IAÇANÃ VALENTE FERREIRA GONZAGA

**SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE ARROZ SEMI-REFINADO COM
ALTO TEOR DE GAMA-ORIZANOL NA DIETA DE GARANHÕES**

Pirassununga

2008

IAÇANÃ VALENTE FERREIRA GONZAGA

**SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE ARROZ SEMI-REFINADO COM
ALTO TEOR DE GAMA-ORIZANOL NA DIETA DE GARANHÕES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso

Pirassununga

2008

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2066
FMVZ

Gonzaga, Iaçanã Valente Ferreira

Suplementação com óleo de arroz semi-refinado com alto teor de gama-orizanol na dieta de garanhões / Iaçanã Valente Ferreira Gonzaga. – Pirassununga : I. V. F. Gonzaga, 2008.
87 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo.
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2008.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.
Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso.

1. Digestibilidade. 2. Gama-orizanol. 3. Lipoproteínas.
4. Testosterona. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “Efeito da suplementação com óleo de arroz semi refinado rico em gamma-oryzanol sobre a qualidade espermática e nível plasmático de testosterona de garanhões”, protocolado sob o nº965/2006, utilizando 06 (seis) cavalos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 18/10/06”.

(We certify that the Research “Supplementation with semi refined rice oil rich gamma oryzanol above the spermatic conditions and plasmatic concentrations of testosterone of stallions”, protocol number 965/2006, utilizing 06 (six) horses, under the responsibility of Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in the meeting of the day 10/18/2006).

São Paulo, 18 de outubro de 2006

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: **GONZAGA, Iaçanã Valente Ferreira**

Título: Suplementação com óleo de arroz semi-refinado com alto teor de gama-orizanol na dieta de garanhões

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Dedico este trabalho aos meus pais,
Luiz Gonzaga e Mirtes Fátima Ferreira Gonzaga.

AGRADECIMENTOS

Aos **Meus Pais e toda minha família**, pelo apoio recebido mesmo distante em todos os lugares por onde já passei;

À **Pirassununga**. Esta cidade me recebeu, me acolheu e me fez interessar pela mesma, me ofereceu oportunidades, me ensinou muito e a ela devo as recordações que terei enquanto viver;

Aos profissionais, amigos e colegas – **Priscila Oliveira Azevedo, Marco Antônio Alvarenga e Leopoldo Cury** – mestres com quem aprendi, na teoria e/ou na prática, e por quem devo a confiança depositada pelas recomendações necessárias ao ingresso no Programa de Pós-Graduação de Nutrição e Produção Animal;

A **Bia Nicotero** e família, e todos os **Funcionários do Haras Feroletto Antico**, motivo pelo qual vim me estabelecer nesta cidade, onde muito aprendi e comecei a me conduzir como profissional;

Ao meu orientador **Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso**, amigo e condutor de muitos passos trilhados. Agradeço a confiança depositada no meu trabalho, e por todos os diálogos e “brincas”, que entendo serem necessários para meu crescimento pessoal e profissional;

A amiga **Waleska Tobo Pastori**, que foi de fundamental e extrema importância nesta etapa realizada;

Aos amigos “irmãos” do nosso grupo de trabalho em eqüinos, **Henry Watzstein, Mariano Etchethury, Rodrigo Ribeiro, Paulo Gil, e Yara Figueira Ferreira**;

A todos os **Docentes e Funcionários** do VNP, FMVZ e FZEA / USP;

A todos os **Colegas da Pós-graduação** da FMVZ e FZEA / USP;

A Empresa **HT-Nutri Helmut Tessman Comércio de Óleos Vegetais**, pelo fornecimento do material utilizado nesta pesquisa;

A **Ademir Pignan (Preto)**, primeiro de todos os contatos em Pirassununga, foi como o alicerce desta imensa construção e a toda **Família Pignan – Sra. Lurdes, Sr. José, Zima, Kimberlly, Carlos e Aray** – que considero uma segunda família, aquela de Pirassununga, todo carinho e apoio dispensado, muito obrigado;

A **Moacyr Júnior**, que foi o primeiro degrau para ingressar no mestrado através de seu incentivo e perseverança;

A **Manuel Pacheco Andrade**, cuja orientação, amizade e companhia foram de fundamental importância na reta final deste mestrado;

A **César Lopes Guterres** e **Marcos Henrique Lopes**, pelo apoio dispensado na finalização desta dissertação;

Aos nossos queridos **CAVALOS**, sem eles, esta e outras pesquisas não existiriam,

Aos amigos “**Lambaris**” e “**Sapés**”, não quero esquecer nenhum, vocês sabem quem são.

Muito Obrigada!

*“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa,
nunca tem medo e nunca se arrepende.”*

Leonardo Da Vinci

RESUMO

GONZAGA, I. V. F. **Suplementação com óleo de arroz semi-refinado com alto teor de gama-orizanol na dieta de garanhões.** [Supplementation with rice bran oil semi-refined with high level of gamma-oryzanol in stallion's diets]. 2008. 87 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

Durante 60 dias foram utilizados seis garanhões de raças variadas, com peso médio inicial de $472,67 \pm 90,48$ kg, alimentados duas vezes ao dia com dietas compostas por feno de Tifton (*Cynodon dactylon*) e concentrado comercial, suplementadas com 300 mL de óleo vegetal (óleo de arroz ou óleo de soja), além de sal mineralizado e água *ad libitum*. Foi avaliado o efeito da suplementação com óleo de arroz semi-refinado com alto teor de gama-orizanol sobre a aceitabilidade da dieta, ganho de peso, escore corporal, lipídeos plasmáticos, digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta (Matéria Seca – MS, Matéria Orgânica – MO, Proteína Bruta – PB, Fibra em Detergente Neutro – FDN e Fibra em Detergente Ácido – FDA), além da qualidade espermática e testosterona plasmática. Para tal observação, foram colhidas amostras sanguíneas com 0, 15, 30, 45 e 60 dias após o início do tratamento para mensuração das concentrações plasmáticas de testosterona, triglicérides, colesterol total e suas frações, tais como lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL-C), lipoproteína de densidade baixa (LDL-C) e lipoproteína de densidade alta (HDL-C). Para avaliação da digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta, os animais passaram por três dias de colheita total de fezes. Para avaliação da qualidade espermática, os garanhões passaram por colheita seminal com 0, 15, 30, 45 e 60 dias do tratamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com medidas repetidas no tempo e as médias foram comparadas considerando-se o nível de 5% de significância. Os valores médios obtidos para a digestibilidade aparente da MS, MO, EE, FDN e FDA foram respectivamente 64,34; 68,03; 71,95; 83,37; 62,15 e 55,05% para o tratamento com óleo de soja, e 58,97; 62,61; 66,96; 81,94; 54,85 e

45,87% para o tratamento com óleo de arroz. Não houve diferença ($p < 0,05$) em relação à digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta para os tratamentos propostos. Os valores médios para testosterona, colesterol total, HDL-C, LDL-C, VLDL-C e triglicérides foram respectivamente 75,93 ng/dL; 92,73; 61,47; 26,99 e 4,28 mg/dL para o tratamento com óleo de soja; e de 62,13 ng/dL; 110,20; 66,73; 38,44 e 5,02 mg/dL para o tratamento com óleo de arroz. Em relação à qualidade espermática, também não se observou ($p < 0,05$), e os valores médios para volume, motilidade, vigor, concentração, defeitos maiores, defeitos menores e defeitos totais, foram respectivamente, de 71,87 mL; 69 %; 2,63; 123×10^6 espermatozoides/mL; 17,73%; 4,60% e 22,33 % para o tratamento com óleo de soja, e de 78,67 mL; 70,67%; 2,93; $115,67 \times 10^6$ espermatozoides/mL; 17,96%; 6,03% e 22,63% para o tratamento com óleo de arroz. Podemos concluir que a suplementação da dieta com óleo de arroz semi-refinado, com alto teor de gama-orizanol, proporciona melhora do ganho de peso e do escore corporal, não afeta a qualidade espermática ou a concentração plasmática de testosterona, VLDL-C, HDL-C e triglicérides, porém, eleva as concentrações plasmáticas de colesterol total e de LDL-C.

Palavras-chave: Digestibilidade. Gama-orizanol. Lipoproteínas. Testosterona.

ABSTRACT

GONZAGA, I. V. F. **Supplementation with rice bran oil semi-refined with high level of gamma-oryzanol in stallion's diets.** [Suplementação com óleo de farelo de arroz semi-refinado rico em gama-oryzanol na dieta de garanhões]. 2008. 87 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

Using up six stallions of various breeds during 60 days, with initial average weight of $472,67 \pm 90,48$ kg, fed twice a day with a diet consisting of Tifton hay (*Cynodon dactylon*) and commercial concentrate, supplemented with 300 mL. of a vegetable oil (rice bran or soybean), moreover mineralized salt and *ad libitum* water. The experiment evaluated the effect of the supplementation of diet with rice bran oil, with high level of gamma-oryzanol, about acceptability of the diets, weight gain, body score, levels of plasmatic lipids, apparent digestibility of nutrients of the diets (dry matter - DM, organic matter - OM, crude protein - CP, ether extract - EE, neutral detergent fiber - NDF and acid detergent fiber – ADF), and spermatic quality and plasmatic testosterone. Blood samples were also held with 0, 15, 30, 45 and 60 days after starting treatment, for analysis of the values of testosterone, triglycerides, total cholesterol and its fractions (HDL-C, LDL-C and VLDL-C). To evaluation of the apparent digestibility of the nutrients of the diet, the animals had passed for three days of total fecal collection. To evaluation of the sperm quality, the sires had passed for seminal collection with 0, 15, 30, 45 and 60 days of the treatment. It was used completely randomized design for repeated measures design with repeated measures over time and the means were compared under 5 % significance level. The gotten average values for the apparent digestibility of the DM, OM, CP, EE, NDF and ADF were respectively 64,34; 68,03; 71,95; 83,37; 62,15 and 55.05 % for the treatment with soybean oil, and 58,97; 62,61; 66,96; 81,94; 54,85 and 45.87 % for the treatment with rice bran oil. There was no statistical difference ($p < 0,05$) from the apparent digestibility of nutrients of the diet. The average values for testosterone,

total cholesterol, HDL-C, LDL-C, VLDL-C and triglycerides had been respectively 75,93 ng/dL; 92,73; 61,47; 26,99 and 4,28 mg/dL for the treatment with soy oil; and of 62,13 ng/dL; 110,20; 66,73; 38,44 and 5,02 mg/dL for the treatment with rice bran oil. In relation to the spermatogenic quality, also did not have difference ($p < 0,05$), and the average values for volume, motility, vigor, concentration, defects, lesser defects and total defects, had been respectively, of 71,87 mL; 69%; 2,63; 123×10^6 sperm/mL; 17.73%; 4.60% and 22.33% for the treatment with soybean oil, and 78,67 mL; 70.67%; 2,93; $115,67 \times 10^6$ sperm/mL; 17.96%; 6.03% and 22,63% for the treatment with rice bran oil. The supplementation of diet with semi-refined rice bran oil, with high level of gamma-oryzanol, provided better weight gain and improves the body score, do not affect the sperm quality or plasmatic levels of testosterone, VLDL-C, HDL-C and triglycerides, however, it increase plasmatic levels of total cholesterol and LDL-C.

