embrião (por exemplo, ácido ascórbico, glutatona), resultando em vários componentes agindo em sinergia (Surai, 2002). Carotenóides podem dar grande contribuição a essa ação integrada uma vez que eles são eficazes na captura de radicais livres, especialmente na baixa tensão de oxigênio que prevalecem em tecidos embrionários (Rice-Evans, 1997).

Trabalhando com pintos provenientes de ovos incubados enriquecidos com carotenóides Surai; Speake (1998), observaram uma maior resistência à peroxidação lipídica nos tecidos dessas aves. Também no início da vida das aves os carotenóides, tem papel importante na função imune. Em animais adultos, os carotenóides ajudam a prevenir a infecção por reforçar respostas mediadas por células humorais (Chew; Park, 2004). Sendo um dos papeis dos carotenóides, no desenvolvimento inicial de aves, o melhor desenvolvimento do sistema imune pela alta concentração de carotenóides presentes na bursa após a eclosão. Segundo Koutsos et al. (2003), a capacidade de incorporar os carotenóides dietéticos no timo, plasma e fígado foi bastante danificado em pintos que foram privados de carotenóides durante a vida embrionária.

### **2.3 Vitamina D e 25-OH-D<sub>3</sub>**

Estruturalmente a vitamina D é semelhante a esteróides, por apresentar um núcleo peridrociclopentanofenantreno. Este é composto por quatro anéis (ABCD) fundidos, porém o rompimento da ligação C<sub>9</sub> com C<sub>10</sub> no anel B desta estrutura é o responsável pela classificação da vitamina D como um seco-esteróide (composto que ocorreu a abertura de um anel) sendo, portanto, o diferencial entre hormônios esteróides e calciferóis (Norman, 1987).

A vitamina D<sub>3</sub> é fornecida para animais tanto através da conversão do 7-desidrocolesterol a colecalciferol na pele ou a partir de fontes dietéticas. Uma forma derivada

de vitamina D, tanto sintetizada internamente ou a partir de fontes dietéticas, é metabolicamente ativada no fígado pela hidroxilação na posição 25. Esta representa a forma de vitamina D mais abundante no plasma. O rim é o segundo local onde ocorre hidroxilação. Ele pode ocorrer tanto na posição C-1 para fornecer 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ou no C-24 para produzir 24,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Embora mais de 30 metabólitos de vitamina D tenham sido descritos, a 25-(OH)-D<sub>3</sub>, 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> e 24,25-(OH)-D<sub>3</sub> são considerados os três metabólitos ativos (Norman, 1987).

O 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D<sub>3</sub>) é um composto absorvido mais rapidamente que os outros vitâmeros D (composto com mesma atividade biológica da vitamina), indicando que tenha, possivelmente, um mecanismo de absorção diferenciado. Essa diferenciação tem sido atribuída ao fato de que o 25-OH-D parece utilizar, preferencialmente, o sistema porta e, em menor quantidade, a linfa (Stamp, 1974). Entretanto, outro estudo (Dueland et al., 1983) sugere que toda forma de vitamina D é conduzida na linfa após a absorção, porém de maneira diferenciada, sendo a vitamina D transportada pelos quilomicrons e o 25-OH-D<sub>3</sub> por uma proteína transportadora de ligação própria, que tem uma acentuada afinidade por esse composto. De qualquer forma, sabe-se que o composto 25-OH-D<sub>3</sub> é menos dependente de bile e mais bem absorvido que a vitamina D propriamente (Van den Berg, 1997).

Hormônios como paratormônio, estrógenos e diidroxicolecalciferol coordenam as principais atividades do metabolismo ósseo, com vistas ao seu aumento em diâmetro e comprimento durante o crescimento das aves. Sabe-se que quantidades adequadas de vitamina D são requeridas para crescimento normal, maturação, mineralização e manutenção do tecido ósseo maduro (Anderson; Toverud, 1994).

Essas duas vitaminas (D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>) ao se formarem ainda são inativas, daí a necessidade de ativá-las no fígado e no rim mediante a adição de grupos hidroxila, o que resulta na forma hormonal ativa predominante, ou seja, o 1,25–diidroxicolecalciferol ou calcitriol (Champe et al., 2006). Tanto o colecalciferol como o ergocalciferol após absorção pela mucosa intestinal passam à corrente sanguínea ligados à proteína de transporte. Na forma do complexo proteína-vitamina D, estes princípios vitamínicos são transportados até o fígado.

No fígado o colecalciferol é hidroxilado no carbono 25 pela enzima 25-hidroxilase, dando origem ao 25-hidróxi-D<sub>3</sub> [25-(OH)D<sub>3</sub>], enquanto que o ergosterol evolui para 25-hidróxi-ergocalciferol (25-(OH)D<sub>2</sub>). Essa primeira hidroxilação enzimática é considerada inversamente proporcional à quantidade de pigmento da pele e diretamente proporcional à quantidade de exposição à luz solar. A regulação da hidroxilação é dependente do conteúdo hepático de 25-(OH)D<sub>3</sub>, daí ser considerada como uma forma de vitamina D de significativa

importância, uma vez que sua presença no fígado reflete a respectiva reserva (Baynes; Dominiczak, 2000).

Estes compostos mesmo em concentrações fisiológicas têm pouca atividade biológica, necessitando de uma segunda etapa metabólica para tornarem-se ativos, o produto 25-(OH)D<sub>3</sub> unido à proteína transportadora que tem alta afinidade e especificidade por esse metabólito, a transcalfiferina - uma alfa globulina também sintetizada pelo fígado – é transportado até os rins (Grudtner et al., 1997). Só uma mínima quantidade de 25-(OH)D<sub>3</sub> é encontrada livremente, uma vez que o maior percentual se combina à fração protéica para ser transportada até os rins, onde sofre a segunda hidroxilação, resultando no 1,25-diidroxicolecalciferol [1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>], e 1,25-diidroxiergocalciferol [1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub>].

A vitamina D ingerida necessita ser mantida em suspensão no intestino delgado proximal, para ser absorvida. Por ser lipossolúvel, esta vitamina depende da formação de micelas que resultam da conjugação com os sais biliares para manter-se em suspensão no meio aquoso do lúmen intestinal. Após ser absorvida pela membrana dos enterócitos por difusão simples, é metabolizada e após é transportada através dos quilomícrons no sistema linfático. Após alcançar a corrente sanguínea é incorporada ao fígado, onde é hidroxilada no carbono, culminando com a formação da 25-(OH)D<sub>3</sub> (Bianco et al., 1994). Entretanto, ressalta-se que a maior parte da 25-(OH)D<sub>3</sub> produzida é depositada no tecido adiposo, seu principal reservatório, sendo que a deposição rápida é dependente de limitada regulação.

As ações mais importantes da vitamina D são a regulação e a manutenção dos níveis plasmáticos de cálcio e fósforo, aumentando a captação intestinal, minimizando a perda renal e estimulando a reabsorção óssea, quando necessário. Na célula muscular esquelética, a vitamina D atua através do mecanismo clássico de ligação a um receptor nuclear e de ligação a um receptor de membrana, realizando ações que envolvem o transporte de cálcio, a síntese protéica e a velocidade de contração muscular. Existem várias evidências de que a vitamina D participa de dois aspectos importantes da função neuro-muscular, isto é, a força muscular e o equilíbrio. Especialmente no que se refere à célula muscular esquelética, sabe-se que a vitamina D age através de um receptor específico exercendo ações que envolvem desde a síntese protéica até a cinética de contração muscular (Pedrosa; Castro, 2005).

A vitamina D também pode ter influência em vários tecidos interagindo com genes que modificam a biologia arterial, especialmente em relação à elastogênese, angiogênese e imunomodulação. Níveis adequados de vitamina D são essenciais à saúde cardiovascular, enquanto que os níveis tóxicos podem ter efeitos deletérios à parede artéria (Ziambra; Dagogo-Jack, 1997).

O embrião também metaboliza a vitamina D presente na gema do ovo, utilizando-a para formação do seu esqueleto (Rosa et al., 2009). A importância da vitamina D está associada ao metabolismo do cálcio, e a transferência deste da casca para o embrião. Nem todos os metabólitos de vitamina D produzem respostas consistentes (Surai, 2003).

Soares et al. (1995), afirmam que em aves, a vitamina D<sub>2</sub> apresenta um décimo da atividade da vitamina D<sub>3</sub>, o que segundo Hoy et al. (1988) é devido à maior afinidade das proteínas ligadoras de vitamina D pela forma D<sub>3</sub> em relação à D<sub>2</sub>. A forma ativa da vitamina D<sub>3</sub> apresenta, também, efeitos imunomoduladores que são observados sobre a população de linfócitos, macrófagos e células citotóxicas naturais (*natural killer*), como também sobre a produção e ação das citocinas (Bertolini; Tzanno-Martins, 2000).

As vitaminas podem interagir entre si tanto a nível dietético como metabólico. Este fato merece consideração principalmente a nível dietético. Ainda na década de 30, pesquisadores sugeriram que havia interação entre as vitaminas lipossolúveis A, D e E tanto no homem como em animais. Interações ocorrem entre estas vitaminas lipossolúveis devido a sua característica física de solubilidade lipídica (Ruiz; Harms, 1988). Abawi; Sullivan (1989), evidenciaram uma interação significativa entre as vitaminas A, E e D sobre a concentração de vitamina E no plasma de frangos. Um excesso de vitamina D protege os pintos contra efeitos tóxicos da vitamina A (Veltmann et al., 1986).

