

SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO E QUALIDADE DE SÊMEN DE TOUROS.

ESTHER GUIMARÃES CARDOSO

Eng^o Agr^o — EMBRAPA

Orientador: Dr. IRINEU UMBERTO PACKER

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Nutrição Animal e Pastagens.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Dezembro, 1978

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Irineu Umberto Packer pela orientação segura e amiga.

Ao Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos pelo auxílio prestado na elaboração e condução deste trabalho.

À Agropecuária Lagoa da Serra Ltda., pela cessão dos animais e instalações e pelas análises de sêmen realizadas.

À Rações Anhanguera S.A. na pessoa do Dr. José Eduardo Butolo, pelo fornecimento das rações experimentais.

Ao Laboratório de Nutrição Animal, da E.S.A. "Luiz de Queiroz", na pessoa do Dr. Celso Lemaire de Moraes, pelas análises bromatológicas dos alimentos.

Ao Dr. Francisco José Krug, da Seção de Radioquímica e Química Analítica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, ESALQ-USP, pela determinação do selênio nas amostras de sangue e alimentos.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) pela oportunidade de treinamento a nível de pós-graduação.

I N D I C E

	<u>Página</u>
1. RESUMO	1
2. INTRODUÇÃO	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1. O selênio na nutrição animal	5
3.2. Relação entre selênio, enxofre e vitamina E	7
3.3. Metabolismo do selênio	10
3.3.1. Metabolismo do selênio no rumen	10
3.3.2. Distribuição e retenção do selênio no organismo	12
3.3.3. Excreção	15
3.4. Modo de ação do selênio	17
3.5. Selênio e reprodução	21
3.5.1. Reprodução na fêmea	21
3.5.2. Reprodução no macho	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1. Local	30
4.2. Animais e formas de suplementação	30
4.3. Alimentação dos touros	34
4.4. Condução do experimento	38
4.5. Análise do sêmen	39
4.6. Determinação do teor de selênio	40
4.7. Análise estatística	41

	<u>Página</u>
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1. Níveis de selênio no sangue	44
5.1.1. Nível de selênio no soro	44
5.1.2. Nível de selênio na fração figurada do sangue	49
5.1.3. Nível de selênio no sangue total	54
5.2. Análise do sêmen	60
5.2.1. Volume e concentração	60
5.2.2. Turbilhonamento e vigor	65
5.2.3. Motilidade	68
5.3. Considerações finais	72
6. CONCLUSÕES	74
7. SUMMARY	76
8. BIBLIOGRAFIA CITADA	77
9. APÊNDICE 1	94
10. APÊNDICE 2	98

LISTA DE TABELASPágina

Tabela 1.	Classificação de touros com sêmen morfologicamente normal, para doadores de sêmen em Centrais de Inseminação Artificial	32
Tabela 2.	Relação dos touros, sua identificação pela raça, idade, faixa de produção, peso vivo, forma de suplementação e método de coleta de sêmen	33
Tabela 3.	Composição da mistura de concentrados (Concentrado 1 e Concentrado 2)	35
Tabela 4.	Composição do "premix" no Concentrado 1 e Concentrado 2	36
Tabela 5.	Composição bromatológica e teores de cálcio, fósforo e selênio do feno de grama Estrela, silagem de milho e Concentrados 1 e 2	37
Tabela 6.	Modelos de análise da variância dos dados pelo método dos quadrados mínimos	43
Tabela 7.	Níveis médios gerais de selênio no soro sanguíneo de touros conforme a forma de suplementação de selênio, faixa de classificação dos touros e meses	45

Tabela 8.	Análise da variância dos teores de selênio no soro sanguíneo dos touros	46
Tabela 9.	Níveis médios gerais de selênio na fração figurada do sangue de touros conforme a forma de suplementação de selênio, faixa de classificação dos touros e meses	50
Tabela 10.	Análise da variância dos teores de selênio na fração figurada do sangue dos touros	51
Tabela 11.	Níveis médios gerais de selênio no sangue total de touros conforme a forma de suplementação de selênio, faixa de classificação dos touros e meses	55
Tabela 12.	Análise da variância dos teores de selênio no sangue total de touros	56
Tabela 13.	Valores médios gerais de volume e concentração de espermatozoides no sêmen de touros, conforme a forma de suplementação de selênio, faixa de classificação dos touros e meses	61
Tabela 14.	Análise da variância do volume de sêmen dos touros	62