Key words: Digestibility. Gamma-oryzanol. Lipoproteins. Testosterone.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura do gama-orizanol	32
Figura 2 -	Teor de γ -orizanol de acordo com o tipo de refino	33
Figura 3 -	Ganho total de peso e ganho de peso em relação ao peso individual	45
Figura 4 -	Ganho médio diário e porcentagem em relação ao peso vivo (PV)	46
Figura 5 -	Digestibilidade aparente da Matéria Seca (MS) e da Matéria Orgânica (MO)	49
Figura 6 -	Digestibilidade aparente da Proteína Bruta (PB)	51
Figura 7 -	Digestibilidade aparente do Extrato Etéreo (EE)	53
Figura 8 -	Digestibilidade aparente da Fibra em Detergente Ácido (FDA) e Fibra em Detergente Neutro (FDN)	56
Figura 9 -	Concentrações plasmáticas médias de colesterol total	59
Figura 10 -	Concentrações plasmáticas médias de HDL-C	60
Figura 11 -	Concentrações plasmáticas médias de LDL-C	61
Figura 12 -	Concentrações plasmáticas médias de VLDL-C	62
Figura 13 -	Concentrações plasmáticas médias de triglicérides	64

Figura 14 -	Concentrações plasmáticas médias de testosterona	66
Figura 15 -	Valores médios de volume espermático (mL)	69
Figura 16 -	Valores médios de motilidade espermática (%)	71
Figura 17 -	Valores médios de vigor espermático	73
Figura 18 -	Valores médios de concentração espermática (milhões eptz/mL)	75
Figura 19 -	Valores médios de defeitos totais (%)	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição bromatológica dos nutrientes da dieta (%)	38
Tabela 2 -	Divisão dos animais e tratamentos	38
Tabela 3 -	Ganho de peso médio (kg), porcentagem de ganho de peso em relação ao peso vivo, ganho médio diário (kg) e porcentagem do ganho médio diário em relação ao peso vivo	44
Tabela 4 -	Valores médios da digestibilidade aparente da dieta (%) para os tratamentos com óleo de soja e de arroz	47
Tabela 5 -	Valores plasmáticos médios de colesterol total, HDL-C, LDL-C e VLDL-C (mg/dL) para os tratamentos com óleo de soja e óleo de arroz	57
Tabela 6 -	Valores médios de triglicérides (mg/dL) para os tratamentos com óleo de soja e óleo de arroz	63
Tabela 7 -	Valores médios de testosterona plasmática (ng/mL) para os tratamentos com óleo de soja e óleo de arroz	65
Tabela 8 -	Valores médios das características seminais, desvio-padrão (%) e probabilidade estatística (P) para os tratamentos com óleo de soja e óleo de arroz	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL	microlitro
AGV	ácido graxo volátil
dL	decilitro
DAEE	digestibilidade aparente do extrato etéreo
DAFDA	digestibilidade aparente da fibra em detergente ácido
DAFDN	digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro
DAMO	digestibilidade aparente da matéria orgânica
DAMS	digestibilidade aparente da matéria seca
DAPB	digestibilidade aparente da proteína bruta
DEFMA	defeitos maiores
DEFME	defeitos menores
DP	desvio padrão
EE	extrato etéreo
eptz	espermatozóides
FDA	fibra em detergente ácido
FDN	fibra em detergente neutro
GH	hormônio do crescimento
GnRH	hormônio liberador de gonadotrofinas
h	horas
HDL-C	fração do colesterol na lipoproteína de densidade alta
kg	kilograma
LDL-C	fração do colesterol na lipoproteína de densidade baixa
LH	hormônio luteinizante
min	minuto
mg	miligrama
mL	mililitro
mm	milímetro
MO	matéria orgânica
MS	matéria seca
ng	nanograma
p	nível de significância

PB	proteína bruta
pH	concentração de íons de hidrogênio
ppm	partes por milhão
PRL	prolactina
PV	peso vivo
TSH	hormônio tireoestimulante
VLDL-C	fração do colesterol na lipoproteína de densidade muito baixa

LISTA DE SÍMBOLOS

α	alfa
β	beta
γ	gama
%	porcentagem
<	menor
°C	graus Celsius
x	vezes
10^6	milhões
:	para (1:100)
®	marca registrada
<	menor que
$\pm$	mais ou menos
=	igual

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	OBJETIVOS	22
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	23
3.1	CONSIDERAÇÕES SOBRE A FISIOLOGIA DIGESTIVA EQUINA	23
3.2	DIGESTÃO E CARREAMENTO DAS GORDURAS	26
3.3	ESPERMATOGÊNESE E TESTOSTERONA.....	27
3.4	ÓLEOS VEGETAIS	29
3.4.1	Óleo de soja.....	29
3.4.2	Óleo de arroz	30
3.5	GAMA-ORIZANOL.....	31
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.1	LOCAIS.....	36
4.2	ANIMAIS	36
4.3	DIETAS.....	37
4.4	AVALIAÇÕES DO ESCORE CORPORAL E DO GANHO DE PESO	39
4.5	COLHEITA E ANÁLISE DAS AMOSTRAS SEMINAIS	39
4.6	COLHEITA E ANÁLISE DAS AMOSTRAS PLASMÁTICAS	40
4.7	COLHEITA DE FEZES E ANÁLISE BROMATOLÓGICA	40
4.8	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	41
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1	ACEITABILIDADE	42
5.2	GANHO DE PESO E ESCORE CORPORAL	43
5.3	DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES.....	47

5.3.1	Digestibilidade aparente da matéria seca e matéria orgânica.....	48
5.3.2	Digestibilidade aparente da proteína bruta	50
5.3.3	Digestibilidade aparente do extrato etéreo	52
5.3.4	Digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro e da fibra em detergente ácido	54
5.4	LIPÍDEOS PLASMÁTICOS.....	57
5.4.1	Colesterol total, HDL-C, LDL-C e VLDL-C	57
5.4.2	Triglicérides	63
5.5	TESTOSTERONA PLASMÁTICA.....	65
5.6	QUALIDADE ESPERMÁTICA	67
5.6.1	Volume espermático	68
5.6.2	Motilidade espermática	70
5.6.3	Vigor espermático.....	72
5.6.4	Concentração espermática.....	74
5.6.5	Patologias espermáticas.....	76
6	CONCLUSÃO.....	78
	REFERÊNCIAS	79

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a nutrição e o manejo dos eqüinos têm sido extensivamente estudados devido ao crescimento da criação em todo o mundo e a popularização da equitação como esporte e lazer. Com um rebanho de aproximadamente seis milhões de cabeças, o Brasil ocupa o terceiro lugar na produção mundial de eqüídeos, atrás somente da China e do México.

Dessa forma, o mercado eqüestre tem sofrido grandes avanços, seja no setor econômico como no tecnológico, na busca por nova variedade de produtos, que vão desde insumos alimentícios até materiais para a prática esportiva. Entre esses insumos alimentícios existem novos tipos de alimentos, com variados níveis de energia e proteína, aceitabilidade, rações próprias para animais convalescentes, aperitivos, assim como novos e diferentes suplementos, principalmente os energéticos.

Dentre esses novos suplementos, encontra-se em expansão o uso do óleo de arroz, que contém naturalmente gama-orizanol, uma substância que vem sendo utilizada devido às suas propriedades antioxidantes e hipocolesterêmicas já demonstrada em várias pesquisas.

De maneira geral, os lipídeos têm sido classificados como fontes alternativas de energia prontamente disponível para o consumo, e em sua maioria, são alimentos de boa aceitabilidade para os cavalos. A utilização de óleo na dieta de eqüinos tem por finalidade aumentar a densidade energética da dieta, fornecer ácidos graxos essenciais, aumentar a absorção de vitaminas lipossolúveis, e reduzir a poeira das refeições. Além disso, parece ser uma alternativa eficiente para as categorias de alta exigência energética, pois supri-las utilizando apenas carboidratos exigiria grandes quantidades desses nutrientes, que se oferecidos em excesso, poderiam trazer consequências indesejáveis, como transtornos gastrintestinais ou laminite, por exemplo.

O número de pesquisas envolvendo eqüinos e gama-oryzanol são bem reduzidos quando comparados à imensa quantidade de pesquisas realizadas pela indústria cosmética, farmacêutica e alimentícia.

2 OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivos verificar o efeito da suplementação com óleo de arroz semi-refinado com alto teor de gama-orizanol, na dieta de garanhões, sobre a aceitabilidade da dieta, escore corporal, ganho de peso, digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta, valores plasmáticos de colesterol total, HDL-C, LDL-C e VLDL-C, além da qualidade espermática e testosterona plasmática.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FISIOLOGIA DIGESTIVA EQUINA

A classificação dos eqüinos, segundo sua anatomia digestiva, é definida como herbívoros não ruminantes, ou ainda sendo mais específica, como herbívoros ceco funcionais. Esta característica anatômica e fisiológica permite que os eqüinos absorvam os carboidratos solúveis presentes nos alimentos, especialmente nos concentrados energéticos, antes da ação bacteriana do intestino grosso (RAMOS, 2003).

A ingestão é modulada através de estímulos pré-gastricos, como sabor, textura e odor, considerando que a duração de saciedade é principalmente determinada através de aspectos metabólicos e gastrintestinais (RALSTON, 1984).

O processo digestivo começa com a apreensão dos alimentos pelos lábios e língua, sendo também utilizados os dentes incisivos na ingestão de substâncias mais firmes como tubérculos e ramos. Na boca, especificamente com dentes molares e pré-molares, esmagam e moem os alimentos, disponibilizando proteínas e carboidratos que podem ser prontamente digeridos (MEYER, 1995). O processo mastigatório dos eqüinos é extremamente eficiente, quebrando os carboidratos estruturais, aqueles constituintes da parede celular, em partículas menores, o que facilitará a ação da microbiota cecal posteriormente no intestino grosso (TISSERAND, 1983).

A saliva é secretada na boca e depende da quantidade e composição do alimento ingerido para sua produção. Não contém enzimas digestivas como alfa-amilase, porém possui outras funções importantes, como carrear bicarbonato e proteger o pH do estômago, considerando que o alto conteúdo de muco na saliva previne variações bruscas e auxilia no deslocamento da digesta. A proteção contínua da porção proximal do estômago permite uma tênue fermentação microbiana com produção de lactato oriundo de carboidrato fermentável. Este lactato será absorvido no intestino delgado ou convertido à ácido graxo volátil (AGV) no intestino grosso (FRAPE, 1986).

Devido ao pequeno estômago do cavalo, em torno de 8 a 18 litros ou 10 % do trato digestivo, os alimentos não permanecem no estômago por mais de duas horas, esvaziando-se de seis a oito vezes por dia e o bolo alimentar é estratificado, sendo que a ordem de chegada dos alimentos é condicionada pela ordem de saída, permanecendo somente o último terço do bolo que sofrerá com maior intensidade a ação do suco gástrico (WOLTER, 1977). Apesar de no estômago não ocorrer digestão significativa, o funcionamento deste como regulador do trânsito intestinal é um dos fatores determinantes à digestão do amido e das proteínas no intestino delgado (TISSERAND, 1983). O compartimento distal do estômago é mais análogo ao de outros monogástricos, com secreção de ácido clorídrico que diminui o pH a um nível onde a fermentação bacteriana é inibida. Junto com o ácido clorídrico, há secreção de pepsina para quebrar as proteínas (JACKSON, 1998). O esfíncter da região cárdia que controla a entrada do estômago, aceita o fluxo alimentar somente em um sentido, não permitindo o refluxo. Conseqüentemente, tal fato incapacita o alívio de pressão, caso aconteça uma fermentação mais intensa e duradoura (PILLINER, 1995).

Wolter (1981) cita que a parede do intestino delgado é muito musculosa, rígida e ricamente enervada, propiciando a geração de fortes ondas de contração facilitando assim a progressão do conteúdo intestinal associada a sua grande fluidez resultante do sinergismo das secreções salivar, gástrica, pancreática, biliar e entérica. O intestino delgado possui na sua porção inicial (duodeno) uma mucosa constituída de vilosidades, que por sua vez possuem microvilosidades com função de aumentar a superfície de absorção. O pâncreas secreta seu suco que, com produção constante, porém de baixa concentração de enzimas, ajuda na digestão de nutrientes. O suco pancreático, devido à presença de álcalis e bicarbonatos, funciona como tampão para neutralizar os ácidos oriundos do estômago e os produzidos no cólon. A bile é liberada de forma contínua sem concentração prévia, pois falta no cavalo a vesícula biliar. O fluxo do intestino delgado gira em torno de 20 centímetros por minuto, demorando aproximadamente uma hora e meia para percorrê-lo, dependendo de fibra ingerida sendo que, quanto maior a porcentagem de concentrado maior o tempo de trânsito (MEYER, 1995). Segundo Tisserand (1983), é no intestino delgado que o cavalo digere a maior parte do amido e das proteínas alimentares.

O intestino grosso do cavalo compreende seções volumosas, bem articuladas e compartimentalizadas. O número de microorganismos no conteúdo do intestino grosso do equino é semelhante ao encontrado no rúmen e retículo dos ruminantes. O intestino grosso, com volume de aproximadamente 130 litros para animais de 500 kg, e tempo de retenção entre 36 e 46 horas, é a mais significativa porção do trato digestivo dos equinos, o suficiente para ação da digestão microbiana. O ceco e a porção anterior do cólon são câmaras de fermentação das quais, semelhantes aos pré-estômagos dos ruminantes, onde bactérias, e também protozoários no ceco, degradam carboidratos estruturais não digeridos no intestino delgado. O número desses microorganismos é semelhante aos dos pré-estômagos dos ruminantes. Sua atividade depende principalmente do tipo e da quantidade de substrato proveniente do intestino delgado, da velocidade de trânsito e da capacidade de tamponamento de lúmen. Os microorganismos são capazes de sintetizar uma parte das vitaminas hidrossolúveis, tendo o equino uma boa capacidade de aproveitamento das vitaminas do complexo B e vitamina K (MEYER, 1995).

Neste local, são sintetizados AGV oriundos da fermentação da fibra, que podem contribuir constantemente para a demanda energética do animal, dependendo da composição da dieta, e pode prover de 30 a 70% dessas necessidades (MOORE-COLYER et al., 2000).