Soares et al. (1978) estimaram que 25-(OH)-D<sub>3</sub> é 2,5 a 4,5 vezes mais ativa que a vitamina D pura para pintos. A suplementação de 3 mcg/kg de 1,25-(OH)-D<sub>3</sub> ou 1-(OH)D<sub>3</sub> satisfizeram as exigências de D<sub>3</sub> (Edwards et al., 1992). Baseado em vários estudos com 1,25-(OH)-D<sub>3</sub>, registraram que a 1,25-(OH)-D<sub>3</sub> é um hormônio esteróide, sendo um composto metabolicamente ativo da vitamina D, apresenta atividade 10 vezes superior a da vitamina D<sub>3</sub> na prevenção e cura do raquitismo (DeLuca, 1974).

A absorção e excreção de colecalciferol e 25-(OH)-D<sub>3</sub> é diferente. Bar et al. (1980) registraram que a absorção total de 25-(OH)-D<sub>3</sub> foi significativamente superior (83,6%) a do colecalciferol (66,5%) em pintos.

Edwards et al. (1992), registraram que a vitamina D<sub>3</sub> sintetizada no animal, quando catalisada pela luz ultravioleta, é mais ativa do que a vitamina D<sub>3</sub> administrada oralmente na ração. Possivelmente a eficiência das reações de hidroxilação necessárias para converter colecalciferol para 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> pode ser reduzido com o avançar da idade das poedeiras (Elaroussi et al., 1994).

Estudando frangos de corte e perus, Bar et al. (1980), observaram que a absorção de 25-(OH)-D<sub>3</sub> é mais eficiente quando comparada com vitamina D<sub>3</sub> especialmente na porção

inicial do jejuno. Também observaram a menor secreção do metabólito para a luz intestinal, indicando que aliada à maior taxa de absorção, 25-(OH)-D<sub>3</sub> apresenta maior taxa de retenção pelo organismo.

Haussler; Rasmussen (1972), em experimento com aves, avaliaram que os metabólitos 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> e 25-(OH)-D<sub>3</sub> foram, respectivamente, sete e quatro vezes mais efetivos em relação à vitamina D<sub>3</sub> em promover a reabsorção óssea. E segundo McNutt; Haussler (1972), o reflexo na melhora em ganho de peso, níveis plasmáticos de cálcio e aumento das cinzas dos ossos foram 1,3 – 2,2 vezes mais efetivos com a suplementação de 25-(OH)-D<sub>3</sub> em relação à vitamina D<sub>3</sub>.

#### **2.4 Cantaxantina e 25-hidroxicolecalciferol**

Scher et al. (2009a), estudando a adição de 25-OH-D<sub>3</sub> (69 ppb de principio ativo), Cantaxantina (60 ppm de principio ativo) e 25-OH-D<sub>3</sub> mais Cantaxantina, na dieta de matrizes de corte da linhagem COBB 500<sup>®</sup>. Avaliaram os efeitos desses produtos durante 20 incubações (uma por semana). E verificaram que, as matrizes alimentadas com dietas contendo 25-OH-D<sub>3</sub> e Cantaxantina, apresentaram melhores taxa de eclosão, eclodibilidade e fertilidade, além de contribuir para uma redução do percentual de mortalidade embrionária durante o período avaliado.

Avaliando a taxa de postura, o peso de ovos, o peso de albúmen, o peso de gema, a gravidade específica, e a coloração de gema, de matrizes de corte submetidas à dietas experimentais com adição de 25-OH-D<sub>3</sub>, Cantaxantina, e 25-OH-D<sub>3</sub> e Cantaxantina. Rosa et al. (2009) concluíram que a inclusão de Cantaxantina nas dietas das matrizes influenciou apenas aumentando a pigmentação das gemas.

Utilizando ovos e embriões provenientes de matrizes de corte da linhagem COBB 500<sup>®</sup> submetidas às dietas com adição de Cantaxantina, 25-OH-D<sub>3</sub>, e Cantaxantina e 25-OH-D<sub>3</sub>. Scher et al. (2009b) avaliaram os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs), em relação aos períodos de estocagem dos ovos (0, 4, 8 e 12 dias), e em relação ao processo de incubação, onde no dia zero de incubação foram coletadas as gemas para essa análise, e nos dia 7, 14 e 18 de incubação coletou-se os sacos vitelínicos dos embriões, para a realização das análises. Concluíram que a adição de Cantaxantina e Cantaxantina mais 25-OH-D<sub>3</sub> promoveu uma redução nos níveis de TBARs dos ovos armazenados nos diferentes

períodos, e os embriões provenientes de matrizes suplementadas com Cantaxantina ou Cantaxantina mais 25-OH-D<sub>3</sub>, apresentaram menores quantidades de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico até os 7 dias de incubação.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Local e Período

O experimento com galos White Plymouth Rock foi conduzido no Laboratório de Avicultura (LAVIC) do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). A cidade de Santa Maria está localizada na região central do estado do Rio Grande do Sul.

A fase experimental teve duração de 140 dias, sendo este de 12 de agosto a 30 de dezembro de 2008.

### 3.2 Instalações, Aves e Manejo

No estudo foram utilizados galos reprodutores da raça White Plymouth Rock provenientes do plantel de aves do LAVIC (Anexo A).

Durante as fases de cria e recria todas as aves tiveram as mesmas condições de manejo e foram submetidas às dietas com os mesmos níveis nutricionais, e fornecidas *ad libitum*.

Da 37<sup>a</sup> a 39<sup>a</sup> semana de idade, foi realizada a seleção dos galos que foram utilizados no experimento através da avaliação fenotípica (tamanho de crista e barbela), resposta ao estímulo da massagem abdominal para ejaculação e quantidade de sêmen ejaculado.

Na 40<sup>a</sup> semana de idade iniciou a fase experimental, onde 80 galos previamente selecionados foram pesados e alojados individualmente em gaiolas, e submetidos às dietas experimentais. Foi utilizado um aviário experimental para postura com 210 m<sup>2</sup>, com 80 gaiolas de 0,33x0,60x0,60 m (frente, profundidade e altura) para machos reprodutores, composto de laterais teladas, cortinas e cobertura metálica. Cada gaiola possuía um bebedouro tipo taça, e comedouro do tipo calha (Anexos B e C).



O peso corporal dos galos no início do experimento foi em média de 2936 g. No período experimental a ração fornecida foi previamente pesada e o arraçoamento foi realizado diariamente às 8 horas da manhã, sendo que as aves receberam ração *ad libitum*.

As aves foram submetidas a um programa de iluminação crescente até 17 horas/luz/dia. A temperatura ambiente foi registrada diariamente pela manhã por meio de termômetros de máxima e mínima localizados no interior do galpão (Anexos D e E).

Para análise dos parâmetros reprodutivos realizou-se a coleta de sêmen de todos os galos a cada 14 dias. Para evitar a contaminação do sêmen com excretas, durante a coleta, optou-se por um jejum de 3 horas antes do início da mesma. Dessa forma às 10 horas da manhã os comedouros eram cobertos impedindo o acesso dos galos às dietas. As coletas de sêmen foram realizadas a partir das 13 horas, após a coleta de sêmen os galos voltaram a ter acesso à ração imediatamente.

As análises de motilidade e vigor espermáticos foram realizadas imediatamente após a coleta de sêmen e, para análise de concentração espermática e alterações morfológicas o sêmen coletado, foi armazenado em tubos *Eppendorf*, e posteriormente foi realizada a análise no Laboratório de Medicina e Reprodução de Suínos do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Santa Maria.

### 3.3 Tratamentos

A fase experimental foi compreendida entre o primeiro dia da 40ª semana de idade e o último dia da 59ª semana de idade. Neste período os galos foram submetidos aos tratamentos que consistiram em uma dieta padrão utilizada pelo Laboratório de Avicultura (dieta controle), e a adição de Cantaxantina através da inclusão do produto Carophyll Red<sup>®1</sup> e 25-hidroxicolecalciferol através da inclusão do produto HyD<sup>®2</sup>. A dieta supria as exigências nutricionais das aves, de acordo com a fase de produção seguindo recomendações do *National Research Council* (NRC, 1998), conforme mostra a Tabela 1.

---

<sup>1</sup> Carophyll Red<sup>®</sup> 10% - DSM Nutritional Products Ltd, São Paulo, SP/Brasil.

<sup>2</sup> HyD<sup>®</sup> - DSM Nutritional Products Ltd, São Paulo, SP/Brasil.

**TABELA 1** - Composição centesimal e perfil nutricional dos tratamentos

<b>INGREDIENTES (%)</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
Milho 8,2	64,72	64,72	64,72	64,72
Farelo Soja (45% PB)	23,20	23,20	23,20	23,20
Farelo Trigo	1,41	1,41	1,41	1,41
Calcário	8,62	8,62	8,64	8,62
Fosfato Bicálcico	1,15	1,15	1,15	1,15
Sal	0,40	0,40	0,40	0,40
Premix Vit. e Mineral <sup>1</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50
Carophyll Red <sup>® 2</sup>	0,00	0,10	0,00	0,10
HyD <sup>® 3</sup>	0,00	0,00	0,15	0,15
<b>PERFIL NUTRICIONAL</b>				
Energia metabolizável (kcal/kg)				2850
Proteína bruta (%)				17,50
Fibra bruta (%)				3,00
Cálcio (%)				2,40
Fósforo disponível (%)				0,30

1 - Premix Mineral e Vitamínico: Níveis por Kg de produto: Vit. A 2.090.000 UI; Vit. E 7,600mg; Vit. D<sub>3</sub> 332,500 UI; Vit. K<sub>3</sub> 950mg; Ácido Nicotínico 8,500mg; Vit. B<sub>1</sub> 475mg; Vit. B<sub>12</sub> 3,800mcg; Vit B<sub>2</sub> 1,900mg; Vit B<sub>6</sub> 950mg; Ácido Fólico 237,5mg; Biotina 38mg; Colina 72.000mg; Ácido Pantotênico 3.800mg; Cobre 12.400mg; Ferro 12.000mg; Iodo 160mg; Manganês 14,000mg; Selênio 108mg e Zinco 14,000mg.