Tabela 15.	Análise da variância da concentração de espermatozoides no sêmen de touros	63
Tabela 16.	Valores médios gerais do turbilhonamento e vigor do sêmen de touros, conforme a forma de suplementação de selênio, faixa de classificação de touros e meses	66
Tabela 17.	Análise da variância do turbilhonamento e vigor do sêmen dos touros	67
Tabela 18.	Valores médios gerais da motilidade no sêmen de touros, conforme a forma de suplementação de selênio, faixa de classificação de touros e meses	69
Tabela 19.	Análise da variância da motilidade no sêmen dos touros	70

LISTA DE FIGURAS

	<u>Página</u>
Figura 1. Esquema de atuação do selênio	19
Figura 2. Nível mensal de selênio no soro sanguíneo de touros sob três formas de suplementação	48
Figura 3. Efeito de meses sobre o teor de selênio no soro sanguíneo de touros	48
Figura 4. Nível mensal de selênio na fração figurada do sangue de touros sob três formas de suplementação	53
Figura 5. Efeito de meses sobre o teor de selênio na fração figurada do sangue de touros	53
Figura 6. Nível mensal de selênio no sangue total de touros sob três formas de suplementação	58
Figura 7. Efeito de meses sobre o teor de selênio no sangue total de touros	58
Figura 8. Teores médios mensais de selênio no soro e fração figurada do sangue e sangue total dos touros	59

A P Ê N D I C EPágina

<u>APÊNDICE 1</u> - Determinação fluorimétrica do selênio. Materiais e marcha analítica	95
--	----

APÊNDICE 2:

Tabela A ₁ . Médias mensais de Selênio no soro, fração figurada do sangue e sangue total de touros submetidos a três formas de suplementação	99
---	----

Tabela A ₂ . Médias mensais de selênio no soro, fração figurada do sangue e sangue total de touros classificados de acordo com três faixas de aptidão para produção de sêmen	100
---	-----

Tabela A ₃ . Médias mensais do volume de sêmen dos touros submetidos a três formas de suplementação de selênio e classificados de acordo com três faixas de produção de sêmen	101
---	-----

Tabela A ₄ . Médias mensais da concentração de espermatozoides no sêmen de touros submetidos a três formas de suplementação de selênio e classificados de acordo com três faixas de produção de sêmen	102
--	-----

Tabela A ₅ .	Médias mensais do turbilhonamento no sêmen dos touros submetidos a três formas de suplementação de selênio e classificados de acordo com três faixas de produção de sêmen	103
Tabela A ₆ .	Médias mensais do vigor dos espermatozoides no sêmen de touros submetidos a três formas de suplementação de selênio e classificados de acordo com três faixas de produção de sêmen	104
Tabela A ₇ .	Médias mensais da motilidade no sêmen dos touros submetidos a três formas de suplementação e classificados de acordo com três faixas de produção de sêmen	105

1. RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos de 3 formas de suplementação de selênio (Se): através de uma ração de concentrados com 0,1ppm de Se, ou 0,2ppm Se/100kg PV/dia (S_1); através de ração de concentrados com 2,6ppm de Se ou 1,0ppm Se/100kg PV/dia (S_2); e através da aplicação intramuscular de 9mg de Se/100kg PV a cada 60 dias, sobre a qualidade do sêmen de touros. O período experimental foi de 5 meses.

Foram utilizados 16 touros adultos, taurinos e zebuinos, classificados em 3 níveis quanto à aptidão para produção de sêmen (faixas A, B e C, sendo A o melhor), todos com sêmen morfológicamente estável e baixo grau de patologia, com variações apenas nos aspectos físicos do sêmen. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso em parcelas subdivididas no tempo.