Não há nenhuma enzima produzida pelos mamíferos para a digestão da fibra, esta é realizada pela flora microbiana do ceco e cólon maior. A celulose e afins (carboidratos não solúveis) são quebradas por celulasas de origem microbiana com resultante síntese de AGV. Estes ácidos graxos, principalmente acetato, propionato e butirato, podem ser utilizados pelo animal como fonte de energia, sendo metabolizados de várias formas e derivando produtos finais distintos. O acetato é um AGV cetogênico, o que significa que é usado para sintetizar gordura. O Butirato também é chamado de cetogênico embora represente uma proporção menor dos AGV produzidos, enquanto que o propionato é gliconeogênico, isto é, pode ser utilizado para sintetizar glicose hepática ou glicogênio muscular (DE FOMBELLE, 1999).

3.2 DIGESTÃO E CARREAMENTO DAS GORDURAS

A primeira etapa da digestão das gorduras é a sua emulsificação e consiste no desdobramento dos glóbulos de gordura em partículas de tamanho menor, de modo que as enzimas digestíveis hidrossolúveis possam atuar sobre a superfície dos glóbulos, por intermédio da bile. A bile contém grandes quantidades de sais biliares e o fosfolípido lecitina. As partes polares das moléculas de ácidos biliares e lecitina são altamente solúveis em água, enquanto a maior parte das porções restantes dessas moléculas é muito solúvel em gordura. Por conseguinte, as porções lipossolúveis dissolvem-se na camada superficial do glóbulo de gordura, enquanto as porções polares que se projetam para fora são solúveis nos líquidos circundantes. Os glóbulos de gordura se tornam rapidamente fragmentáveis por agitação no intestino delgado, aumentando a área de superfície total das gorduras (ARGENZIO, 1996).

A enzima mais importante para a digestão dos triglicerídeos é a lipase pancreática, existente no suco pancreático. A maior parte dos triglicerídeos da dieta é desdobrada por esta enzima em ácidos graxos livres e 2-monoglicerídeos (BEITZ, 1996).

Os sais biliares quando em concentrações suficientemente altas, tem propensão a formar micelas, que consistem em pequenos glóbulos cilíndricos e esféricos. Os núcleos esteróis de sais biliares da micela sofrem agregação formando um pequeno glóbulo de gordura no meio da micela. Durante a digestão dos triglicerídeos, as porções gordurosas (tão rapidamente quanto à formação dos monoglicerídios e ácidos graxos livres) dissolvem-se na porção gordurosa central das micelas, reduzindo imediatamente a concentração desses produtos finais da digestão. As micelas então atuam como meio de transporte desses produtos até a borda-em-escova das células epiteliais intestinais, onde os monoglicerídios e os ácidos graxos livres sofrem difusão imediata através da membrana celular do enterócito para o interior da célula. Após liberar essas substâncias os sais biliares retornam ao quimo para serem repetidamente utilizados nesse processo de transporte (ARGENZIO, 1996).

Os ácidos graxos e monoglicerídios são reesterificados para triglicerídeos dentro do epitélio. Os triglicerídeos são então associados com colesterol, ésteres de

colesterol, fosfolipídeos e pequenas quantidades de proteína para formar quilomícrons (BEITZ, 1996).

As secreções biliares têm as funções de fornecer uma fonte de ácidos biliares que são necessários para a digestão e absorção de gorduras, auxiliar na excreção de certos metabólitos e drogas, e colaborar como tampão adicional na neutralização de íons no duodeno (ARGENZIO, 1996).

3.3 ESPERMATOGÊNESE E TESTOSTERONA

Segundo Amann (1993), a espermatogênese é um processo lento e cronológico envolvendo a transformação de uma célula-tronco, ou espermatogônia, em espermatozóide. O processo se inicia na parede dos túbulos seminíferos, a qual é revestida por espermatogônias, e termina com a liberação de espermatozóides maduros no lúmen dos túbulos seminíferos. A espermatogênese envolve proliferação mitótica, divisão meiótica e diferenciação da espermátide haplóide em espermatozóides.

A duração da espermatogênese é de, aproximadamente, 57 dias. O intervalo entre um efeito deletério a este processo e conseqüente declínio na qualidade seminal deve ser de pelo menos dois meses. Este mesmo período de tempo é requerido para a restauração da espermatogênese normal após a ocorrência de qualquer evento que influencie na mesma como, por exemplo, aumento da temperatura testicular ou administração de substâncias que influenciam a produção espermática (AMANN, 1993).

Amann (1993) relata que, dentro dos testículos, na lâmina basal dos túbulos seminíferos, e próximas aos vasos sanguíneos e linfáticos, encontram-se as células de Leydig. O papel primário destas células é a secreção de hormônios esteróides que regulam a função do epitélio seminífero, o eixo hipotalâmico-hipofisário e as glândulas sexuais acessórias.

As células de Leydig secretam constantemente quantidades mínimas de testosterona e vários outros hormônios. No entanto, periodicamente estas células são estimuladas a aumentar sua produção, ocorrendo de três a oito picos diários de testosterona, na maioria, mas não em todos os ganhões. As concentrações de

testosterona na veia testicular podem exceder 100 vezes a concentração típica de testosterona colhida na veia jugular. Esta alta concentração intra-testicular de testosterona é essencial para a espermatogênese normal, como demonstrado em várias espécies animais. No entanto, a concentração mínima necessária dentro do epitélio seminífero para este processo é desconhecida nos garanhões (AMANN, 1993).

A testosterona se desloca rapidamente pelo sistema vascular sangüíneo, onde também é importante para o desenvolvimento e manutenção da libido, atividade secretória dos órgãos sexuais acessórios e desenvolvimento das características corporais em geral associadas com o fenótipo masculino (STABENFELDT; EDVIST, 1996).

A secreção de testosterona pelas células de Leydig está sob o controle do hormônio luteinizante (LH). A secreção do LH, por sua vez, é controlada pela liberação episódica do hormônio liberador de gonadotropina (GnRH). A liberação do LH com certa frequência mínima é essencial para a secreção da testosterona, já que esta, sozinha, não é adequada para a continuação da espermatogênese. Um sensível sistema de retro-alimentação negativo opera entre a secreção de LH e testosterona. Aumentos na secreção de LH são seguidos, dentro de 30 a 60 minutos, por níveis aumentados de testosterona, que duram de uma até várias horas. A inibição por retro-alimentação negativa da secreção do LH pela testosterona é seguida por um conseqüente declínio na síntese de testosterona (STABENFELDT; EDVIST, 1996).

As características do sêmen são influenciadas pelo grau de estimulação sexual, frequência de ejaculação, idade, tamanho testicular, e método de coleta do sêmen. A estação do ano influencia tanto as características físicas e bioquímicas do sêmen quanto os níveis de hormônios sangüíneos, o comportamento sexual e a fertilidade de ambos os sexos. A produção de espermatozóides e a libido dos garanhões são maiores durante a primavera e o verão e menores durante o outono e o inverno. Essas variações na capacidade reprodutiva coincidem com a estação de monta natural das éguas. A concentração de testosterona plasmática dos garanhões também sofre influencia da estação e pode estar envolvida nas modificações das características seminais e comportamentais (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

3.4 ÓLEOS VEGETAIS

3.4.1 ÓLEO DE SOJA

A soja tem a sua origem na China e é conhecida desde 2.800 A.C. O seu nome originário é “Chian Jou”, posteriormente traduzido pelos japoneses como “So-Y-a”, sendo hoje conhecida mundialmente por soja (BUTOLO, 2002).

É uma planta dicotiledônea, da família *Leguminosae*, subfamília *Papilionoideae*, gênero *Glycine*. A espécie cultivada é a *Glycine max* (L.) (GRANER, 1964).

A soja é uma excelente fonte de proteína e ácidos graxos, ocupando posição de destaque na produção mundial de alimentos, sendo uma das mais importantes oleaginosas do mundo, com produção mundial registrada, em 2006, da ordem de 221 milhões de toneladas. Atualmente, a cultura da soja é realizada em praticamente todos os estados brasileiros, fazendo com que o Brasil seja o segundo maior produtor mundial, produzindo cerca de 57 milhões de toneladas na safra 2006/2007, ficando atrás somente dos Estados Unidos (TOGNI, 2008).

Durante o processamento industrial, a soja origina, inicialmente, o óleo bruto e o farelo, produtos de maior consumo. O farelo é utilizado, principalmente, na elaboração de rações, sendo a principal fonte de proteína para os animais. Dos óleos comestíveis consumidos no Brasil, o consumo de óleo de soja é o mais expressivo, correspondendo a mais de 90 % (SEGATELLI, 2008).

O óleo de soja é processado em três produtos básicos, que são: (1) óleo refinado comestível, utilizado como matéria-prima de margarinas, óleo de cozinha, maionese e temperos, gordura vegetal e produtos farmacêuticos; (2) óleo refinado para fins não alimentares, como ingrediente de velas, sabões, tintas, plásticos, lubrificantes, desinfetantes e inseticidas, além de matéria-prima para produção de biodiesel; e (3) lecitina de soja, utilizada em produtos químicos, cosméticos e têxteis, alguns alimentos e sorvetes (EMBRAPA, 2008).

Geralmente o óleo de soja é extraído com solventes orgânicos e apresenta cor amarela intensa. Sua principal utilização é como óleo comestível e para frituras, mas também é amplamente usado na fabricação de margarinas, sabonetes e

sabões (CORREA, 1984). Contém 38,72 % de ácido linoléico contra 11,47 % de ácido linolênico (MACHADO; FONTES, 2002).

3.4.2 ÓLEO DE ARROZ

O óleo de arroz é um subproduto das indústrias de beneficiamento de arroz (*Oryza sativa*), onde é feita a separação e processamento de derivados da casca, farelo e gérmen do endosperma do grão. O arroz é um dos mais importantes cereais produzidos no mundo, principalmente na Ásia e América Latina, onde a maior parte da população tem no arroz a base da sua alimentação. Devido à grande produção de arroz em muitos países, o óleo de arroz representa um grande potencial a ser explorado para produção de óleo comestível. Seu teor de óleo varia de 15 até 28 % dependendo da qualidade e tipo de farelo extraído do grão. Existem dois tipos de farelo de arroz: farelo de arroz parboilizado, obtido do beneficiamento de arroz parboilizado – com 20 % a 28 % de óleo; e farelo de arroz branco, obtido do beneficiamento de arroz branco – com 15 % a 20 % de óleo (MORETTO; FETT, 1998).

É de cor amarelo pálido, límpido (a 20°C), inodoro, com densidade variando entre 0,920 e 0,930, acidez em torno de 0,50, ponto de refratariedade a 20°C entre 1.471 e 1.475, sabor agradável, levemente adocicado (CICERO; GADDI, 2001) e ponto de fusão entre 135°C a 137°C (SCAVARIELLO; ARELLANO, 1998).

Os compostos saponificados do óleo de arroz contêm 65 – 70 % de água, 20 – 22 % de sabões, 2 – 2,5 % glicerídeos (principalmente triglicerídeos), e 7 – 7,5 % de matéria insaponificável (NARAYAN et al., 2006).

A fração insaponificável é composta principalmente de esteróis (43 %), álcoois triterpenos (28 %), 4-metil esteróis (10 %) e componentes polares menores (19 %) (CICERO; GADDI, 2001).

O óleo de arroz não contém somente ácidos graxos poliinsaturados, como o oléico (38,4 %), linoléico (34,4 %), linolênico (2,2 %), palmítico (21,5 %) e esteárico (2,9 %), como também é rico em outros compostos benéficos ao organismo (RUKMINI; RAGHURAM, 1991).

É uma rica fonte natural de vitamina E, contendo mais de 300 mg/kg. Os maiores componentes da vitamina E no óleo de arroz são α -tocoferol, α -tocotrienol, γ -tocoferol e γ -tocotrienol. O óleo de arroz também possui aproximadamente 3000 mg/kg de gama-orizanol (XU et al., 2001).

Muitos outros óleos vegetais contêm níveis variados de substâncias antioxidantes, mas apenas no óleo de arroz podemos encontrar o gama-orizanol (SCAVARIELLO; ARELLANO, 1998).

3.5 GAMA-ORIZANOL

O gama-orizanol foi descoberto no óleo de arroz em 1954 por Kaneko e Tsuchiya, no Japão, e inicialmente descrito como um único componente, mas estudos subseqüentes revelaram que ele não é uma substância simples, e sim uma variedade de esteril ferulatos chamados de α , β e γ -orizanol (SCAVARIELLO; ARELLANO, 1998). Destes, o gama-orizanol tem sido o mais estudado devido às suas propriedades benéficas à saúde, tais como redução do colesterol plasmático, inibição da agregação plaquetária, redução na biosíntese do colesterol hepático, redução da absorção do colesterol, aumento da excreção fecal de ácidos biliares, sendo utilizado na indústria farmacêutica e cosmética, assim como aditivo de alimentos, devido às suas propriedades antioxidativas (JULIANO et al., 2005).