2 - Cantaxantina 10% (4,4'-diceto-β-caroteno).

3 - 25-hidroxivitaminaD<sub>3</sub> 1,25%

Os tratamentos foram: T1= dieta controle, T2= dieta controle + Cantaxantina, T3= dieta controle +25-OH-D<sub>3</sub> e T4 = dieta controle + Cantaxantina + 25-OH-D<sub>3</sub>, os produtos utilizados foram adicionados na dieta conforme recomendação do fabricante (Tabela 2).

**TABELA 2** - Quantidade recomendada dos princípios ativos dos produtos adicionados às dietas experimentais

<b>Tratamentos</b>	<b>Cantaxantina (ppm)</b>	<b>25-OH-D<sub>3</sub> (ppb)</b>
1	0	0
2	60	0
3	0	69
4	60	69

### 3.4 Parâmetros mensurados

Para avaliar o desempenho das aves subdividiu-se a fase experimental em 5 períodos de estudo com 28 dias cada, que foram: período I – 40<sup>a</sup> a 43<sup>a</sup> semanas de idade, período II – 44<sup>a</sup> a 47<sup>a</sup> semanas de idade, período III – 48<sup>a</sup> a 51<sup>a</sup> semanas de idade, período IV – 52<sup>a</sup> a 55<sup>a</sup> semanas de idade e período V- 56<sup>a</sup> a 59<sup>a</sup> semanas de idade.

Os parâmetros de peso corporal e consumo alimentar foram analisados no final de cada período. Para avaliar os parâmetros espermáticos foram realizadas duas coletas de sêmen por período, sendo realizadas na segunda e na quarta semana de cada período (intervalo de 14 dias).

#### 3.4.1 Peso corporal e consumo alimentar

Para análise de peso corporal, foi realizada a pesagem individual dos galos no último dia de cada período, a pesagem foi realizada pelas asas, em balança do tipo analógica (Anexo F).

O consumo alimentar dos galos foi mensurado através da pesagem da ração fornecida individualmente, e a pesagem das sobras foi realizada no último dia de cada período. Pela diferença entre a ração fornecida às aves e as sobras, obteve-se a quantidade de ração consumida por galo em cada período.

#### 3.4.2 Análises espermáticas

Os parâmetros seminais foram analisados a cada 14 dias, sendo realizada a coleta de sêmen de todos os galos no 4<sup>o</sup> dia das seguintes semanas de idade das aves: 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59. As coletas de sêmen foram realizadas pelo método de massagem abdominal começando após as 13h (Anexo G), para tal o macho foi contido pelos membros

inferiores e o peito apoiado em superfície macia sobre a gaiola conforme método descrito por Rosa et al. (1995).

O sêmen foi coletado em tubos tipo *Falcon* graduados, previamente aquecidos em “banho Maria” a 40°C, para estimar os parâmetros espermáticos referentes à motilidade, vigor, alterações morfológicas e concentração espermática (Anexo H).

#### 3.4.2.1 Motilidade e vigor espermáticos

Para avaliação de motilidade e vigor espermático, o sêmen recém coletado foi pipetado sobre uma lâmina histológica e recoberto por lamínula. Em seguida foi realizada análise em microscópio óptico, com aumento de 40x (quarenta vezes). Todo material analisado foi mantido em placa aquecida a 40°C.

A motilidade foi avaliada comparando-se a percentagem de espermatozóides móveis e imóveis, registrando a percentagem de espermatozóides móveis. A técnica utilizada para análise de motilidade espermática foi a mesma descrita por Rodenas et al. (2005). O vigor espermático foi classificado através de escore de 0 a 5, como sugere Celeghini et al. (2001), sendo o escore 0 equivalente a imobilidade espermática total e, o 5 à movimentação intensa, vigorosa, progressiva e com formação de ondas.

#### 3.4.2.2 Concentração espermática

Para análise de concentração espermática foram armazenadas amostras de 10µl de sêmen e adicionado a 1 ml de solução de formol citrato em tubos *Eppendorf*. Para determinação da concentração espermática o sêmen foi diluído na proporção de 1:100 em formol citrato e posteriormente foi realizada a contagem de células das amostras com o uso de hemocitometro (Câmara de *Neubauer*) na diagonal com o resultado expresso em número de células por mm<sup>3</sup> de sêmen. Para análise final o resultado foi expresso em número de células/ml.

### 3.4.2.3 Morfologia espermática

Para análise das alterações morfológicas foram armazenadas amostras de 10  $\mu$ l de sêmen e adicionado a 1 ml de solução de formol citrato em tubos *Eppendorf*.

Para avaliação das anormalidades dos espermatozóides, as amostras foram diluídas na mesma proporção utilizada para avaliar a concentração espermática (1:100), posteriormente analisadas em microscópio de contraste de fase, com aumento de 1000x (mil vezes), onde realizou-se a contagem de 100 células, expressando as alterações morfológicas em porcentagem. As alterações morfológicas consideradas foram de cabeça, cauda e gota proximal, sendo determinadas apenas as alterações morfológicas totais.

## 3.5 Delineamento experimental

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos com 20 repetições cada, onde cada ave foi considerada uma repetição.

## 3.6 Análise estatística

Primeiramente os dados foram submetidos ao teste de Normalidade, posteriormente para ajuste da normalidade foram testadas as seguintes transformações: logaritmo na base 10 de X, arcoseno de X/100, raiz de X e raiz de X + 0,5. Após foram eleitas as transformações que melhor se adequaram para o ajuste das variáveis, apresentando menor coeficiente de variação. Para a análise dos parâmetros peso corporal, consumo de ração, alterações morfológicas e concentração espermática, optou-se à transformação para ajuste da normalidade com logaritmo na base 10 de X. Para as análises dos parâmetros motilidade e vigor espermáticos, optou-se à transformação para ajuste da normalidade com raiz de X.

Após o ajuste dos dados os resultados foram submetidos à análise de variância de acordo com o modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}, \text{ sendo:}$$

$Y_{ij}$  = observação das aves submetidas ao tratamento  $i$ , na repetição  $j$ ;

$\mu$  = média;

$\tau_i$  = efeito dos tratamentos, sendo  $i = 1, 2, 3, 4$ ;

$e_{ij}$  = erro experimental não observável;

As diferenças entre tratamentos foram comparadas através do Teste de Tukey quando as diferenças foram significativas ao nível de 10%. Os procedimentos estatísticos foram realizados com o uso do programa estatístico SAS (2001).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso corporal dos galos White Plymouth Rock avaliados neste trabalho não apresentaram diferença significativa entre os diferentes tratamentos na fase experimental total. Entretanto na 51<sup>a</sup> e 55<sup>a</sup> semana de idade, as aves que consumiram Cantaxantina ou Cantaxantina e 25-OH-D<sub>3</sub> na dieta apresentaram um maior peso corporal em relação as que consumiram dieta contendo 25-OH-D<sub>3</sub> (Tabela 3). Resultado diferente do obtido por McNutt; Haussler (1973), em um experimento onde trabalharam com adição dos metabólitos 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e 25(OH)D<sub>3</sub> na dieta, e verificaram um melhor ganho de peso em aves que consumiram 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e 25(OH)D<sub>3</sub> em relação as que consumiram vitamina D convencional.

**TABELA 3** - Peso corporal médio (g/ave) de galos White Plymouth Rock ao final de cada período e peso médio total

Tratamentos	Semana					Média
	43 <sup>a</sup>	47 <sup>a</sup>	51 <sup>a</sup>	55 <sup>a</sup>	59 <sup>a</sup>	
Controle	2900	2953	2895 ab	2991 ab	3082	2952
Cantaxantina	2967	3003	2984 ab	3058 ab	3073	3008
25-OH-D <sub>3</sub>	2850	2870	2849 b	2946 b	3040	2911
Cantaxantina+ 25-OH-D <sub>3</sub>	2933	2948	3018 a	3079 a	3119	3012
Média	2913	2944	2936	3018	3078	2970
CV %	0,79	0,93	0,85	0,69	0,96	0,75
P	0,2092	0,2361	0,0335	0,0558	0,7462	0,2136

Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo Teste de Tukey (P< 0,1)

Os resultados de peso corporal podem ser relacionados ao consumo de ração das aves (Tabela 4), onde observa-se a mesma tendência dos efeitos dos tratamentos a partir do segundo período de análise.

O consumo médio de ração da fase total do experimento, apresentado na Tabela 4, foi influenciado pelos tratamentos, havendo um menor consumo de ração pelos galos que consumiram dietas com adição de 25-OH-D<sub>3</sub> em relação aos que consumiram dietas com adição de Cantaxantina e 25-OH-D<sub>3</sub>.

**TABELA 4** - Consumo de ração (g/ave/período) de galos White Plymouth Rock nos períodos e consumo médio total

Tratamentos	Períodos					Média
	I	II	III	IV	V	
Controle	3005	2956 ab	2981 b	3002 b	3021	2998 ab
Cantaxantina	3071	3090 a	3170 ab	3263 a	3059	3132 ab
25-OH-D <sub>3</sub>	2937	2884 b	2988 b	3058 ab	3009	2975 b
Cantaxantina+ 25-OH-D <sub>3</sub>	3103	3062 ab	3229 a	3213 ab	3148	3151 a
Média	3029	2998	3092	3134	3059	3064
CV %	1,03	1,11	1,28	1,30	1,62	1,03
P	0,1399	0,0659	0,0324	0,0519	0,6309	0,0704

Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo Teste de Tukey (P< 0,1)

A motilidade espermática é um dos parâmetros utilizados para avaliar a qualidade do sêmen, considerado um bom indicador da viabilidade espermática e da capacidade fertilizante dos espermatozoides (Gomes, 1970 apud Maciel, 2006). Nesse experimento, pode-se observar que na maioria dos períodos de análise, os tratamentos tiveram influencia sobre a motilidade espermática (%) dos galos (Tabelas 5 e 6). O tratamento controle foi inferior aos demais tratamentos nestes períodos, e no estudo da fase experimental total confirma-se essa tendência, onde o tratamento controle mostra-se inferior com P=0,0003.