O fornecimento de Se teve um efeito quadrático ($P < 0,01$) sobre o teor de Se no soro sanguíneo dos touros, e um efeito positivo linear ($P < 0,01$) sobre o teor de Se na fra-

ção figurada do sangue e sangue total.

O volume e concentração de espermatozóides no sêmen e o vigor e turbilhonamento dos espermatozóides não foram influenciados significativamente pela suplementação de Se.

A motilidade (% de espermatozóides móveis) foi superior ($P < 0,05$) no sêmen dos touros suplementados na forma S_2 , comparativamente à forma S_1 , no entanto não houve diferença significativa entre a forma de suplementação S_3 relativamente a S_1 e S_2 . Os touros de faixa A apresentaram maior índice de motilidade que os touros da faixa C.

2. INTRODUÇÃO

O desempenho reprodutivo dos animais é um dos pontos básicos para a produtividade dos rebanhos bovinos, e neste campo, a nutrição adequada dos reprodutores é um dos fatores primários para a obtenção de níveis satisfatórios de fertilidade.

Vários elementos minerais são conhecidamente ligados à performance reprodutiva dos bovinos, como é o caso do fósforo, zinco, cobre, manganês e outros.

O selênio, embora sua essencialidade tenha sido descoberta há 20 anos, somente nos últimos 10 anos tem sido sugerido como um dos microelementos da dieta, associado ao processo reprodutivo dos machos. Seus efeitos em vários órgãos do corpo animal tem sido atribuídos à sua participação na enzima peroxidase de glutathione. No entanto, particularmente com touros bovinos, apenas no último ano foram desenvolvidos os primeiros estudos sobre selênio ou peroxidase de glutathione relativamente à sua função reprodutiva.

Muito pouco ou quase nada é então conhecido sobre os efeitos do selênio e sua adição à dieta de touros e, no entanto, a nutrição mineral é uma questão de grande importância, principalmente quando atentamos à possibilidade da instalação de uma deficiência marginal do elemento a qual, embora sem sintomas aparentes é capaz de afetar processos vitais do organismo.

No caso de animais estabulados, ou seja, touros de rebanhos leiteiros ou sob regime de coleta de sêmen em Centrais de Inseminação Artificial, uma forma prática de suplementação de selênio é sua adição à mistura de concentrados; já no caso de touros de criações extensivas de gado de corte, uma outra alternativa para a suplementação seria o fornecimento periódico do mineral sob a forma injetável. As tabelas de alimentação do NRC - National Research Council, USA - como regra geral, apontam a exigência de 0,1ppm de selênio na matéria seca da ração de bovinos.

O presente trabalho teve por objetivo o estudo dos efeitos de três formas de suplementação de selênio, a saber: adição do selênio à mistura de concentrados em quantidade superior ou recomendada pelo NRC para ração de bovinos e, via intramuscular, periodicamente, sobre a qualidade do sêmen de touros.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. O Selênio na nutrição animal

O Selênio (Se) foi primeiramente reconhecido como um mineral tóxico, muito antes de sua essencialidade ser descoberta. ULLREY (1974) cita uma publicação de Marco Polo sobre suas viagens através da China no século XIII na qual o viajante relata um quadro sintomatológico em bestas de carga o qual foi posteriormente atribuído à intoxicação de Se. Outros relatos semelhantes, de épocas subseqüentes, são citados na literatura (AMMERMAN et alii, 1976) e descrevem sintomas de uma doença denominada "alkali disease" a qual resultou na perda de grande número de animais nos Estados Unidos e, somente em 1934 que foi o Se identificado como sendo o agente causador.

A essencialidade do Se, entretanto, foi descoberta muito tempo depois. SCHWARZ e FOLTZ (1957) foram os primeiros a relatar que o Se previne necrose no fígado em ratos alimentados com uma dieta deficiente em vitamina E (vit E).