Os componentes do gama-orizanol foram isolados e identificados por Xu e Godber (1999), como Δ^7 -estimastenil ferulato, estigmasteril ferulato, cicloarteril ferulato, 24-metileno cicloartanil ferulato, Δ^7 -campestenil ferulato, campesteril ferulato, Δ^7 -sitostenil ferulato, sitosteril ferulato, campestanil ferulato e sitostanil ferulato e estão demonstrados na figura 1.

Fonte: (XU; GODBER, 1999)

Figura 1 - Estrutura do gama-orizanol

O teor de gama-orizanol difere de acordo com a fonte do óleo de arroz, variando de 115 a 780 ppm, dependendo do grau e método de processamento (ROGERS et al., 1993).

Os problemas encontrados durante a extração do gama-orizanol são devidos principalmente às variações na composição dos compostos saponificados do óleo de arroz, que incluem impurezas, tais como: sabões, ceras, fosfolipídeos e glicolipídeos. As condições de processamento durante o refino e as variações sazonais na composição do óleo direcionam o tipo e a quantidade de impurezas extraídas com os compostos saponificados. As impurezas também podem afetar as condições de

processamento e dificultarem as etapas de beneficiamento, como extração, isolamento e purificação (NARAYAN et al., 2006).

O método de extração utilizado afeta o teor de gama-orizanol no óleo final. Com o refino alcalino, a maioria do gama-orizanol é removida, enquanto que com o refino físico permanecem 66 % do orizanol no óleo (ORTHOEFER, 2005).

Durante o refino alcalino (deacidificação), com alta adição de hidróxido de sódio, o gama-orizanol é transferido para os compostos saponificados, juntamente com os sais de sódio. Dessa forma, os benefícios nutricionais do óleo são perdidos, enquanto que o óleo de arroz refinado fisicamente possui resposta plasmática lipídica similar àquela do óleo bruto. Experimentos clínicos não têm sido realizados com óleo de arroz com alto teor de gama-orizanol (ORTHOEFER, 2005).

A figura 2 compara o teor de gama-orizanol presente no óleo de arroz bruto em relação aos processamentos alcalino e físico.

Fonte: (ORTHOEFER, 2005)

Figura 2 - Teor de γ -orizanol de acordo com o tipo de refino

O gama-orizanol está presente no farelo de arroz em quantidades 13 a 20 vezes maiores do que o total de tocoferóis e tocotrienóis, já foram demonstrados sua capacidade de reduzir os níveis de colesterol plasmático em humanos e animais, possuir atividade antiinflamatória, e inibir a oxidação do colesterol *in vitro* (CHEN; BERGMAN, 2005).

Nanua et al. (2000) obtiveram efeito significativo com uso de gama-orizanol na concentração de 0,1 % com o intuito de retardar a oxidação do leite em pó integral, além de aumentar os níveis de vitamina E, sem afetar suas características sensoriais.

Um estudo proposto por Leiri et al. (1982) verificou que uma simples injeção subcutânea de 20 mg/kg de gama-orizanol suprimiu a síntese do GH e liberação de prolactina uma hora após sua administração. O gama-orizanol aumentou significativamente a liberação de nor-epinefrina pelo núcleo hipotalâmico central, explicando as variações nos níveis plasmáticos de GH e prolactina, sugerindo que este componente do óleo de arroz pode afetar a síntese e/ou a liberação de pelo menos dois neurotransmissores hipotalâmicos, a dopamina e a norepinefrina, resultando em alterações na síntese e/ou liberação dos hormônios da hipófise anterior.

Tamagawa et al. (1992a,b) demonstraram *in vivo* a não-toxicidade e não-carcinogenicidade do gama-orizanol em ratos e cobaias. Nestes estudos, grupos de 50 machos e 50 fêmeas foram submetidos a uma dieta contendo zero (controle), 200, 600 ou 2000 mg de gama-orizanol (kg/peso vivo/dia) durante 78 semanas (cobaias) ou dois anos (ratos) e em nenhum dos tratamentos houveram mudanças significativas na hematologia, peso dos órgãos, condição geral, peso corporal, consumo alimentar, mortalidade, ou incidência tumoral.

A nutrição e o estado nutricional podem ter profundos efeitos na função imunológica. Neste sentido, certos nutrientes podem regular a função imune e tanto a deficiência ou o excesso destes pode afetar adversamente o número e a atividade das células do sistema imunológico. Sierra et al. (2005) estudaram o efeito do óleo de arroz sobre a resposta imune de camundongos. Utilizando como controle o óleo de girassol, foi demonstrado que linfócitos B e T tiveram significativo aumento no tratamento com dieta à base de óleo de arroz, onde também foi demonstrado aumento na resposta imune dos macrófagos.

Fry et al. (1997) testaram a efetividade da suplementação oral (500 mg/dia) de gama-orizanol em homens fisiculturistas. Não foi observada nenhuma diferença significativa para os níveis de hormônios circulantes (testosterona, cortisol, estradiol, GH, insulina, beta-endorfina), minerais (cálcio e magnésio), albumina ou lipídeos sanguíneos. Os resultados mostraram que a suplementação oral de 500 mg/kg de

gama-orizanol durante nove semanas não interferiu no desempenho físico ou nos parâmetros fisiológicos relatados.

Além de todas estas aplicações, já foi demonstrado que o óleo de arroz também pode ser fonte de biocombustível (KASIM et al., 2007).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e as metodologias utilizados neste trabalho estão descritos nos itens que se seguem.

4.1 LOCAIS

O experimento foi realizado nas dependências do Setor de Equideocultura do *campus* de Pirassununga da Universidade de São Paulo, no Laboratório de Biotecnologia do Sêmen e Andrologia, do Departamento de Reprodução Animal, e no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal, ambos pertencentes à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade de São Paulo – Campus Administrativo de Pirassununga. As análises de lipídeos plasmáticos e de testosterona foram realizadas no Laboratório São José, situado no município de Pirassununga / SP.

4.2 ANIMAIS

Em 60 dias de experimento, foram utilizados seis garanhões, de raças variadas, com idade entre 3 – 18 anos e peso inicial médio de $472,67 \pm 90,48$ kg, previamente imunizados contra tétano, vermifugados e pulverizados contra ectoparasitas. Os animais foram alojados em baias individuais de alvenaria, com 12 metros quadrados e piso de concreto forrado com serragem. Para evitar os efeitos causados pelo estresse do confinamento, os garanhões foram soltos pelo menos três dias por semana.

4.3 DIETAS

As dietas foram compostas por feno de Tifton (*Cynodon dactylon*), e concentrado comercial (Tabela 1), adotando-se o consumo diário individual de 2 % do peso vivo (PV) em matéria seca (MS), sendo 40 % concentrado e 60 % volumoso, fornecidos em cochos separados, além de sal mineralizado e água *ad libitum*, seguindo as recomendações estabelecidas no Equine Nutrient Requirements, NRC (1989) para equinos nesta categoria nutricional.

O concentrado foi fornecido às 07h00min e às 17h00min, e o feno às 09h00min e às 16h00min. Os animais foram divididos em dois grupos de tratamento (Tabela 2), um com óleo de soja (controle), e outro com óleo de arroz. Todos os animais receberam 150 mL do óleo vegetal (de acordo com seu tratamento) pela manhã, e mais 150 mL à tarde, adicionado ao concentrado, no cocho.

O óleo de arroz utilizado foi refinado através de processo físico e continha 1,1 % de gama-orizanol¹. O concentrado comercial utilizado possuía os seguintes ingredientes: milho integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, farelo de arroz, farelo de gérmen de milho, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, melaço, premix mineral e vitamínico, antioxidante (etoxiquim), antifúngico (ácido propiônico).

¹ GAMAHORSE® – Helmut Tessmann Indústria e comércio de óleos vegetais Ltda.

Tabela 1 - Composição bromatológica dos nutrientes da dieta (%)

	Concentrado	Feno
Matéria seca	89,02	87,77
Proteína Bruta	14,45	17,48
Extrato Etéreo	4,57	1,84
Fibra Bruta	6,92	29,63
Matéria Mineral	15,23	7,31
Cálcio	2,38	0,43
Fósforo	0,96	0,25
Amido	20,66	0,31
Fibra em detergente neutro	32,41	78,94
Fibra em detergente ácido	11,96	35,63

Tabela 2 – Divisão dos animais e tratamentos

ANIMAL	PESO INICIAL (kg)	IDADE (anos)	TRATAMENTO
1	541	16-17	Arroz
2	395	8-9	Arroz
3	379	17-18	Arroz
4	609	8-9	Soja
5	422	3-4	Soja
6	490	8-9	Soja

4.4 AVALIAÇÕES DO ESCORE CORPORAL E DO GANHO DE PESO

Para verificar o ganho de peso, os animais foram pesados em balança mecânica com 0, 15, 30, 45 e 60 dias de tratamento, e o escore corporal foi avaliado de acordo com o modelo proposto por Henneke (1983), o qual classifica os animais em escala de 1 – 9, dependendo da quantidade de gordura depositada em seis áreas específicas do corpo: pescoço, espádua, costelas, coluna, lombo e garupa.

4.5 COLHEITA E ANÁLISE DAS AMOSTRAS SEMINAIS

Foram realizadas colheitas de sêmen a cada quinze dias, durante o período experimental de 60 dias, para avaliação da qualidade espermática. Previamente à colheita, era realizada higienização do pênis com algodão umedecido a 33°C. Utilizando vagina artificial modelo Missouri, com temperatura interna de 42°C, e de “égua-manequim” devidamente contida e em estro, era procedida a colheita. O sêmen era encaminhado para o laboratório, sendo efetuada a filtragem para separação da fração gelatinosa, mensuração do volume, cálculo da concentração espermática, avaliação da motilidade total, vigor e separação de amostra em formol salino tamponado para avaliação posterior das características morfológicas.

O volume foi determinado pela leitura direta em proveta de 150 mL, pré-aquecida a 37°C.

A motilidade total e o vigor foram avaliados em uma gota de sêmen *in natura* entre lâmina e lamínula (pré-aquecidas a 37°C) sob microscopia óptica em aumento de 100x. A motilidade foi dada pela estimativa visual da porcentagem de células em movimento, enquanto que o vigor foi referente à velocidade progressiva uniforme das células em movimento, classificado em escores de 1 a 5, sendo o escore 1 o mais lento e aumentando gradativamente até o escore 5, correspondendo ao mais rápido movimento progressivo uniforme.

A concentração espermática foi determinada, em milhões de espermatozóides por mililitro, com auxílio de Câmara de Neubauer, sob microscopia óptica comum em

aumento de 400x. Para a leitura, o sêmen foi diluído na proporção de 1:100, ou seja, 10 µL de sêmen: 990 µL de formol salino tamponado.

As características morfológicas dos espermatozóides foram avaliadas pela técnica de câmara úmida. Para isso, o sêmen foi diluído e fixado em formol salino tamponado, previamente aquecido (37°C). Uma gota do sêmen diluído entre lâmina e lamínula, pré-aquecidas a 37°C, foi preparada e a avaliação foi realizada pela contagem de 200 células em aumento de 1.000X sob microscopia de contraste de interferência diferencial. As porcentagens das diversas anormalidades morfológicas foram agrupadas e classificadas em defeitos maiores e defeitos menores.

4.6 COLHEITA E ANÁLISE DAS AMOSTRAS PLASMÁTICAS

Para as análises dos valores plasmáticos de colesterol total, HDL-C, VLDL-C, LDL-C, triglicérides e testosterona, foram colhidas amostras sanguíneas a cada quinze dias, sempre às 07h30min da manhã, através de punção da veia jugular, em tubo com sistema de vácuo, sem anticoagulante com capacidade para 10 mL, sendo encaminhadas ao laboratório no prazo máximo de trinta minutos. A análise de testosterona plasmática foi realizada através da técnica de Radioimunoensaio descrita por Lox (1974). Utilizou-se o método colorimétrico-enzimático (LOWRY, 1977) para avaliação da concentração de colesterol total, HDL-C e triglicérides. O LDL-C e VLDL-C foram calculados, respectivamente, pelas fórmulas $[(\text{colesterol} - \text{HDLcolesterol}) - (\text{triglicerídeos}/5)]$ e $\text{triglicerídeos}/5$.

4.7 COLHEITA DE FEZES E ANÁLISE BROMATOLÓGICA

A avaliação da digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta foi realizada através do método de colheita total de fezes, na última quinzena de tratamento, quando os animais passaram por três dias de colheita. Neste período os animais permaneceram sem a “cama” de serragem nas baias. Todas as fezes foram colhidas, acondicionadas em sacos plásticos individuais, identificados por animal, e

pesadas diariamente. Do total excretado, após homogeneização (do total das fezes dos três dias de colheita de cada animal) foi retirada uma fração de 10 %, armazenada em saco plástico, identificado, e congelada para posterior análise.