**TABELA 5** - Motilidade espermática (%) dos galos do I ao III período de análise com as duas coletas

Tratamentos	Períodos					
	I		II		III	
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>
Controle	90,25	91,00 b	90,00	89,00 b	91,75	91,25 b
Cantaxantina	92,50	92,00 ab	90,25	91,50 ab	92,50	92,50 ab
25-OH-D <sub>3</sub>	90,75	93,25 ab	91,50	92,25 a	92,75	93,50 a
Cantaxantina+ 25-OH-D <sub>3</sub>	89,25	93,50 a	91,25	92,00 ab	93,25	93,25 ab
Médias	90,69	92,44	90,75	91,19	92,56	92,62
CV %	2,73	1,68	2,72	2,29	1,56	1,51
P	0,2106	0,0459	0,7272	0,0552	0,4211	0,0587

Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo Teste de Tukey (P< 0,1)



**TABELA 6** - Motilidade espermática (%) dos galos do IV ao V período de análise com as duas coletas e a média total

Tratamentos	Períodos				
	IV		V		I – V
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	Média
Controle	92,50 b	91,00	92,50	91,50	91,40 b
Cantaxantina	93,00 ab	91,25	92,75	93,75	92,50 a
25-OH-D <sub>3</sub>	94,25 a	91,25	93,50	94,25	93,05 a
Cantaxantina+ 25-OH-D <sub>3</sub>	93,75 ab	91,25	93,25	94,25	92,80 a
Médias	93,38	91,19	93,00	93,44	92,44
CV %	1,24	1,55	1,61	2,83	0,66
P	0,0859	0,9902	0,6979	0,2258	0,0003

Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo Teste de Tukey (P< 0,1)

A variação média normal da taxa de motilidade em galos encontra-se entre 60% a 80% (Lake, 1971 citado por Garner, 2004). Porém as médias observadas neste experimento foram superiores.

Os resultados de vigor espermático (0 a 5) dos galos estão apresentados nas Tabelas 7 e 8, onde observa-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos nos períodos de avaliação. Entretanto na análise da Tabela 8, verifica-se que o vigor espermático foi influenciado pelos tratamentos, na fase experimental total, onde os tratamentos com adição de Cantaxantina, 25-OH-D<sub>3</sub>, e Cantaxantina e 25-OH-D<sub>3</sub> mostraram-se superior ao tratamento controle com P=0,0827.

**TABELA 7** - Vigor espermático dos galos do I ao III período de análise com as duas coletas

Tratamentos	Períodos					
	I		II		III	
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>
Controle	4,71	4,35	4,50	4,38	4,28	4,35
Cantaxantina	4,65	4,47	4,57	4,65	4,61	4,61
25-OH-D <sub>3</sub>	4,40	4,75	4,59	4,65	4,68	4,40
Cantaxantina+ 25-OH-D <sub>3</sub>	5,00	4,00	5,00	5,00	4,00	5,00
Média	4,69	4,39	4,67	4,67	4,39	4,59
CV %	6,46	7,00	6,72	6,52	7,94	5,58
P	0,3723	0,2390	0,8532	0,3748	0,2624	0,2724

**TABELA 8** - Vigor espermático dos galos do IV ao V período de análise com as duas coletas e a média total

Tratamentos	Períodos				
	IV		V		I – V
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	Média
Controle	4,32	4,24	4,38	4,37	4,38 b
Cantaxantina	4,53	4,31	4,61	4,53	4,56 a
25-OH-D <sub>3</sub>	4,53	4,21	4,44	4,40	4,55 a
Cantaxantina+ 25-OH-D <sub>3</sub>	5,00	4,00	5,00	4,00	4,57 a
Média	4,60	4,19	4,61	4,33	4,51
CV %	7,77	7,16	7,49	9,48	2,94
P	0,5588	0,9403	0,5933	0,9207	0,0827

Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $P < 0,1$ )

Bar et al. (1980), observaram que a absorção de 25-(OH)-D<sub>3</sub> é mais eficiente quando comparada com vitamina D<sub>3</sub> convencional. Levando em consideração que a composição de lipídios e ácidos graxos dos espermatozóides pode ser correlacionada com as taxas de fertilidade (Martin Rillo et al., 1996), pois nos espermatozóides quando ocorre a peroxidação lipídica, a fluidez e a capacidade de fertilização diminuem (Aitken, 1995). Os carotenóides são moléculas orgânicas com funções antioxidantes que os animais não são capazes de sintetizar, então devem ser ingeridos através da dieta (Edge et al., 1997). Pode-se relacionar a melhor motilidade e vigor espermático ao fator antioxidante do carotenóide adicionado à dieta evitando a peroxidação dos lipídios presentes na estrutura dos espermatozóides, assim como a maior disponibilidade de vitamina D através do metabólito 25-(OH)-D<sub>3</sub>.

Galos com motilidade espermática alta produzem sêmen com maior capacidade fertilizante (Froman; Feltman, 1998 apud Maciel, 2006), pois, há necessidade da motilidade juntamente com o vigor progressivo dos espermatozóides para a migração até os sítios de armazenamento de espermatozóides do sistema reprodutivo da fêmea (Allen; Grigg, 1957). Neste estudo apresentaram melhor motilidade e vigor espermático, os galos que consumiram dietas com Cantaxantina, 25-(OH)-D<sub>3</sub>, e Cantaxantina mais 25-(OH)-D<sub>3</sub>, podendo isso ser um fator contribuinte para o melhor poder de fecundação dos espermatozóides dessas aves.

A concentração do sêmen coletado artificialmente é muito variável, pois existe dificuldade de controlar os fatores que influenciam como os líquidos do sistema digestivo e urinário, que se misturam com o sêmen no aparelho fático (Burke, 1996).

Nesse experimento observou uma interação progressiva ao passar dos períodos entre os efeitos causados pela adição de Cantaxantina e 25-OH-D<sub>3</sub> à dieta, promovendo uma melhora na concentração espermática dos galos submetidos a essa dieta (Tabela 9 e 10).

**TABELA 9** - Concentração espermática (número de células x10<sup>8</sup>/ml) dos galos do I ao III período de análise com as duas coletas

Tratamentos	Períodos					
	I		II		III	
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>
Controle	4,69	4,00 b	4,67 c	3,94 c	4,61 c	5,79 b
Cantaxantina	4,82	4,31 ab	5,06 bc	5,05 b	5,02 bc	5,83 b
25-OH-D <sub>3</sub>	4,43	4,73 a	5,51 ab	5,43 b	5,65 ab	7,52 a
Cantaxantina+ 25-OH-D <sub>3</sub>	4,65	5,02 a	6,29 a	6,19 a	6,17 a	7,60 a
Média	4,65	4,52	5,38	5,15	5,36	6,69
CV %	4,37	3,71	3,56	2,56	2,57	2,46
P	0,7855	0,0034	0,0007	0,0001	0,0001	0,0001

Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo Teste de Tukey (P< 0,1)

Na Tabela 10, mostra que na média de todos os períodos experimentais o tratamento controle foi inferior, seguido pelo tratamento com Cantaxantina, 25-OH-D<sub>3</sub>, e o tratamento Cantaxantina e 25-OH-D<sub>3</sub>, o qual mostrou-se superior aos demais evidenciando a interação positiva que ocorreu entre os dois compostos (P=0,0001).

**TABELA 10** - Concentração espermática (número de células x10<sup>8</sup>/ml) dos galos do IV ao V período de análise com as duas coletas e a média dos períodos

Tratamentos	Períodos				
	IV		V		I – V
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	Média
Controle	3,00 c	5,99 c	4,61 d	2,65 b	4,40 d
Cantaxantina	3,84 b	6,46 b	5,30 c	2,84 b	4,85 c
25-OH-D <sub>3</sub>	4,49 a	6,42 b	6,20 b	3,53 a	5,40 b
Cantaxantina+ 25-OH-D <sub>3</sub>	4,75 a	7,50 a	7,22 a	3,66 a	5,91 a
Média	4,02	6,59	5,83	3,17	5,14
CV %	2,09	1,45	2,18	3,56	1,04
P	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo Teste de Duncan (P< 0,1)

Na literatura não há relatos sobre o aumento da concentração espermática de galos com a suplementação de vitamina D na dieta, mas trabalhos realizados com suínos suplementados com a vitamina E lipossolúvel, onde afirmam que a concentração espermática aumenta com a suplementação na dieta de suínos (Brezezinska-Slebodzinska et al., 1995).

Nas Tabelas 11 e 12 estão os resultados de alterações morfológicas totais, onde observa-se, que os galos submetidos à dieta contendo 25-OH-D<sub>3</sub> e Cantaxantina mais 25-OH-D<sub>3</sub>, tiveram redução significativa (P=0,0001) nas alterações morfológicas dos espermatozóides.