MUTH (1957) também relatou que distrofia muscular em ovelhas podia ser curada com suplementação de Se. Com exceção da encefalomalácia em frangos a distrofia muscular em suínos, coelhos e aves e, reabsorção fetal em ratos são doenças que respondem à suplementação de Se (JENKINS e HIDIROGLOU, 1972) e da mesma forma em ovinos e bezerros (HARTLEY e GRANT, 1961). Uma revisão do assunto é apresentada por LANNEK e LINDBERG (1975).

Novilhos de corte (BURROUGHS et alii, 1963; PERRY et alii, 1976^{a,b}), potros (STOWE, 1967) e cordeiros (McLEAN et alii, 1959) sob dieta com adição de Se apresentam taxa de ganho de peso superior comparativamente a animais sem suplementação. WRIGHT (1965^b) observou ainda que os cordeiros que apresentavam crescimento mais rápido acumulavam mais Se nos rins e pituitária relativamente aos de crescimento mais lento.

O NRC (National Research Council - USA, 1971 e 1976) indica o nível de 0,1ppm de Se como o requerido na dieta de bovinos e, o nível de 5ppm como possivelmente tóxico. Condições como tempo de consumo, disponibilidade do mineral no alimento ou composto, e estado nutricional do elemento no organismo podem modificar os níveis de toxidez do selênio (NRC, 1976; SCHROEDER, 1967). Em ratos a exigência de Se varia com o sexo sendo maior para os machos comparativamente às fêmeas (HALVERSON, 1974).

Muito ainda há para ser estudado sobre o Se na nutrição animal, suas interrelações com outros fatores da die-

ta, seu modo de atuação nos diferentes órgãos e metabolização de seus diferentes compostos.

3.2. Relação entre Selênio, Enxofre (S) e vitamina E (vit.E)

Vários elementos interagem biologicamente com o Se no organismo; o arsênico, mercúrio, cádmio e cobre, tornam o Se menos tóxico de que quando ele está presente sozinho. A presença do Se por sua vez reduz a toxidez do mercúrio e cádmio em aves (HILL, 1975) e ratos (GUNN et alii, 1968); não havendo entretanto evidência conclusiva de que a presença de outros elementos reduza a absorção e retenção do Se (HILL, 1975).

Mas, dentre as interações biológicas com Se, a atenção dos pesquisadores tem se voltado principalmente para o enxofre (S), devido à similaridade química entre os dois minerais e, para a vit. E devido à sua semelhança funcional.

Nos processos biossintéticos do rúmen, o Se pode substituir o S para formar selenoanalogos dos compostos de S (ROSENFELD, 1962) embora a conversão de selenito e selenato para selenometionina seja relativamente pequena sob as mesmas condições em que o sulfato é rapidamente incorporado na metionina pelos microorganismos do rúmen (PAULSON et alii, 1968).

Num estudo "in vitro" com líquido ruminal de

bovinos e bubalinos, KHIWAR e ARORA (1976) observaram haver uma depressão significativa na utilização do S pelos microorganismos conforme ocorria o estreitamento da relação S:Se. Mas, tendo sido a razão N:S similar na proteína microbiana em todos os tratamentos é postulado que o Se interfira na multiplicação dos microorganismos do rúmen por um mecanismo outro de que a inibição da incorporação do S na proteína microbiana.

O excesso de sulfato não tem efeito sobre a incorporação do selenito e selenato na proteína do rúmen e, nos estudos "in vitro", o metabolismo do Se inorgânico mostrou-se diferente do S inorgânico (PAULSON et alii, 1968).

WHANGER et alii (1978) observaram um comportamento diferencial do Se e S no líquido ruminal de carneiros alimentados com várias dietas naturais, num período de 4 anos, quanto ao enriquecimento destes minerais nos microorganismos comparativamente às quantidades presentes na dieta, com base na matéria seca (M.S.). Enquanto que o enriquecimento do S nos microorganismos foi da ordem de 1,6 vezes, o de N em cerca de 4 vezes, o do Se foi o maior e também o mais variável (de 2 a 78 vezes).