Ao final do tratamento, todas as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente, homogeneizadas manualmente, pesadas e secas em estufa de ventilação forçada a 65°C, por 72 horas, sendo posteriormente retiradas da estufa, deixadas à temperatura ambiente, novamente pesadas, e calculada a matéria seca original (SILVA, 2002). Logo após foram moídas em moinho com peneira de 1 mm² e acondicionadas em sacos plásticos que permaneceram fechados até o momento da análise.

A proteína bruta (PB) foi determinada através do método micro Kjeldahl; o extrato etéreo (EE) determinado pela extração da gordura presente na amostra, no período de 8 horas, utilizando-se éter de petróleo como solvente em extrator Soxlet; as análises de matéria seca (MS) e matéria orgânica (MO) foram realizadas segundo a metodologia descrita por Silva (2002), enquanto que as análises de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) seguiram os procedimentos descritos por Van Soest et al. (1991).

4.8 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental aplicado foi inteiramente casualizado com dois tratamentos, óleo de soja e óleo de arroz, com três repetições por tratamento, e com medidas repetidas no tempo.

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados estatisticamente por meio de análise de variância do programa *Statistical Analysis System* (SAS, 1995), PROC MIXED, e as médias foram comparadas considerando-se o nível de 5 % de significância.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ACEITABILIDADE

Nos tratamentos propostos todo concentrado fornecido foi consumido, dentro de aproximadamente uma hora, sendo bem aceito pelos animais, não havendo sobras. Não foi observada modificação na consistência das fezes nem distúrbios gastrintestinais durante o período experimental.

A maioria dos cavalos aceita prontamente a suplementação de aproximadamente 10 % de gordura na dieta, enquanto outros podem demorar de três a cinco refeições para retornarem ao comportamento alimentar habitual, desde que a gordura seja de boa qualidade e que não esteja rancidificada (POTTER, 1995).

Resultados de Holland et al. (1996) indicam que dietas contendo 15 % de óleo de milho são bem aceitas pelos cavalos, e Delobel et al. (2008) demonstraram que o óleo de linhaça é prontamente aceito na taxa de 8% de incorporação ao concentrado. Hambleton et al. (1990) acrescentaram gorduras na proporção de 20 % na ração total e 30 % na mistura de grãos sem encontrar efeitos adversos, porém níveis mais altos diminuíram a aceitabilidade e causaram fezes mais pastosas. Pastori (2007), trabalhando com óleo de soja para eqüinos, não observou diferença sobre a aceitabilidade de dietas contendo 5, 10, 15 ou 20 % de óleo de soja.

Segundo Potter (1995), os cavalos têm maior aceitabilidade para óleos vegetais de alta qualidade do que os de menor qualidade ou de gordura animal, embora Ribeiro (2007) não tenha observado diferença na aceitabilidade da dieta em tratamentos com óleo mineral ou gordura animal.

Quando comparado ao óleo de milho, os óleos de amendoim e girassol foram moderadamente aceitos, enquanto que o óleo de algodão e o sebo bovino foram considerados intoleráveis pelos cavalos (PAGAN et al., 1993).

5.2 GANHO DE PESO E ESCORE CORPORAL

Os resultados obtidos estão demonstrados na tabela 3. Os garanhões suplementados com óleo de arroz e óleo de soja obtiveram, respectivamente, ganho médio de peso vivo na ordem de 6,98 e 3,29 %, com ganho diário de 0,1166 e 0,0549 % em relação ao peso individual.

A figura 2 ilustra o ganho total de peso e o ganho de peso em relação ao peso individual, e a figura 3 ilustra o ganho médio diário e a porcentagem em relação ao peso vivo (PV).

Foi observada melhora do escore corporal nos garanhões tratados com o óleo de arroz, sendo o escore inicial médio de 4,65 para os dois tratamentos e o escore final de 5,67 para o óleo de soja e 7,0 para o óleo de arroz.

Pela adição de gordura na dieta, ou seja, de uma fonte energética, esperava-se ganho de peso dos animais, o que de fato foi comprovado ao longo do tratamento, como já reportado em outras pesquisas (SCOTT et al., 1989; DAVISON et al., 1991). Apesar disso, foi verificado que no tratamento com óleo de arroz, os animais ganharam mais peso do que os do tratamento com óleo de soja, refletindo o possível efeito anabólico do gama-oryzanol, substância presente apenas no óleo de arroz. Segundo Cicero e Gaddi (2001), muito do consumo de gama-orizanol por humanos ocorre pela crença de que este pode gerar efeitos anabólicos, que variam do aumento na produção e liberação de testosterona, à estimulação na liberação do GH.

Harkins et al. (1992) observaram que os eqüinos podem receber dietas contendo mais de 30 % de energia digestível na forma de lipídeos sem desenvolver problemas gastrintestinais, e a adição de óleo é uma excelente forma de aumentar a energia da dieta sem aumentar o volume da mesma. Numerosos trabalhos (RICH et al., 1981; HAMBLETON et al., 1990; POTTER et al., 1992; KRONFELD et al., 1994; HOLLAND et al., 1996) apontam os benefícios de incluir gorduras na formulação de dietas para eqüinos, podendo-se assim elevar a densidade energética da mesma, sem os possíveis riscos do aumento de quantidade do concentrado oferecido.

Tabela 3 – Ganho de peso médio (kg), porcentagem de ganho de peso em relação ao peso vivo, ganho médio diário (kg) e porcentagem do ganho médio diário em relação ao peso vivo

	Ganho Peso	% PV	Ganho Diário	% Ganho Diário
Óleo de Soja	17,00	3,29	0,2834	0,0549
Óleo de Arroz	32,33	6,98	0,5390	0,1166

Figura 3 - Ganho total de peso e ganho de peso em relação ao peso individual

Figura 4 - Ganho médio diário e porcentagem em relação ao peso vivo (PV)

5.3 DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES

Os valores médios da digestibilidade aparente da dieta para os diferentes tratamentos, o desvio padrão (DP) e a probabilidade estatística (P) estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4 – Valores médios da digestibilidade aparente da dieta (%) para os tratamentos com óleo de soja e de arroz

VARIÁVEL	TRATAMENTO		DP	P
	ÓLEO DE SOJA	ÓLEO DE ARROZ		
DAMS	64.34	58.97	5.02	0.2204
DAMO	68.03	62.61	4.76	0.1849
DAPB	71.95	66.96	4.53	0.2045
DAEE	83.37	81.94	2.87	0.6011
DAFDN	62.15	54.85	5.76	0.1266
DAFDA	55.05	45.87	6.39	0.0628

Segundo Carvalho (1992), a digestibilidade aparente se refere à proporção do alimento ingerido possível de ser digerida e absorvida no trato gastrintestinal; portanto, quanto maior a digestibilidade de uma refeição, maior será a quantidade de nutrientes fornecidos para os processos de manutenção, crescimento, reprodução e trabalho.

5.3.1 Digestibilidade aparente da matéria seca e da matéria orgânica

Os valores encontrados para a digestibilidade aparente da matéria seca (DAMS) e da matéria orgânica (DAMO) foram respectivamente, de 64,34 e 68,03 % para o tratamento com óleo de soja, e de 58,97 e 62,61 % para o tratamento com óleo de arroz, e estão ilustrados na figura 5. Não foi encontrada diferença entre os tratamentos.

Como os animais tiveram livre acesso ao sal mineral, não foi possível controlar a quantidade de minerais que cada animal ingeriu, o que possivelmente pode ter refletindo sobre os valores da DAMS e DAMO.

Trabalhando com diferentes fontes de óleo vegetal para eqüinos, Moreira (2008) obteve valores para DAMS e DAMO no tratamento com óleo de soja, de 66,40 e 67,52 %, respectivamente, estando bem próximo aos resultados deste experimento, para o tratamento com óleo de soja. Da mesma forma, Jansen et al. (2000) obtiveram 62,5 % de DAMS adicionando óleo de soja à dieta de eqüinos.

Pastori (2007), avaliando níveis crescentes de óleo de soja na dieta para eqüinos, observou aumento da digestibilidade até o nível de inclusão de 10,74 % de óleo de soja, com 66,73 % da DAMO.

Discordando destes valores, Julen et al. (1995) obtiveram 88,32 % de DAMS em experimento contendo 10 % de óleo de soja na dieta, e trabalhando com óleo de milho, McCann et al. (1987) obtiveram 76,87 % de DAMS.

Figura 5 - Digestibilidade aparente da Matéria Seca (MS) e da Matéria Orgânica (MO)

5.3.2 Digestibilidade aparente da proteína bruta

Os tratamentos com óleo de soja e de arroz apresentaram valores para digestibilidade aparente da proteína bruta (DAPB) de 71,95 e 66,96 %, respectivamente, e estão ilustrados na figura 6. Não se observou diferença entre os tratamentos.

Trabalhando com óleo de milho, McCann et al. (1987) relataram 78,59 % de DAPB, enquanto que Resende Júnior et al. (2004) obtiveram 61,25 % de DAPB adicionando 250 mL de óleo de milho à dieta de equinos. Ambos não observaram diferença na DAPB. Bowman et al. (1977); Rich, Fontenot e Meacham (1981); Webb, Potter e Evans (1987) e Bush et al. (2001) não obtiveram diferença da digestibilidade da proteína bruta em dietas suplementadas com gordura quando comparadas a dietas não suplementadas.

Por outro lado, Julen et al. (1995) obtiveram aumento significativo da DAPB para dietas contendo 10 % de óleo de soja (74,78 %) em relação à dieta controle (70,85 %). Segundo Jansen (2002), a entrada de maior quantidade de gordura no ceco pode diminuir o crescimento microbiano e ocasionar menor saída de proteína microbiana nas fezes, fato que por si só poderia aumentar a digestibilidade aparente da proteína bruta.

Meyer, Flothow e Radicke (1997), trabalhando com cavalos com fistula na porção distal do íleo, observaram diminuição da DAPB no intestino delgado devido à inclusão de gordura na dieta, porém, os mecanismos ainda não estão esclarecidos.

Figura 6 - Digestibilidade aparente da Proteína Bruta (PB)

5.3.3 Digestibilidade aparente do extrato etéreo

Os tratamentos com óleo de soja e de arroz apresentaram valores para digestibilidade aparente do extrato etéreo (DAEE) de 83,37 e 81,94 %, respectivamente, e estão ilustrados na figura 7. Não foi observada diferença entre os tratamentos.

Webb, Potter e Evans (1987), compararam dieta sem adição de gordura com dieta suplementada com óleo vegetal e apresentaram valores para DAEE de 82,5 e 82,6 %, respectivamente, não demonstrando diferença entre os tratamentos, e estando próximos dos resultados deste experimento.

Por outro lado, Jansen et al. (2000) observaram aumento significativo da DAEE em cavalos suplementados com óleo de soja (62,5 %), assim como McCann et al. (1987) que obtiveram 79,41 % de DAEE em pôneis suplementados com óleo de milho na dieta.

Kane, Baker e Bull (1979); Scott et al. (1989); Hughes et al. (1995); Julen et al. (1995) e Bush et al. (2001) também encontraram aumento significativo para a digestibilidade aparente do extrato etéreo ao adicionar óleos a dieta.

Figura 7 - Digestibilidade aparente do Extrato Etéreo (EE)

5.3.4 Digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro e da fibra em detergente ácido

Os valores encontrados para digestibilidade aparente da FDA (DAFDA) e da FDN (DAFDN) foram respectivamente, de 55,05 e 62,15 % para o tratamento com óleo de soja, e de 45,87 e 54,85 % para o tratamento com óleo de arroz, e estão ilustrados na figura 8.

Embora não tenha havido diferença entre os tratamentos ao nível de significância proposto (5 %), foi observada menor DAFDA ($p=0,0628$) para o tratamento com óleo de arroz, o que pode ter ocorrido em consequência do processo de extração do óleo. Neste experimento foi utilizado óleo de arroz extraído por processo físico, com a finalidade de preservar o teor de gama-orizanol. Segundo Orthoefer (2005), o método de extração empregado afeta o teor de gama-orizanol. No refino alcalino a maioria do gama-orizanol é removida, enquanto que com o refino físico permanecem 66 % no óleo. Por outro lado, quando se realiza somente o refino físico, impurezas como ceras, gomas, e/ou pigmentos permanecem no óleo, o que pode ter prejudicado o processo de digestão da fibra.

As gorduras suplementadas à dieta são bem digeridas pelos eqüinos e são primordialmente degradadas e absorvidas no intestino delgado, porém, uma porcentagem pode escapar desse processo e alcançar o ceco e cólon. A presença de gordura no ceco pode inibir a atividade celulolítica da microflora cecal por mecanismos semelhantes aos que ocorrem no rúmen de bovinos, onde há menor ligação das bactérias celulolíticas à parede celular da fibra e também toxicidade à microflora (PALMQUIST; JENKINS, 1980), prejudicando a utilização da fibra e consequentemente, diminuindo a DAFDN e DAFDA. De acordo com Czerkawski e Clapperton (1984) o efeito da gordura na fermentação microbiana da fibra é dose dependente, estimulando o crescimento em baixas concentrações e inibindo em altas, fenômeno que possivelmente explicaria os resultados conflitantes da literatura.