**TABELA 11** - Alterações morfológicas dos espermatozóides (%) dos galos do I ao III período de análise com as duas coletas

Tratamentos	Períodos					
	I		II		III	
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>
Controle	25,6	28,3 a	23,7 a	13,1 a	18,2 a	24,3 a
Cantaxantina	28,2	24,4 b	19,2 b	12,5 a	16,1 b	18,3 b
25-OH-D <sub>3</sub>	24,9	20,5 c	17,2 bc	10,3 b	12,0 c	16,3 c
Cantaxantina+ 25-OH-D <sub>3</sub>	25,1	19,1 c	16,4 c	12,6 a	13,0 c	17,5 bc
Média	25,9	23,1	19,1	12,1	14,8	19,1
CV %	4,78	3,60	6,91	5,37	5,87	5,52
P	0,3841	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo Teste de Tukey (P< 0,1)

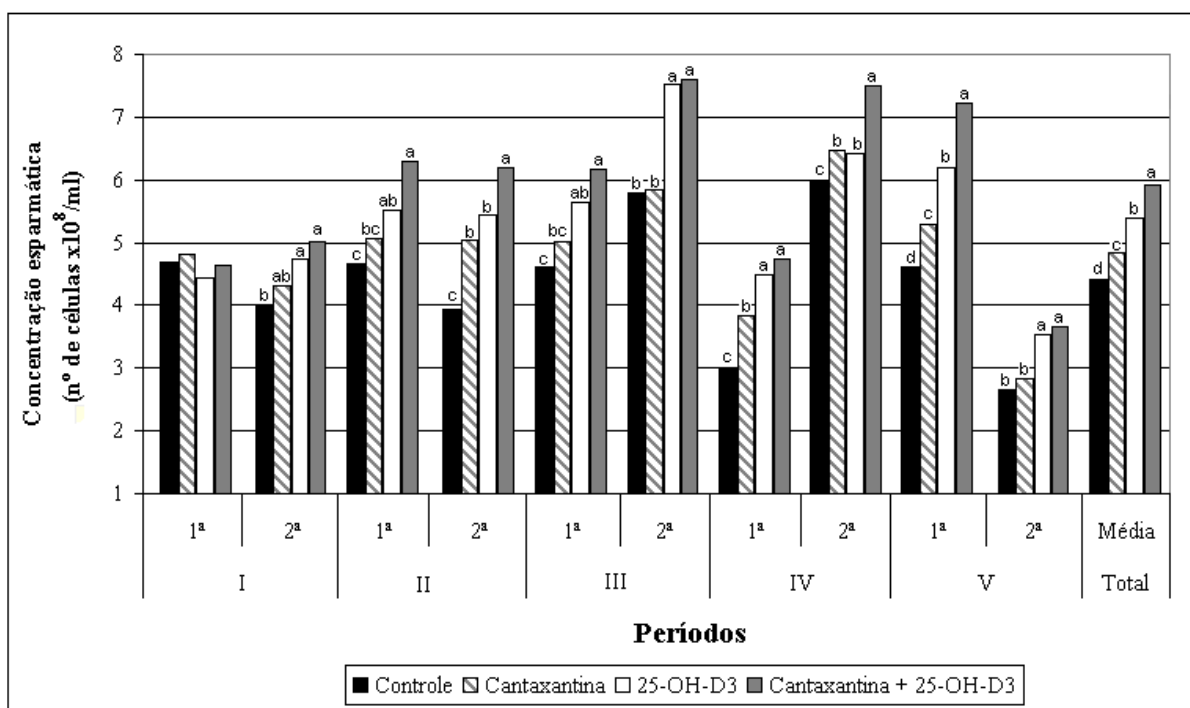
**TABELA 12** - Alterações morfológicas dos espermatozóides (%) dos galos do IV ao V período de análise com as duas coletas e a média de todos períodos

Tratamentos	Períodos				
	IV		V		I – V
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	Média
Controle	19,3 a	21,4 a	19,4 a	25,6 a	21,9 a
Cantaxantina	16,1 b	19,9 ab	17,2 ab	24,6 a	19,6 b
25-OH-D <sub>3</sub>	13,8 c	18,8 b	14,3 c	12,5 c	16,1 c
Cantaxantina+ 25-OH-D <sub>3</sub>	15,0 bc	18,7 b	15,6 bc	13,7 b	16,7 c
Média	16,0	19,7	16,6	19,1	18,6
CV %	4,53	4,21	6,67	4,01	1,84
P	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

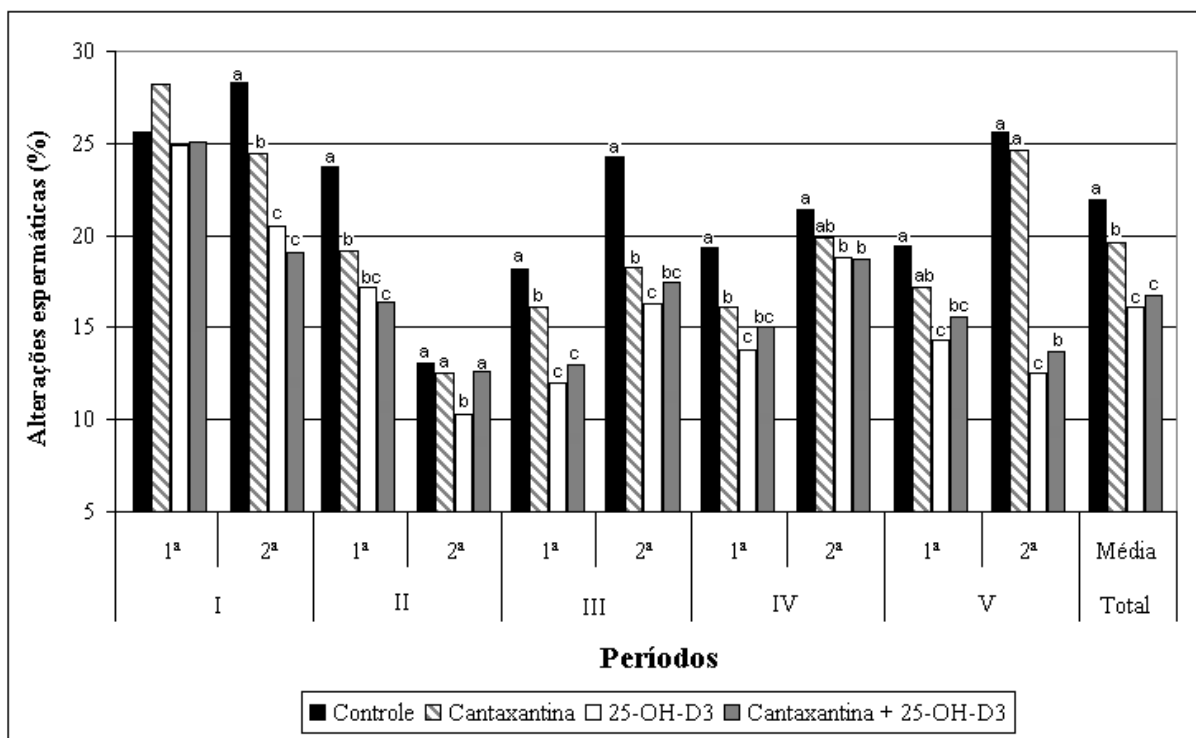
Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si pelo Teste de Tukey (P< 0,1)

Maciel (2006), afirma que as anomalias espermáticas são incompatíveis com a boa fertilidade, pois qualquer alteração pode comprometer a motilidade e sobrevivência do espermatozóide. O limite de até 20% de defeitos espermáticos totais é aceitável para uma boa fertilidade. No trabalho realizado, as percentagens de anomalias morfológicas na fase experimental total estão dentro do aceitável para uma boa fertilidade, exceto do sêmen de galos que consumiram o tratamento controle (Surai; Wishart, 1996).

No Gráfico 1, pode-se observar que na média total da fase experimental, o tratamento Cantaxantina e 25-OH-D<sub>3</sub> atribuiu uma melhor concentração espermática aos galos que o consumiram. No Gráfico 2, pode-se observar que a adição de 25-OH-D<sub>3</sub> e Cantaxantina mais 25-OH-D<sub>3</sub>, melhoram a qualidade de sêmen. Sendo que a redução das alterações morfológicas e a maior concentração espermática contribuem para maior fertilidade dos galos, pode-se afirmar que estes resultados concordam com os obtidos por Scher et al. (2009a), que trabalhando com matrizes de corte (machos e fêmeas), alimentados com dietas contendo Cantaxantina, 25-(OH)-D<sub>3</sub>, e Cantaxantina e 25-(OH)-D<sub>3</sub>, e comparando-as com uma dieta controle (sem os produtos), verificaram melhores taxas de fertilidade de aves que consumiram Cantaxantina e 25-(OH)-D<sub>3</sub> simultaneamente.



**Gráfico 1** - Concentração espermática de galos White Plymouth Rock nos períodos experimentais, da 40ª a 59ª semana de idade.



**Gráfico 2** - Alterações espermáticas de galos White Plymouth Rock nos períodos experimentais, da 40ª a 59ª semana de idade.

Os melhores índices observados em alterações morfológicas e concentração espermática devem-se, possivelmente aos fatores antioxidantes dos produtos adicionados à dieta juntamente com a interação que ocorre entre as vitaminas lipossolúveis A, D e E no metabolismo dos animais (Ruiz; Harms, 1988), as quais estão com maior disponibilidade no tratamento Cantaxantina e 25-(OH)-D<sub>3</sub>. Esses fatores podem proporcionar uma redução nos efeitos degenerativos do ROS, composto este, que os espermatozoides e os leucócitos presentes no sêmen são capazes de gerar, pois há grande quantidade de ácidos graxos poliinsaturados presente na composição dos espermatozoides, o que aumenta a possibilidade de ataque dos radicais livres e conseqüentemente, a peroxidação dos lipídios, podendo levar à morte celular (Aitken, 1995).

## 5 CONCLUSÕES

Cantaxantina e 25-OH-D<sub>3</sub> quando adicionados à dieta associados ou isoladamente melhoram a motilidade (%) e o vigor (0 a 5) espermático de galos reprodutores.

Dietas contendo 25-OH-D<sub>3</sub> e Cantaxantina melhoram a concentração espermática (nº de células x10<sup>8</sup>/ml) dos galos.

A utilização de 25-OH-D<sub>3</sub> e Cantaxantina mais 25-OH-D<sub>3</sub> reduz significativamente incidência de alterações morfológicas dos espermatozoides de galos White Plymouth Rock.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAWI, F. G.; SULLIVAN T. W. Interaction of vitamins A, D<sub>3</sub>, E and K in the diet of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 68, p. 1490-1498, 1989.