Várias pesquisas relatam que a inclusão de gordura na dieta de eqüinos com não altera a DAFDN (KANE et al., 1979; DAVISON et al., 1987; MCCANN et al., 1987; MEYERS et al., 1987), e a DAFDA (KANE et al., 1979; MCCANN et al., 1987; JULEN et al., 1995; RAMMERSTORFER et al., 1998).

Julen et al. (1995) e Webb et al. (1987) comparando dietas para eqüinos com inclusão de 10 % de sebo bovino com dietas sem inclusão de gordura observaram aumento da DAFDN. No entanto, esses autores utilizaram gordura animal, e segundo Galbrait et al. (1971) os ácidos graxos saturados são menos potentes em inibir o crescimento microbiano quando comparados aos poliinsaturados.

Segundo Harris (1997), essas respostas conflitantes ocorrem em virtude da utilização de animais de diferentes raças, idades, condições corporais, duração dos experimentos, e principalmente, das dietas.

Figura 8 - Digestibilidade aparente da Fibra em Detergente Ácido (FDA) e Fibra em Detergente Neutro (FDN)

5.4 LIPÍDEOS PLASMÁTICOS

5.4.1 Colesterol total, HDL-C, LDL-C e VLDL-C.

Os valores médios de colesterol total, HDL-C, LDL-C e VLDL-C para os tratamentos, o desvio-padrão (DP) e a probabilidade estatística (P) estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5 – Valores plasmáticos médios de colesterol total, HDL-C, LDL-C e VLDL-C (mg/dL) para os tratamentos com óleo de soja e óleo de arroz

VARIÁVEL	TRATAMENTO		DP	P
	ÓLEO DE SOJA	ÓLEO DE ARROZ		
COLESTEROL TOTAL	92,73	110,20	15,28	0,0251
HDL-C	61,47	66,73	5,74	0,0658
LDL-C	26,99	38,44	10,38	0,0291
VLDL-C	4,28	5,02	1,35	0,2202

Neste experimento foi verificado aumento dos valores médios de colesterol total, HDL-C, LDL-C e VLDL-C para o tratamento com óleo de arroz, em relação ao óleo de soja. Porém, somente foi observada diferença ($p < 0,05$) para os valores médios de colesterol total e de LDL-C no tratamento com óleo de arroz.

Frank et al. (2005) observaram diminuição do colesterol total e do LDL-C em dietas suplementadas com óleo de arroz bruto, oferecidas para éguas, após 5 semanas de adaptação. Já trabalhos realizados por McCann et al. (1987); Hambleton et al. (1990) e Hallebeek e Beynen (2002) afirmam que a adição de lipídeos na dieta não obteve nenhum efeito sobre os níveis de colesterol plasmático.

Embora tenha ocorrido aumento do colesterol total para o tratamento com óleo de arroz, os valores obtidos encontram-se dentro da normalidade para a espécie eqüina, que de acordo com Bruss (1980), variam de 75 a 150 mg/dL.

Da mesma forma, os valores médios encontrados para LDL-C apresentaram-se dentro dos valores reportados por Yamamoto et al. (1979), entre 24,36 e 38,87 mg/dL.

O efeito do óleo de arroz sobre a redução da concentração plasmática de colesterol total e LDL-C também foi demonstrado em ratos (RUKMINI & RAGHURAM, 1991; SUNITHA et al., 1997) e em humanos (WILSON et al., 2007).

Em relação ao HDL-C, os valores médios dos tratamentos com óleo de soja e com óleo de arroz foram, respectivamente, 61,47 e 66,73 mg/dL. A diferença entre os tratamentos aproximou-se do valor de significância proposto, de 5 % ($p = 0,0658$). Essa aproximação provavelmente está relacionada com a quantidade de HDL presente no colesterol total, visto que para os valores médios de colesterol total houve aumento significativo. Segundo Watson, Packard e Sheperd (1993), a maior parte do colesterol total se encontra em HDL-C, concordando com os dados observados neste experimento. Geelen (2001) observou correlação significativa ao aumentar os níveis de óleo na dieta e aumento de colesterol total e HDL.

Os dados obtidos para VLDL-C concordam com os de Yamamoto et al. (1979), que relataram médias de VLDL-C entre 0,77 a 3,09 mg/dL. De acordo com Pastori (2007) ao aumentar 1 % na inclusão de óleo de soja no concentrado, há aumento de 0,95 mg/dL na concentração plasmática de VLDL-C.

As figuras 9, 10, 11 e 12 ilustram, respectivamente, as concentrações plasmáticas de colesterol total, de HDL-C, LDL-C e VLDL-C.

Figura 9 - Concentrações plasmáticas médias de colesterol total

Figura 10 - Concentrações plasmáticas médias de HDL-C

Figura 11 - Concentrações plasmáticas médias de LDL-C

Figura 12 - Concentrações plasmáticas médias de VLDL-C

5.4.2 Triglicérides

Os valores médios de triglicérides plasmáticos dos tratamentos com óleo de soja e com óleo de arroz foram, respectivamente, 21,40 e 25,13 mg/dL, e estão ilustrados na figura 13.

Não foi observado efeito de tratamento ($p > 0,05$), nem de tempo ou interação do tempo com o tratamento para os valores séricos de triglicérides, que estão de acordo com aqueles encontrados por Bruss (1980) para a espécie eqüina, variando dentro da normalidade de 4 a 44 mg/dL.

Tabela 6 – Valores médios de triglicérides (mg/dL) para os tratamentos com óleo de soja e óleo de arroz

VARIÁVEL	TRATAMENTO		DP	P
	ÓLEO DE SOJA	ÓLEO DE ARROZ		
TRIGLICÉRIDES	21,40	25,13	6,74	0,2202

Pastori (2007) encontrou valores médios de triglicérides de 12,00 e 11,25 mg/dL para os níveis de 5 e 10 %, respectivamente, de inclusão de óleo de soja na dieta de eqüinos, enquanto Ribeiro (2007) obteve 17,50 mg/dL, e Moreira (2008) encontrou 19,93 mg/dL, ambos para tratamentos com inclusão de óleo de soja na dieta de eqüinos.

Geelen (2001) em trabalho realizado com eqüinos recebendo óleo de soja em quatro diferentes concentrações reportou que os valores de triglicérides não apresentaram diferença significativa, assim como Hallebeek & Beynen (2002), que não obtiveram alteração dos resultados de triglicérides entre dietas com adição de óleo de palma e de soja.

Figura 13 - Concentrações plasmáticas médias de triglicérides

5.5 TESTOSTERONA PLASMÁTICA

No tratamento com óleo da soja o valor médio de testosterona plasmática foi de 75,93 ng/mL, enquanto que para o tratamento com óleo de arroz foi de 62,13 ng/mL, não havendo diferença entre os tratamentos, nem em relação ao tempo ou interação de tempo com o tratamento.

Os valores médios de testosterona plasmática para ambos os tratamentos estão apresentados na tabela 7, e ilustrados na figura 14.

Tabela 7 – Valores médios de testosterona plasmática (ng/mL) para os tratamentos com óleo de soja e óleo de arroz

VARIÁVEL	TRATAMENTO		DP	P
	ÓLEO DE SOJA	ÓLEO DE ARROZ		
TESTOSTERONA	75,93	62,13	37,23	0,3120

Neste experimento, durante o tratamento, apenas um ciclo espermático (60 dias) foi analisado. Arlas (2008), suplementando a dieta de garanhões com óleo de arroz durante 80 dias, também não obteve diferença dos níveis plasmáticos de testosterona. Fry et al. (1997) não encontraram diferença na concentração plasmática de testosterona em humanos, após nove semanas de suplementação com gama-orizanol.

Almeida (2004) encontrou concentrações plasmáticas de testosterona variando entre 32,00 ng/mL e 78,53 ng/mL, para garanhões, e relata estarem dentro da amplitude da variação reportada pela literatura internacional.

Figura 14 - Concentrações plasmáticas médias de testosterona

5.6 QUALIDADE ESPERMÁTICA

Os valores médios dos tratamentos para volume, motilidade, vigor, concentração, defeitos maiores, defeitos menores e defeitos totais estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8 – Valores médios das características seminais, desvio-padrão (%) e probabilidade estatística (P) para os tratamentos com óleo de soja e óleo de arroz

VARIÁVEL	TRATAMENTO		DP	P
	ÓLEO DE SOJA	ÓLEO DE ARROZ		
VOLUME (mL)	71,87	78,67	32,12	0,5584
MOTILIDADE (%)	69,00	70,67	11,71	0,7325
VIGOR (1 – 5)	2,63	2,93	0,34	0,0670
CONCENTRAÇÃO (x 10 ⁶ eptz/mL)	123,00	115,67	54,44	0,7430
DEFMA (%)	17,73	17,96	12,35	0,9668
DEFME (%)	4,60	6,03	2,54	0,2072
DEFEITOS TOTAIS (%)	22,33	22,63	13,59	0,9620

5.6.1 VOLUME ESPERMÁTICO

No tratamento com óleo da soja o valor médio do volume espermático foi de 71,87 mL, enquanto que para o óleo de arroz foi de 78,67 mL (Figura 15), não havendo diferença entre os tratamentos, nem em relação ao tempo ou interação de tempo com o tratamento.

Arlas (2008), utilizando óleo de arroz na dieta de garanhões também não encontrou diferença no volume espermático.

Götze² (1949 apud ALMEIDA, 2004, p.35) encontrou valores médios de 101,5 mL por ejaculado em raças de “sangue alemão” (Hannoveriana, Trackener, Oldenburg, Holsteiner, Westfalen) e 47,5 mL por ejaculado na raça Puro Sangue Inglês.

Aehnelt³ (1950 apud ALMEIDA, 2004, p.35) observou grandes variações entre ejaculados eqüinos, obtendo valores desde 15 até 450 mL, assumindo valores entre 80 e 100 mL como volumes médios de referência.

Segundo Hafez e Hafez (2004), diversos fatores estão relacionados a esta variação, entre eles raça, particularidades individuais, tempo após última cobertura, idade, tempo de repouso sexual, época do ano, alimentação, manejo etc.

² GÖTZE, R. **Besamung und unfruchtbarkeit der haussäugetiere**. Hannover: Verlag & Schaper, 1949.

³ AEHNELT, E. **Das sperma des hengtes unter berücksichtigung Von umwelt und vererbung**. Tese (Livre Docência) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade de Hannover, 1950.

Figura 15 - Valores médios de volume espermático (mL)

5.6.2 Motilidade espermática

Os valores médios de motilidade espermática para os tratamentos foram de 69 % para o tratamento com óleo de soja, e de 70,67 % para o óleo de arroz (Figura 16), não havendo diferença entre os tratamentos, nem efeito de tempo ou interação do tempo com o tratamento.

Arlas (2008) observou aumento significativo na motilidade espermática de garanhões suplementados com óleo de arroz, durante 80 dias, quando comparados à garanhões sem suplementação de gordura na dieta, obtendo média de 59 % de motilidade.

Aehnelt⁴ (1950 apud ALMEIDA, 2004, p. 36) comparou as raças de sangue alemão com a raça PSI, e observou médias de motilidade total de 63 e 83 %.

No que se refere à época do ano, Pickett, Faulkner e Sutherland (1970) não obtiveram diferenças significativas entre as estações do ano (motilidade total média de 73 %), enquanto que Van Der Holst (1975) encontrou porcentagens médias de motilidade maiores na estação de monta, ou seja, primavera e verão. Já Squires, Pickett e Amann (1979) demonstraram que porcentagens maiores de motilidade espermática são encontradas em garanhões entre 4 e 6 anos (63,1 %), enquanto que animais mais jovens (2 a 3 anos) e animais mais velhos (9 a 16 anos) demonstram menores porcentagens de motilidade total (55,0 e 59,9 %, respectivamente).

Quanto à relação entre motilidade e fertilidade, Voss, Pickett e Squires (1981) demonstraram não haver tal relação em garanhões, desde que apresentem valores médios iguais ou acima dos padrões normais (motilidade igual ou superior a 70 %).

⁴ AEHNELT, E. **Das sperma des hengtes unter berücksichtigung Von umwelt und vererbung**. Tese (Livre Docência) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade de Hannover, 1950.

Figura 16 - Valores médios para motilidade espermática (%)

5.6.3 Vigor espermático

Os valores médios encontrados para vigor espermático foram de 2,63 para o tratamento com óleo de soja, e 2,93 para o tratamento com óleo de arroz e estão ilustrados na figura 17. Não foram encontradas diferenças entre os tratamentos, nem efeito de tempo ou interação do tempo com o tratamento.

Embora não tenha sido encontrada diferença para o vigor espermático ao nível de significância proposto, de 5 %, houve aumento do vigor para o tratamento de óleo de arroz em relação ao óleo de soja ($p=0,0670$).

De acordo com Papa (1987), na espécie eqüina, o vigor espermático não tem sido utilizado pelos pesquisadores como parâmetro de avaliação da fertilidade de garanhões. Em bovinos, o vigor espermático é um dos principais parâmetros para avaliação da qualidade seminal, indicando objetivamente a velocidade e força com que os espermatozóides se movimentam (MIES FILHO, 1987).

Figura 17 - Valores médios de vigor espermático

5.6.4 Concentração espermática

Os valores médios da concentração espermática dos garanhões tratados com óleo de soja foram de $123,00 \times 10^6$ espermatozóides (eptz) /mL, e aqueles tratados com óleo de arroz foram de $115,67 \times 10^6$ eptz/mL (figura 18), não havendo diferença entre os tratamentos, nem efeito de tempo ou interação do tempo com o tratamento.

Por outro lado, Arlas (2008) obteve significativo aumento na concentração espermática ao adicionar óleo de arroz na dieta de garanhões, com média de 226×10^6 eptz/mL.

Assim como os demais parâmetros do ejaculado eqüino, a concentração espermática também apresenta grandes variações (PAPA, 1987). Götze⁵ (1949 apud ALMEIDA, 2004, p.37) encontrou resultados na ordem de 80 a 200×10^6 eptz/mL, enquanto que Aehnel⁶ (1950 apud ALMEIDA, 2004, p.37) obteve resultados médios de 338×10^6 . Em trabalhos clássicos, encontraram valores médios semelhantes, em eptz/mL, Cornwell et al. (1972) 302×10^6 , Pickett et al. (1976) 281×10^6 e Dowsett (1980) 164×10^6 .

⁵ GÖTZE, R. **Besamung und unfruchtbarkeit der haussäugetiere**. Hannover: Verlag & Schaper, 1949.

⁶ AEHNELT, E. **Das sperma des hengtes unter berücksichtigung Von umwelt und vererbung**. Tese (Livre Docência) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade de Hannover, 1950.

Figura 18 - Valores médios da concentração espermática (milhões eptz/mL)

5.6.5 Patologias espermáticas

Os valores médios de defeitos maiores e menores foram, respectivamente, de 17,73 e 4,60 % para o tratamento com óleo de soja, e de 17,96 e 6,03 % para o tratamento com óleo de arroz. Os defeitos totais foram de 22,33 % para o óleo de soja e de 22,63 % para o óleo de arroz, concordando com Hafez & Hafez (2004), que relatam que o ejaculado deve possuir entre 60 – 90 % de espermatozóides morfolologicamente normais.

Não houve diferença entre os tratamentos, nem em relação ao tempo, ou interação tempo e tratamento. A figura 19 ilustra os valores médios de defeitos totais.

A suplementação de garanhões, por 80 dias com óleo de arroz, melhorou significativamente a percentagem de espermatozóides morfolologicamente normais, embora tenha ocorrido aumento na percentagem de defeitos maiores, em experimento realizado por Arlas (2008).

Bielanski (1982) encontrou diferenças entre a frequência de defeitos maiores e menores em diversos ejaculados de diversos garanhões. Este mesmo autor encontrou, assim como Henrikse (1966) e Dott (1975), correlação negativa entre fertilidade e a percentagem de patologias espermáticas, diferentemente de Voss, Pickett e Squires (1981) que não encontraram correlações entre fertilidade e porcentagem de espermatozóides anormais.

Papa (1987) descreve em sua revisão, que os fatores que podem influenciar a presença de patologias espermáticas podem estar ligados desde a espermatogênese até o armazenamento e posterior ejaculação do sêmen, além do excessivo uso do garanhão, aumento de temperatura epididimária por febre, perda de termoregulação testicular, além de fatores individuais ligados à idade do garanhão.

Figura 19 - Valores médios de defeitos totais (%)

6 CONCLUSÕES

Nas condições em que este experimento foi realizado, é possível concluir que a suplementação da dieta de garanhões com óleo de arroz semi-refinado, com alto teor de gama-orizanol, não afeta a aceitabilidade ou a digestibilidade dos nutrientes da dieta e proporciona melhora do ganho de peso e do escore corporal. Não afeta a qualidade espermática ou a concentração plasmática de testosterona, VLDL-C, HDL-C e triglicérides, porém, eleva as concentrações plasmáticas de colesterol total e de LDL-C.

São necessárias mais pesquisas para o estabelecimento de valores médios para digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta, ou das concentrações médias de lipídeos plasmáticos para eqüinos alimentados com dietas contendo óleo de arroz e gama-orizanol.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, H. B. **Concentrações plasmáticas de estradiol, testosterona, triiodotironina e tiroxina e a longevidade de sêmen eqüino resfriado**. 2004. 137 f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- AMANN, R. P. Physiology and endocrinology. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. **Equine reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger: 1993. cap. 77, p.659–683.
- ARLAS, T. R.; PEDERZOLLI, C. D.; TERRACIANO, P. B.; TREIN, C. R.; BUSTAMANTE-FILHO, I. C.; CASTRO, F. S.; MATTOS, R. C. Sperm quality is improved feeding stallions with a rice oil supplement. **Animal Reproduction Science**. v. 107, n. 3-4, p. 206, 2008.
- ARGENZIO, R. A. Digestão e absorção dos carboidratos, gorduras e proteínas. In: SWENSON, M. J. (Ed.). **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1996. p. 331-351.
- BEITZ, D. C. Metabolismo Lipídico. In: SWENSON, M. J. (Ed.). **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1996. p. 412-429.
- BIELANSKI, W.; DUDEK, E.; BITTMAR, A.; KOSINIAK, K. Some characteristics of common abnormal forms of spermatozoa in highly fertile stallions. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 32, p. 21-26, 1982.
- BOWMAN, V. A.; FONTENOT, J. P.; WEBB JR., K. E. Digestion of fat by equine. In: EQUINE NUTRITION PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 5., 1977, Missouri. **Proceedings...**, 1977. p. 40.
- BRUSS, M. L. Lipids and ketones. In: KANEKO, J. J. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. New York: Academic Press, 1980. p. 83-95.
- BUSH, J. A.; FREEMAN, D. E.; KLINE, K. H.; MERCHEN, N. R.; FAHEY JR., G. C. Dietary fat supplementation effects on in vitro nutrient disappearance and in vivo nutrient intake and total tract digestibility by horses. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 1, p. 232-239, 2001.
- BUTOLO, J. E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2002. p. 126,186.
- CARVALHO, M. A. G de. **Digestibilidade aparente em eqüinos submetidos a três condutas de arraçamento**. 1992, 34 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1992.

CHEN, M-H.; BERGMAN, C. J. A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and gamma-oryzanol contents. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.18, p. 139-151, 2005.

CICERO, A. F. G.; GADDI, A. Rice bran oil and gamma-oryzanol in the treatment of hyperlipoproteinaemias and other conditions. **Phytotherapy Research**. v.15, p. 277-289, 2001.

CORNWELL, J. C.; GUTHRIE, L. D.; SPILLMAN, T. E.; MCCRAINE, S. E.; HAVER, E. P.; VICENT, C. K. Seasonal variation in stallion semen. **Journal of Animal Science**. v. 34, p. 353, 1972.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e as exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984. v.1.

CZERKAWSKI, J. W.; CLAPPERTON, J. L. Fats as energy -yielding compounds in the ruminant diet. In: WISEMAN J. (Ed.). **Fats in Animal Nutrition**. London: Butterworths, 1984. p. 249-264.

DAVISON, K. E.; POTTER, G. D.; GREENE, L. W. Lactation and reproductive performance of mares fed added dietary fat during late gestation. In: EQUINE NUTRITION PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 10., 1987, Fort Collins. **Proceedings....**, 1987. p. 87-92.

DAVISON, K. E.; POTTER, G. D.; EVANS, J. W.; GREENE, L. W.; HARGIS, P. S.; CORN, C. D.; WEBB, S. P. Growth, nutrient utilization, radiographic bone characteristics and postprandial thyroid hormone concentrations in weanling horses fed added dietary fat. **Equine Veterinary Science**. v. 11, n. 2, p. 119-125, 1991.

DE FOMBELLE, A.; JACOTOT, E.; DROGOUL, C. Effect of the hay, grain ratio on digestive physiology and microbial ecosystem in ponies. In: EQUINE NUTRITION AND PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 16., 1999, North Caroline. **Proceedings...** North Carolina: ENPS, 1999. p. 151.

DELOBEL, A.; FABRY, C.; SCHOONHEERE, N.; ISTASSE, L.; HORNICK, J. L. Linseed oil supplementation in diet for horses: Effects on palatability and digestibility. **Livestock Science**, v. 116, p. 15-21, 2008.

DOTT, H. M. Morphology of stallion spermatozoa. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 23, p. 41-46, 1975.

DOWSETT, K. F. PATTIE, W. A. Collection of semen from stallions at stud. **Australian Veterinary Journal**, v. 56, n. 8, p. 373-378, 1980.

EMBRAPA SOJA. **Soja – Uso industrial**.

Londrina. 2008. Disponível em:

<http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=27&cod_pai=31> Acesso em: 18 out. 2008.

FRANK, N.; ANDREWS, F. M.; ELLIOTT, S. B.; LEW, J.; BOSTON, R.C. Effects of rice bran oil on plasma lipid concentrations, lipoprotein composition, and glucose dynamics in mares. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 2509-2518, 2005.

FRAPE, D. In: Ingredients of horse feeding. **Equine nutrition and feeding**. Essex: Longman Scientific and Technical, 1986, 373 p.

FRY, A. C.; BONNER, E.; LEWIS, D. L.; JOHNSON, R. L.; STONE, M. H.; KRAEMER, W. J. The effects of gamma-oryzanol supplementation during resistance exercise training. **International Journal of Sport Nutrition**, v. 7, p. 318-329, 1997.

GALBRAITH, H.; MILLER, T. B.; PATON, A. M.; THOMPSON, J. K. Antibacterial activity of long chain fatty acids and the reversal with calcium, magnesium, ergocalciferol and cholesterol. **The Journal of Applied Bacteriology**, v. 34, n. 4, p. 803-813, 1971.

GEELLEN, S. N. J. **High fat intake and equine lipid metabolism**. 2001. 114 f. Tese (Doutorado em Nutrição Animal) - Universiteit Utrecht, Utrecht, 2001.

GRANER, E. A. **Culturas da Fazenda Brasileira**. São Paulo: Melhoramentos, 1964. 461 p.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004. 513 p.

HAMBLETON, P. L.; SLADER, L. D.; HAMAR, D. W.; KIENHOLZ, E. W.; LEWIS, L. D. Dietary fat and exercise conditioning effect on metabolic parameters in the horse. **Journal of Animal Science**, v. 51, n. 6, p. 1330-1339, 1990.

HALLEBEEK, J. M.; BEYNEN, A. C. The plasma level of triacylglycerols in horses fed high-fat diets containing either soybean oil or palm oil. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 86, p. 111-116, 2002.

HARRIS, P. Energy sources and requirements of the exercising horse. **Annual Review of Nutrition**, v. 17, p. 185-210, 1987.

HARKINS, J. D.; MORRIS, G. S.; TULLEY, R. T.; NELSON, A. G.; KAMERLING, S.G. Effect of added dietary fat on racing performance in thoroughbred horse. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 12, n. 2, p. 123-129, 1992.

HENNEKE, D. R.; POTTER, G. D.; KREIDER, J. L.; YEATES, B. F. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 15, n. 4, p. 371-372, 1983.

HENRIKSE, J. The semen of stallions of normal fertility. **Tijdschr Diergeneeskd**, v. 91, p. 300-313, 1966.

HOLLAND, J. L.; KRONFELD, D. S.; MEACHAN, T. N. Behavior of horses is affected by soy lecithin and corn oil in the diet. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 1252-1255, 1996.

HUGHES, S. J.; POTTER, G. D.; GREENE, L. W.; ODOM, T. W.; Murray-Gerzik, M. Adaptation of Thoroughbred horses in training to a fat supplement diet. **Equine Veterinary Journal**, v. 18, p. 349-352, 1995. Supplement.

IEIRI, T.; KASE N.; HASHIGAMI, Y.; KOBORI, H.; NAKAMURA, T.; SHIMODA, S. Effects of gamma-oryzanol on the hypothalamo-pituitary axia in the rat. **Nippon Naibunpi Gakkai Zasshi**. v. 20, n. 58, p. 1350-1356, 1982.

JACKSON, S. G. Form follows function? How does conformation affect the performance horse. In: PAGAN, J. D. (Ed.). **Advances in equine nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 1998, p. 129-140.