ADJANOHOON, E. Fertilidade relacionada aos machos. In: \_\_\_\_\_. **Fisiologia da reprodução de aves**. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1994. cap. 8, p. 107-115.

AITKEN, R. J. Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. In: \_\_\_\_\_. **Reproction, fertily and development**. [S.l.: s.n.], 1995. v. 7, p. 659-668.

ALLEN, T. E.; GRIGG, G. W. Sperm transport in the fowl. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 8, p. 788-789, 1957.

ANDERSON, J. J. B.; TOVERUD, S. U. Diet and vitamin D: a review an emphasis on human function. **Journal Nutritional Biochemistry**, v. 5, n. 2, p. 58-65, 1994.

ANGELES, M.; SCHEIDELER, S. Effect of diet, level, and source of xantophyll on hen performance and egg yolk pigmentation. PSA98. Annual Meeting Abstracts Pinnstater Conference Center. (August 2-5), In: **Official Journal of the Poultry Science Association**, v. 77, p. 1-18, 1998.

ARAUJO, D. M. **Avaliação do farelo de trigo e enzimas exógenas na alimentação de frangas e poedeiras**. 2005. 66 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2005.

BAIÃO, N. C. et al. Influence of type and source of xanthophylls and level of use on yolk pigmentation. Poultry Science Association 85th Annual Meeting. (July 8-12) In: **Official Journal of the Poultry Science Association**, Louisville, Kentucky, p. 1-84, 1996.

BAKST, M. R.; WISAHRT, G.; BRILLARD, J. P. Oviductal sperm selection, transport and storage in poultry. **Poultry Science**, v. 5, p. 117-143, 1994.

\_\_\_\_\_; BAHR, J. M. Ciclos reprodutivos: aves domésticas. In: HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 6. ed. São Paulo: Manole, 1995. p. 390-470.

BAR, A. et al. Absorption and excretion of cholecalciferol and of 25-hydroxycholecalciferol and metabolites in bird. **Journal Nutrition**, Rehovot, Israel, v. 110, p. 1930-1934, 1980.

BARBATO, G. F.; CRAMER, P. G.; HAMMERSTEDT, R. H. A practical in vitro sperm-egg binding assay, which detects subfertile males. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 58, p. 686-699, 1998.

BAYNES, J.; DOMINICZAK, M. H. Homesotasia da glucose e metabolismo energético. **Bioquímica Médica**. São Paulo: Manole, 2000. p. 243-266.



BENDICH, A.; OLSON, J. A. Biological actions of carotenoids. **Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology – FASEB**, 1989. v. 3, p. 1927-1932. Disponível em: <<http://www.faseb.org>>. Acesso em: 05 nov. 2009.

BERTOLINI, D. L.; TZANNO-MARTINS, C. Revisão: efeitos imunomoduladores da vitamina D. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 22, n. 3, p. 157- 161, 2000.

BIANCO, S. M.; PINHEIROS, P. C. M. S.; CORREAS, M. G. Raquitismo: uma visão ortopédica. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 29, n. 11/12, p. 851-854, 1994.

BILODEAU, J. F. et al. Reactive oxygen species-mediated loss of bovine sperm motility in egg yolk Tris extender: protection by pyruvate, metal chelators and bovine liver or oviductal fluid catalase. **Theriogenology**, v. 57, p. 1105-1122, 2002.

BONGALHARDO, D. et al. Repetibilidade e correlações fenotípicas do caráter volume de sêmen de galos Withe Leghorn. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 23, n. 6, p. 1002-1007, 1994.

BONGALHARDO, D. C.; SOMNAPAN-KAKUDA, N.; BUHR, M. M. Isolation and unique composition of purified head plasma membrane from rooster sperm. **Poultry Science**, v. 81, p. 1877-1883, 2002.

BOWLING, E. R. et al. Attributes of broiler breeder males characterized by low and high sperm mobility. **Poultry Science**, Champagn, v. 82, p. 1796- 1801, 2003.

BREZEZINSKA-SLEBODZINSKA, E. et al. Antioxidant effect of vitamin E and glutathione on lipid peroxidation in boar semen plasma. **Biological Trace Elementary Research**, Clifton, v. 47, n. 1-3, p. 69-74, 1995.

BRILLARD, J. P.; BAKST, M. R. Qualification of spermatozoa in the sperm-storage tubules of turkey hens and the relation to sperm numbers in the periviteline layer of eggs. **Biology of Reproduction**, v. 43, p. 271-275, 1990.

BRILLARD, J. P. Sperm storage and transport following natural mating and artificial insemination. **Poultry Science**, v. 72, p. 923-928, 1993.

BURKE, W. H. Reprodução das aves. In: DUKES, H. H. **Dukes: fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1996. v. 38, p. 660-680.

CELEGHINI E. C. et al. Avaliação das características seminais de galos selecionados para a reprodução pelo desenvolvimento da crista - **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 177-183, 2001.

CEROLINI, S. et al. Relationship between spermatozoan lipid composition and fertility during aging of chicken. **Biology of Reproduction**, v. 57, n. 5, p. 976-980, 1997.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. *Bioquímica ilustrada*. 4. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2006. 533 p.

CHEW, B. P.; PARK, J. S. Carotenoid action on the immune response. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 257-261, 2004.

CLULOW, J.; JONES, R. C. Studies of fluid and spermatozoa transport in the extratesticular genital ducts of the Japanese quail. **Journal of Anatomy**, v. 157, p. 1-11, 1988.

CORREA, J. C. S.; ARCEO, A. M. A. Edad a la puberdade y características seminales de gallos Rod Sland y Criollos Cuello Desnudo bajo condiciones tropicales. **Veterinária México**, México, v. 26, n. 4, p. 375-379, 1995.

DANIKOWSKI, S. et al. Influence of high levels of vitamin E on semen parameters of cocks. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 86, p. 376-382, 2002.

DELUCA, H. F. Vitamin D: the vitamin and the hormone. **Federation Proceedings**, v. 33, p. 211-2219, 1974.

DUELAND, S. P.; HELGERUD, J. L.; DREVON, C. A. Absorption, distribution, and transport of vitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in the rat. **American Journal of Physiology**, v. 245, p. 463-467, 1983.

DONOGHUE, A. M. Prospective approaches to avoid flock fertility: predictive assessment of sperm function traits in poultry. **Poultry Science**, v. 78, p. 437-443, 1999.

EDGE, R.; MCGARVEY, D. J.; TRUSCOTT, T. G. The carotenoids as antioxidants: a review. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 41, p. 189-200, 1997.

EDWARDS, H. M.; ELLIOT, M. A.; SOONCHAREENYING, S. Effect of dietary calcium on tibial dyschondroplasia. Interaction with light, cholecalciferol, 1,25-dihydroxycholecalciferol, protein, and synthetic zeolite. **Poultry Science**, v. 71, n. 12, p. 2041-55, 1992.

ELAROUSSI, M. A. et al. Calcium Homeostasis in the laying Hen. Age and Dietary Calcium Effects. **Poultry Science**, v. 73, p. 1581-1589, 1994.

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

FONTANA, J. D. et al. Carotenóides cores atraentes e biológica. **Biociência e Desenvolvimento**, n. 13, p. 40-45, mar./abr. 2000. Disponível em: <<http://www.biociencia.com.br>>. Acesso em: 10 maio 2008.

FROMAN, D. P.; FELTMANN, A. J. Sperm mobility: a quantitative trait of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). **Biology of Reproduction**, v. 58, n. 2, p. 379-384, 1998.

GARCIA, E. A. et al. Efeito dos níveis de cantaxantina na dieta sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira Ciência Avícola**, v. 4, n. 1, 2002.

GARNER, D. L. Espermatózoide e plasma seminal. In. HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. São Paulo: Manole, 2004. p. 97-110.

GRIFFIN, H. D.; PERRY, M. M.; GILBERT, A. B. Yolk formation. In:\_\_\_\_\_. **Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl**. London, UK: Academic Press, 1984. v. 5, p. 345-380.

GRUDTNER, V. S.; WEINGRILL, P.; FERNANDES, A. L. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 37, n. 3 p.143-151, 1997.

HAQ, A. U.; BAILEY, C. A.; CHINNAH, A. D. Neonatal immune response and growth performance of chicks hatched from Single Comb White Leghorn breeders fed diet supplemented with  $\beta$ -carotene, canthaxanthin, or lutein. **Poultry Science**, v. 74, p. 844-851, 1995.

HAMILTON, P. B. The use of high-performance liquid chromatography for studying pigmentation. **Poultry Science**, v. 71, p. 718-724, 1992.

HAMMERSTEDT RH. Evaluation of sperm quality: Identification of the subfertile male and courses of action. **Animal Reproduction Science**, v. 42, p. 77-87, 1996.

HAUSSLER, M. R.; RASMUSSEN, H. The metabolism of vitamin D<sub>3</sub> in the chick. **Journal Biology Chemistry**, Bethesda, Massachusetts, v. 247, p. 2328-2335, 1972.

HESS, R. A.; THURSTON, R. J.; BIELLIER, H. V. Morphology of the epididymal region and ductus deferents of the turkey. **Journal of Anatomy**, v. 122, p. 241-252, 1976.

HINTON, C. F.; FRY, J. L.; HARMS, R. H. Influence of xanthophyll-free pullet grower diet on subsequent egg yolk pigmentation. **Poultry Science**, v. 53, p. 223-226, 1974.

HOY, D. A.; RAMBERG, C. F.; HORST, R. L. Evidence that discrimination against ergocalciferol by the chick is the result of enhanced metabolic clearance rates for its mono and dihydroxylated metabolites. **Journal of Nutrition**, v. 18, p. 633-63, 1988.