JANSEN, W. L.; KUILEN, VEN DER J.; GEELLEN, S. N. J.; BEYNEN, A. C. The effect of replacing nonstructural carbohydrates with soybean oil on the digestibility of fibre in trotting horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 31, n. 1, p. 27-30, 2000.

JANSEN, W. L.; GEELLEN, S. N. J.; KUILEN, VEN DER J.; BEYNEN, A. C. Dietary soyabean oil depresses the apparent digestibility of fibre in trotters when substituted for an iso-energetic amount of corn starch or glucose. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n.3, p. 302-305, 2002.

JULEN, T. R.; POTTER, G. D.; GREENE, L. W.; STOTT, G. G. Adaptation to a fat-supplemented diet by cutting horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 15, n. 10, p. 436-440, 1995.

JULIANO, C.; COSSU, M.; ALAMANNI, M. C.; PIU, L. Antioxidant activity of gamma-oryzanol: Mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 299, p. 146-154, 2005.

KANE, E.; BAKER, J. P.; BULL, L. S. Utilization of a corn oil supplemented diet by pony. **Journal of Animal Science**, v. 48, n. 5, p. 1379-1384, 1979.

KASIM, N. S.; CHEN, HONG; JU, YI-HSU. Recovery of g-oryzanol from biodiesel residue. **Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers**, v. 38, p. 229-234, 2007.

KRONFELD, D. S.; FERRANTE, P. L.; GRANDJEAN, D. Optimal nutrition for athletic performance, with emphasis on fat adaptation in dog and horses. **Journal Nutrition**, v. 124, n.12, p. 2745-2753, 1994.

LOWRY, G. F. Special unit and medical school laboratory technicians in New Zealand. A follow-up review and survey of training and qualifications 1970-1975. **New Zealand Medicine Journal**, v. 12, n. 5, p.579, 1977.

LOX, C. D.; CHRISTIAN, C. D.; HEINE, M. W. A simple radioimunoassay for testosterone. **American of obstetrics and gynecology**, v. 118, n. 1, p. 114-118, 1974.

MACHADO, G. S.; FONTES, D. O. Interações entre nutrição e reprodução de varrões - Aspectos fisiológicos e zootécnicos. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 2002. Foz do Iguaçu. **Anais...** 2002. p. 250-261.

MCCANN, J. S.; MEACHAM, T. N.; FONTENOT, J. P. Energy utilization and blood traits of ponies fed fat-supplemented diets. **Journal of Animal Science**, v. 65, n. 4, p.1019-1026, 1987.

MEYER, H. **Alimentação de cavalos**. São Paulo: Livraria Varela, 1995. 303 p.

MEYER, H. S; FLOTHOW, C.; RADICKE, S. Preileal digestibility of coconut fat and soybean oil in horses and their influence on metabolites of microbial origin of the proximal digestive. **Archives of Animal Nutrition**, v. 50, n.1, p. 63-74, 1997.

MEYERS, M. C.; POTTER, G. D.; GREENE, L. W. Physiological and metabolic response of exercising horses to added dietary fat. In: EQUINE NUTRITION PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 10., 1987, Fort Collins. **Proceedings....**, 1987. p. 107-113.

MIES FILHO, A. **Reprodução dos animais e inseminação artificial**. Porto Alegre: Sulin, 1987, p. 736.

MINHAJUDDIN, M.; BEG, Z. H.; IQBAL, I. Hypolipidemic and antioxidant properties of tocotrienol rich fraction isolated from rice bran oil in experimentally induced hyperlipidemic rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 747-753, 2005.

MOORE-COLYER, M. J. S.; LONGLAND, A. C.; HYSLOP, J.; CUDDEFORD, D. Intra-caecal fermentation parameters in ponies fed botanically diverse fibre feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 84, n. 1, p. 183-197, 2000.

MOREIRA, A.M.F.O. **Efeito da inclusão de diferentes fontes de óleo vegetal sobre a aceitabilidade e digestibilidade da dieta de eqüinos**. 2008. 70 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

MORETTO, E. & FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1998.

NANUA, J. N.; MCGREGOR, J. U.; GODBER, J. S. Influence of High-oryzanol Rice Bran Oil on the Oxidative Stability of Whole Milk Powder. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2426-2431, 2000.

NARAYAN, A.V.; BARHATE, R.S.; RAGHAVARAO, M. S. Extraction and purification of oryzanol from rice bran oil and rice bran oil soapstock. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 83, n. 8, p. 663-670, 2006.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of horses**. 5.ed. rev. Washington, D.C: National Academy Press, 1989. 100 p.

ORTHOEFER, F. T. Rice bran oil. *In*: SHAHIDI, F. **Bailey's industrial oil and fat products**. Jersey: John Wiley & Sons New, 2005. v. 2, cap. 10, p. 482-488.

PAGAN, J. D.; TIEGS, W.; JACKSON, S. G.; MURPHY, H. Q. The effect of different fat sources on exercise performance in thoroughbred racehorses. *In*: EQUINE NUTRITION PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 13., 1993, Florida. **Proccedings....** 1993, p. 125-129.

PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: A review. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 1, p. 1-14, 1980.

PAPA, F. O. **Contribuição ao estudo da utilização de sêmen congelado de eqüinos**: modificações metodológicas para o congelamento e inseminação artificial. 1987. 150 f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1987.

PASTORI, W. T. **Suplementação com óleo de soja para eqüinos**. 2007. 71 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2007.

PEREIRA, J. R. A.; ROSSI JUNIOR, A. **Manual prático de avaliação nutricional dos alimentos**. Piracicaba/SP: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz – FEALQ, 1988. p. 19-20.

PICKETT, B. W.; FAULKNER, L. C.; SEIDEL JR., G. E.; BERNDTSON, W. E.; VOSS J. L. Reproductive physiology of the stallion. **Journal of American Science**, v. 43, n. 3, p. 617-625, 1976. Trabalho apresentado no VI Seminal and behavioral characteristics.

PICKETT, B. W.; FAULKNER, L. C.; SUTHERLAND, T. M. Effect of month and stallion on seminal characteristics and sexual behavior. **Journal of Animal Science**, v. 31, n. 4, p. 713-728, 1970.

PILLINER, S. **Nutricion y alimentación del caballo**. 1995. 207 p.

POTTER, G. D.; HUGHES S. L.; JULEN, T. R.; SWINNEY D. L. A review of research on digestion and utilization of fat by the equine. *Pferdeheilkunde*. *In*: EUROPEAN EQUINE NUTRITION CONFERENCE, 1., 1992, Hannover, Germany. 1992.p. 119-123.

POTTER, G. D. Fat-supplemented diets for horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 19, n. 10, p. 614-617, 1995.

RALSTON, S. L. Controls of feeding in horses. **Journal of Animal Science**, v. 59, n. 5, p. 1354-1361, 1984.

RAMOS, S. C. **Comparação de diferentes indicadores com método de coleta total para determinação da digestibilidade aparente de diferentes dietas para eqüinos**. 2003. 69 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.

RAMMERSTORFER, C.; POTTER, G. D.; CUDD, T. A. Physiological responses of mature quarter horses to reining training when fed conventional and fat-supplemented diets. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 18, n. 3, p. 175-183, 1998.

RESENDE JÚNIOR, T.; REZENDE, A. S. C.; LACERDA JÚNIOR, O. V.; BRETAS, M.; LANA, A.; MOURA, R. S.; RESENDE, H. C. Efeito do nível de óleo de milho adicionado à dieta de eqüinos sobre a digestibilidade dos nutrientes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 1, p. 69-73, 2004.

RIBEIRO, R. M. **Inclusão de gordura na alimentação de eqüinos**. 2007. 68 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2007.

RICH, G. A.; FONETNOT, J. P.; MEACHAM, T. N. Digestibility of animal, vegetable and blended fats by equines. In. EQUINE NUTRITION PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 7., 1981, Missouri. **Proceedings....** 1981. p. 30-36.

ROGERS, E. J.; RICE, S. M.; NICOLASI, R. J.; CARPENTER, D. R.; MUCLELLAND, C. A.; ROMANCZYK, L. J. Identification and Quantitation of γ -Oryzanol components and simultaneous assessment of tocopherols in rice bran oil. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 70, p. 301-307, 1993.

RUKMINI, C.; RAGHURAM, T.C. Nutritional and biochemical aspects of the hypolipidemic action of rice bran oil: A review. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 10, n. 6, p. 593-601, 1991.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS user's guide**: statistics. Versão 5. Cary : SAS, 1995.

SCAVARIELLO, E. M.; ARELLANO, D. B. γ -Oryzanol: un importante componente del aceite de salvado de arroz. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 48, p. 7-12, 1998.

SCOTT, B. D.; POTTER, G. D.; EVANS, J. W.; REAGOR, J.C.; WEBB, G. W.; WEBB, S. P. Growth and feed utilization by yearling horses fed added dietary fat. **Equine Veterinary Science**, v. 9, n. 4, p. 210-214, 1989.

SEGATELLI, C. R. **Produtividade da soja em semeadura direta com antecipação da adubação na cultura de “*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.”** 2008. 118 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

SIERRA, S.; LARA-VILLOSLADA, F.; OLIVARES, M.; JIMÉNEZ, BOZA, J.; XAUS, J. Increased immune response in mice consuming rice bran oil. **European Journal of Nutrition**, v. 44, p. 509-516, 2005.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa: Imprensa Universitária UFV, 2002, 235 p.

STABENFELDT, G. H.; EDQVIST, L. Processos reprodutivos do macho. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes . Fisiologia dos animais domésticos**. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1996. cap. 35, p. 603.

SQUIRES, E. L.; PICKETT, B. W.; AMANN, R. P. Effect of successive ejaculation on stallion seminal characteristics. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 27, p. 7-12, 1979.

SUNITHA, T.; MANORAMA, R.; RUKMINI, C. Lipid profile of rats fed blends of rice bran oil in combination with sunflower and safflower oil. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 51, n. 1, p. 219-230, 1997.

TAMAGAWA, M.; OTAKI, Y.; TAKAHASHI, T.; OTAKA, T.; KIMURA, S.; MIWA, T. Carcinogenicity study of gamma-oryzanol in B6C3F1 mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 30, n.1, p. 49-56, 1992a.

TAMAGAWA, M.; SHIMIZU, Y.; TAKAHASHI, T.; OTAKA, T.; KIMURA, S.; KADOWAKI, H.; UDA, F.; MIWA, T. Carcinogenicity study of gamma-oryzanol in F344 rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 30, p. 41-48, 1992b.

TISSERAND, J. L. **A alimentação prática do cavalo**. São Paulo: Andrei, 1983. 83 p.

TOGNI, D. A. J. **Contribuição do tratamento de sementes de soja (*Glycine Max* L. Merrill) com fungicidas no manejo da ferrugem asiática**. 2008. 75 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

VAN DER HOLST, W. A study of the morphology of stallion semen during the breeding and non-breeding seasons. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 23, p. 87-89, 1975. Supplement 23.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

VOSS, J. L.; PICKETT, B. W.; SQUIRES, E. L. Stallion spermatozoa morphology and motility and their relationship to fertility. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 178, p. 287-289, 1981.

WATSON T, D. G.; PACKARD, C. J.; SHEPERD, J. Plasma lipid transport in the horse (*Equus caballus*). **Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry**, v. 106, n. 1, p. 27-34, 1993.

WEBB, S. P.; POTTER, G. D.; EVANS, J. W. Physiology and metabolic response of race and cutting horses to added dietary fat. In: EQUINE NUTRITION PHYSIOLOGY SYMPOSIUM, 10., 1987, Fort Collins. **Proceedings.....**, 1987. p. 115.

WILSON, T. A.; NICOLosi, R. J.; WOOLFREY, B.; KRITCHEVSKY, D. Rice bran oil and oryzanol reduce plasma lipid and lipoprotein cholesterol concentrations and

aortic cholesterol ester accumulation to a greater extent than ferulic acid in hypercholesterolemic hamsters. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 18, p. 105-112, 2007.

WOLTER, R. **Alimentación del caballo**. Zaragoza: Acribia, 1977. 172 p.

WOLTER, R. Le Cheval, la digestion chez Le cheval. In: JOURNÉES DE BRESSIER DE THEIX, 12., Paris. **Proceedings...**, 1981. p. 186-194.

YAMAMOTO, M.; TANAKA, Y.; SUGANO, M. Lipid composition and cholesterol esterification in serum lipoprotein fraction of the horse, *Equus Caballus*. **Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry**, v. 63, n. 3, p. 441-449, 1979.

XU, Z.; GODBER, J. S. Purification and identification of components of γ -oryzanol in rice bran oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 2724-2728, 1999.

XU, Z.; NA, H.; GODBER, J. S. Antioxidant Activity of Tocopherols, Tocotrienols, and Gamma-Oryzanol. Components from Rice Bran against Cholesterol Oxidation Accelerated by 2,2'-Azobis (2-methylpropionamidine) Dihydrochloride. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2077-2081, 2001.