ILIO, K. Y.; HESS, R. A. Structure and function of the ductuli efferents: a review. **Microscopy Research Technique**, v. 29, p. 432-467, 1994.

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

KELSO, K. A. et al. Effect of dietary supplementation with  $\alpha$  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**, v. 110, p. 53-59, 1997.

KOUTSOS, E. A. et al. Cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) at Maintenance Are More Sensitive to Diets Containing Excess Vitamin A Than to Vitamin A-Deficient Diets. **Journal of Nutrition**, n. 133, p. 1898-1902, 2003.

MACIEL, M. P. **Características reprodutivas de galos leves e semi-pesados submetidos a diferentes fotoperíodos**. 2006. 126 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

MALDJIAN, A. et al. The transfer of docosahexaenoic acid from the yolk to the tissues of the chick embryo. **Biochimica Biophysica Acta**, p. 81-89, 1995.

MARTIN RILLO, S. et al. Bora semen evaluation in practice. **Reproduction Domestic Animal**, v. 31, n. 4, p. 519-526, 1996.

MCBRIDE, J. It plants pigments paint on antioxidants substance rainbow. **Agricultural Research Washington**, v. 44, n. 11, p. 4-8, 1996.

MCDOWELL, L. R. **Vitamin in animal nutrition**: comparative aspect to human nutrition. Washington: Academic, 1989. 486 p.

MCNUTT, K. W.; HAUSSLER, M. R. Nutritional effectiveness of 1,25-dihydroxy cholecalciferol in preventing rickets in chicks. **Journal Nutrition**, Tucson, Arizona, v. 103, p. 681-689, 1973.

MELÉNDZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Importancia nutricional de los pigmentos carotenóides. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 54, n. 2, p. 149-155, jun. 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.org.ve>>. Acesso em: 18 set. 2008.

MORAIS, F. L. **Carotenóides**: características biológicas e químicas. 2006. 60 f. Monografia (Curso de Especialização em Qualidade em Alimentos) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2006.

MOSS, T. A.; MELROSE, D. R.; REED, H. C. Spermatogenesis, semen and artificial insemination. In: COLE, D. J. A. **Fertility in domestic animals**, 1978. p. 59-106.

NOBLE, R. C.; COCCHI, M. Lipid metabolism in the neonatal chicken. **Progress. Lipid Research**, v. 29, p. 107-140, 1990.

NORMAN, A. Studies on the vitamin D endocrine system in the avian. **Journal of Nutrition**, Riverside, California, v. 117, p. 797-807, 1987.

NATIONAL RESERCH CONCIL – NRC. **Nutrient requeriments of swine**. 10 ed. Washington: National Academy of Science, 1998. 189 p.

ORTEGA, A. M. Peroxidación lipídica y antioxidantes en la preservación de semen: una revisión. **Interciencia**, v. 28, p. 699-704, 2003.

PARKER, R. S. Absortion, metabolism, and transport of carotenoids. **Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology – FASEB**, v. 10, n. 5, p. 542-551, 1996. Disponível em:< <http://www.fasebj.org>>. Acesso em: 16 julho 2008.

PEDROSA, M. A. C.; CASTRO, M. L. Papel da vitamina D na função neuromuscular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 49, n. 4, p. 495-502, 2005.

PLACK, P. A. The amount of vitamin A aldehyde, ester and alcohol and of carotenoids in hen's eggs and in day-old chicks. **British Journal of Nutrition**, v. 17, p. 243-250, 1963.

RICE-EVANS, C. A. Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vivo? **Free Radical Research**, v. 26, p. 381-398, 1997.

RODENAS C. E. O. et al. Características seminais de galos alimentados com rações suplementadas com diferentes Óleos Níveis e Vitamina E. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 160-167, 2005.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in food**. ILSI Press, Washington, p. 37-51, 1999.

ROCK C. L. et al.. Carotenoids: biology and treatment. **Pharmacol. Ther.**, v. 75, n. 3, p.185-197, 1997.

ROSA, A. P. et al. Influência de diferentes intervalos da inseminação artificial e do estresse do manejo da inseminação na produção e fertilidade de fêmeas avícolas. **Ciência Rural**, v. 25, n. 3, 1995,

\_\_\_\_\_ et al. Carophyll Red<sup>®</sup> e HyD<sup>®</sup> no desempenho produtivo e características de ovos de matrizes de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS: Prêmio Lamas, 2009, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: FACTA, 2009. 1 CD-ROM.

RUIZ, N.; R. HARMS, H. Riboflavin requirement of broiler chicks fed a corn-soybean diet. **Poultry Science**, v. 67, p. 794-799, 1988.

RUTZ, F. et al. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 307-317, julho/set. 2007. Disponível em: <<http://www.cbra.org.br>>. Acesso em: 5 junho 2008.

SCHER, A. et al. Efeitos da adição de HyD<sup>®</sup> e Carophyll Red<sup>®</sup> á dieta de matrizes de corte sobre a incubação artificial. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS: Prêmio Lamas, 2009, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: FACTA, 2009a. 1 CD-ROM.

\_\_\_\_\_ et al. Gemas de ovos e soro sanguíneo de pintos provenientes de Matrizes de corte suplementadas com HyD<sup>®</sup> e Carophyll Red<sup>®</sup>. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS: Prêmio Lamas, 2009, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: FACTA, 2009b. 1 CD-ROM.

SESTI, L. A.; ITO, N. M. K. Enfermidades do sistema reprodutor. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, A. **Doença das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 81-128.

SESTI, L. A. C. Órgão reprodutivos e reprodução da aves domésticas. In: MACARI, M.; GONZÁLES, E. **Manejo da incubação**. Jaboticabal: FACTA, 2003. cap. 1, p. 8-33.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 277-236, abr./junho 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br>>. Acesso em: 16 nov. 2008.

SIES, H.; STAHL, W. Non-nutritive bioactive constituents of plants: lycopene, lutein and zeaxanthin. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 73, n. 2, p. 95-100, 2003.

SMITH, C.; MARKS, A. D.; LIEBERMAN, M. **Bioquímica médica básica de marks**; uma abordagem clinica. 2. ed. Porto Alegre. Artmed, 2007. 990 p.

SOARES, J. H.; SWERDEL, M. R.; BOSSARD, E. H. Phosphorus availability. 1. the effect of chick age and vitamin d metabolites on the availability of phosphorus in defluorinated phosphate. **Poultry Science**. v. 57, p.1305-1312, 1978.

SOARES, JR. J. H.; KERR, J. M.; GRAY, R. W. 25-hydroxycholecalciferol in poutry nutrition. **Poultry Science**, v. 74, p. 1919-1934, 1995.

SOARES J. M.; BELETTI M. E. Avaliação da integridade cromatínica de espermatozóides de galos (*Gallus gallus*, Linnaeus, 1758) de linhagem pesada em duas idades. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 42, n. 4, p. 543-553, 2006.

SPEAKE, B. K.; MURRAY, A. M. B.; NOBLE, R. C. Transport and transformation of yolk lipids during development of the avian embryo. **Progress in Lipid Research**, v. 37, p. 1-32, 1998.

STAMP, T. C. B. Intestinal absorption of 25-hydroxycholecalciferol. **Lancet**, v. 2, p. 121-123. 1974.

STURKIE, P. D.; OPEL, H. Reproduction in the male, fertilization and early embryonic development. In: STURKIE, P. D. **Avian physiology**. 3rd. ed. New York: Springer-Verlag, 1976. chapter 17.

STATISTICAL ANALYSES SYSTEM - SAS. **User's guide**: statistics. Cary: SAS Institut, 2001. version. 8.2

SURAI, P. F. **Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction**. Nottingham, UK: Nottingham University Press, 2002.

\_\_\_\_\_ et al. Effect of canthaxanthin content of the maternal diet on the antioxidant system of the developing chick. **British Poultry Science**, v. 44, p. 612-619, 2003.

\_\_\_\_\_; WISHART, G. J. Poultry artificial insemination technology in the countries of the former USSR. **Word's Poultry Science Journal**, v. 52, p. 27-43, 1996.

\_\_\_\_\_; NOBLE, R. C.; SPEAKE, B. K. Tissue-specific differences in antioxidant distribution and susceptibility to lipid peroxidation during development of the chick embryo. **Biochimica Biophysica Acta**, p. 1-10, 1996.

\_\_\_\_\_; SPEAKE, B. K. Distribution of carotenoids from the yolk to the tissues of the chick embryo. **Journal Nutritional Biochemistry**, v. 9, p. 645-651, 1998.

\_\_\_\_\_ et al. 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. **British Poultry Science**, v. 39, p. 257-263, 1998.

\_\_\_\_\_; NOBLE, R. C.; SPEAKE, B.K. Relationship between vitamin E content a susceptibility to lipid peroxidation in tissues of the newly hatched chick. **British Poultry Science**, v. 40, p. 406-410, 1999.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA - UBA. Estatística, últimos dados da avicultura. Disponível em: <[http://www.uba.org.br/site3/ultimos\\_ano.php](http://www.uba.org.br/site3/ultimos_ano.php)>. Acesso em: 18 out. 2009.

VAN DEN BERG, H. Bioavailability of vitamin D. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 51, n. 1, p. 76-79, 1997.

VELTMANN, J. R. Jr.; JENSEN, L. S.; ROWLAND, G. N. Excess dietary vitamin a in the growing chick: effect of fat source and vitamin D. **Poultry Science**, v. 65, p. 153-163, 1986.

VILLELA, G. G. **Pigmentos animais: Zoocromos**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1976. p. 5-31.

ZIAMBRAS, K.; DAGOGO-JACK, S. Reversible muscle weakness in patients with vitamin D deficiency. **West Journal of Medicine**, v. 167, n. 6, p. 435-439, 1997.

WILLIAMS, A. W.; BOILEAU, T. W. M.; ERDMAN, J. W. Jr. Factors influencing the uptake and absorption of carotenoids. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**. p. 106-108, 1998.

## **7 ANEXOS**





**Anexo A** - Foto dos galos White Plymouth Rock utilizados no experimento.



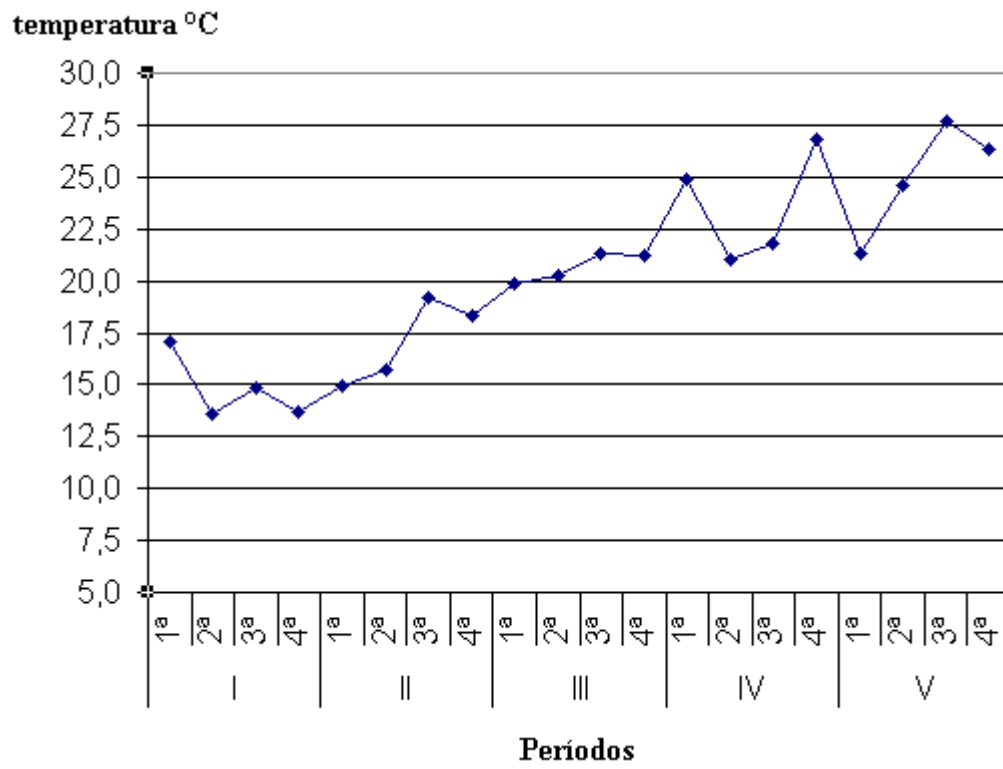
**Anexo B** - Vista parcial do galpão experimental.



Anexo C - Vista parcial das unidades experimentais.

## Anexo D - Controle de temperatura ambiente dentro do aviário experimental.

Data	T°C Mínima	T°C Máxima	Média	Data	T°C Mínima	T°C Máxima	Média
13/08/2008	7,0	17,0	12,0	22/10/2008	17,0	21,0	19,0
14/08/2008	10,0	17,0	13,5	23/10/2008	19,0	34,0	26,5
15/08/2008	16,0	20,0	18,0	24/10/2008	21,0	24,0	22,5
16/08/2008	16,0	25,0	20,5	25/10/2008	19,0	27,0	23,0
17/08/2008	20,0	30,0	25,0	26/10/2008	8,0	22,0	15,0
18/08/2008	14,0	19,0	16,5	27/10/2008	18,0	27,0	22,5
19/08/2008	13,0	15,0	14,0	28/10/2008	16,0	25,0	20,5
20/08/2008	16,0	18,0	17,0	29/10/2008	18,0	25,0	21,5
21/08/2008	17,0	20,0	18,5	30/10/2008	17,0	24,0	20,5
22/08/2008	14,0	15,0	14,5	31/10/2008	13,0	25,0	19,0
23/08/2008	5,0	15,0	10,0	01/11/2008	15,0	24,0	19,5
24/08/2008	7,0	19,0	13,0	02/11/2008	18,0	25,0	21,5
25/08/2008	9,0	15,0	12,0	03/11/2008	19,0	27,5	23,3
26/08/2008	6,0	14,0	10,0	04/11/2008	18,0	28,0	23,0
27/08/2008	8,0	13,0	10,5	05/11/2008	18,0	30,0	24,0
28/08/2008	17,0	31,0	24,0	06/11/2008	20,0	35,0	27,5
29/08/2008	6,0	18,0	12,0	07/11/2008	17,0	28,0	22,5
30/08/2008	3,0	18,0	10,5	08/11/2008	20,0	29,0	24,5
31/08/2008	2,0	16,0	9,0	09/11/2008	21,0	32,0	26,5
01/09/2008	8,0	27,0	17,5	10/11/2008	20,0	30,0	25,0
02/09/2008	9,0	32,0	20,5	11/11/2008	20,0	28,0	24,0
03/09/2008	27,0	30,5	28,8	12/11/2008	19,0	27,0	23,0
04/09/2008	10,0	27,0	18,5	13/11/2008	16,0	28,0	22,0
05/09/2008	7,0	17,0	12,0	14/11/2008	16,0	28,0	22,0
06/09/2008	7,0	8,0	7,5	15/11/2008	16,0	29,0	22,5
07/09/2008	6,0	8,0	7,0	16/11/2008	13,0	31,0	22,0
08/09/2008	3,0	14,0	8,5	17/11/2008	12,5	23,0	17,8
09/09/2008	7,0	20,0	13,5	18/11/2008	13,0	23,0	18,0
10/09/2008	13,0	24,0	18,5	19/11/2008	14,0	24,0	19,0
11/09/2008	17,0	24,0	20,5	20/11/2008	14,0	24,0	19,0
12/09/2008	11,0	20,0	15,5	21/11/2008	15,0	25,0	20,0
13/09/2008	11,0	18,0	14,5	22/11/2008	16,0	28,0	22,0
14/09/2008	5,0	18,0	11,5	23/11/2008	17,0	30,0	23,5
15/09/2008	5,0	20,0	12,5	24/11/2008	18,0	32,0	25,0
16/09/2008	6,0	17,0	11,5	25/11/2008	15,0	33,0	24,0
17/09/2008	7,0	20,0	13,5	26/11/2008	23,0	31,5	27,3
18/09/2008	10,0	21,0	15,5	27/11/2008	20,0	36,0	28,0
19/09/2008	11,0	23,0	17,0	28/11/2008	21,0	35,0	28,0
20/09/2008	12,0	24,0	18,0	29/11/2008	22,0	35,5	28,8
21/09/2008	10,0	17,0	13,5	30/11/2008	18,0	35,0	26,5
22/09/2008	13,0	18,5	15,8	01/12/2008	22,0	32,0	27,0
23/09/2008	9,0	24,0	16,5	02/12/2008	18,0	26,0	22,0
24/09/2008	10,0	23,0	16,5	03/12/2008	14,0	28,0	21,0
25/09/2008	11,0	24,0	17,5	04/12/2008	15,0	25,0	20,0
26/09/2008	12,5	26,5	19,5	05/12/2008	15,0	27,0	21,0
27/09/2008	15,0	27,0	21,0	06/12/2008	13,0	27,0	20,0
28/09/2008	15,0	21,0	18,0	07/12/2008	8,0	18,0	13,0
29/09/2008	15,0	29,0	22,0	08/12/2008	15,0	35,0	25,0
30/09/2008	17,0	22,0	19,5	09/12/2008	21,0	38,0	29,5
01/10/2008	15,0	23,0	19,0	10/12/2008	21,0	35,0	28,0
02/10/2008	18,0	26,0	22,0	11/12/2008	20,0	29,0	24,5
03/10/2008	9,0	24,0	16,5	12/12/2008	18,5	31,0	24,8
04/10/2008	16,0	27,0	21,5	13/12/2008	16,0	28,0	22,0
05/10/2008	12,0	27,0	19,5	14/12/2008	19,0	33,0	26,0
06/10/2008	7,0	24,0	15,5	15/12/2008	20,0	30,0	25,0
07/10/2008	8,0	20,0	14,0	16/12/2008	13,0	31,0	22,0
08/10/2008	7,0	24,5	15,8	17/12/2008	19,0	30,0	24,5
09/10/2008	10,0	21,0	15,5	18/12/2008	18,0	31,0	24,5
10/10/2008	12,0	21,0	16,5	19/12/2008	17,0	32,0	24,5
11/10/2008	19,0	28,0	23,5	20/12/2008	20,0	33,0	26,5
12/10/2008	18,0	27,0	22,5	21/12/2008	30,0	35,0	32,5
13/10/2008	20,0	31,0	25,5	22/12/2008	23,0	40,0	31,5
14/10/2008	18,0	22,0	20,0	23/12/2008	23,0	36,0	29,5
15/10/2008	21,0	20,0	20,5	24/12/2008	23,0	34,0	28,5
16/10/2008	18,0	24,0	21,0	25/12/2008	21,0	30,0	25,5
17/10/2008	16,0	20,0	18,0	26/12/2008	20,0	31,0	25,5
18/10/2008	15,0	18,0	16,5	27/12/2008	20,0	30,0	25,0
19/10/2008	14,0	21,0	17,5	28/12/2008	19,0	33,0	26,0
20/10/2008	20,0	25,0	22,5	29/12/2008	22,0	37,0	29,5
21/10/2008	20,0	31,0	25,5	30/12/2008	15,0	34,0	24,5

**Anexo E - Variação da temperatura ambiental dentro do aviário experimental.**



**Anexo F** - Ave sendo pesada no final de um dos períodos experimentais para obtenção do parâmetro peso corporal.



**Anexo G** - Coleta de sêmem.



**Anexo H** - Manuseio do ejaculado para análise espermática.