No caso da vitamina E, a importância do estudo de suas interrelações com o Se é grande devido ao fato de ambos desempenharem a função de antioxidante no organismo animal. Assim sendo, vários trabalhos foram elaborados com o objetivo de avaliar se a presença de um dos dois elementos pode afetar

o metabolismo do outro ou interferir na exatidão das medidas quantitativas destes nos tecidos.

Misturas comerciais de Vit. E e Se são frequentemente empregadas, pois, determinadas doenças ligadas à deficiência destes nutrientes não são controladas pelo fornecimento exclusivo de um ou outro (VAN VLEET, 1975; LANNEK e LINDBERG, 1975).

No processo reprodutivo, tanto a vit. E como o Se estão envolvidos (THIESSEN et alii, 1975). A exemplo, POPEKHINA e LEVINA (1975) mostram que a deficiência de Vit. E em machos suínos reflete no tamanho e peso dos testículos, volume de sêmen, concentração de espermatozóides e número de filhotes nas leitegadas de marrãs inseminadas. McDOWELL et alii (1974) também com suínos observaram que a adição de vit.E à dieta tende a abaixar as concentrações de Se no testículo. Entretanto, a adição exclusiva de vit. E em quantidades 16 vezes superior à requerida não aliviou os efeitos da deficiência de Se em ratos (WU et alii, 1973), portanto o Se atua sobre o desenvolvimento e função testicular independentemente da vit.E (WU et alii, 1969).

A vit. E não tem influência sobre o nível de Se no sangue (WHANGER et alii, 1977^b) nem sobre a absorção aparente e retenção do elemento no organismo de ovelhas (EHLIG et alii, 1967) e distribuição do Se nos tecidos de aves (JENSEN et alii, 1963).

Com relação à influência do Se sobre os níveis de vit. E no sangue, os resultados são inconsistentes; a suplementação com Se resultou num leve aumento dos níveis de tocoferóis no plasma de cordeiros mas, o oposto foi observado nas ovelhas (WHANGER et alii, 1977^a).

HAMILTON e TAPPEL (1963) trabalhando com ratos concluíram que o efeito antioxidante exercido pela vitamina E é largamente independente dos efeitos antioxidantes do Se. O sinergismo entre α -tocoferol e Se nos tecidos não foi grande.

3.3. Metabolismo do Selênio

3.3.1. Metabolismo do Se no rúmen

O metabolismo do Se orgânico e inorgânico no rúmen parece diferir. A selenometionina é incorporada como tal e/ou metabolizada à selenocistina pelos microorganismos do rúmen sendo os dois compostos encontrados em sua fração proteica. No entanto o selenato é reduzido a selenito, havendo pequena conversão destes compostos para selenometionina (PAULSON et alii, 1968).

É possível entretanto que um alto consumo de Se inorgânico possa induzir a biossíntese de Se-aminoácidos pois, ROSENFELD (1962) observou que tanto Se⁷⁵-metionina quan-

to Se^{75} -cistina estavam presentes na lã de carneiros que previamente haviam recebido repetidas doses orais de selenito. As ovelhas do experimento do ROSENFELD receberam diariamente 20mg deste elemento como Na_2SeO_3 enquanto que as de PAULSON et alii não receberam Se suplementar e a ração fornecida apenas cerca de 0,05mg Se/dia.

Nas bactérias do rúmen, HIDIRIGLOU et alii (1974) e HIDIRIGLOU e JENKINS (1974^a) encontraram a presença dos seguintes compostos de Se: selenoglutationa, Se-cisteína, Se-metionina, formas imóveis de Se e ainda, 40-50% da atividade do Se^{75} estava em componentes não identificados.

Observações recentes de WHANGER et alii (1978) que forneceram selenito de sódio a carneiros também mostram que o Se se concentra mais na fração microbiana comparativamente ao material não microbiano do rúmen sendo que a primeira delas parece ser a forma de Se utilizável pelo animal. Uma grande parte é todavia convertida a formas não utilizáveis.

A metabolização do Se da dieta do rúmen parece se dar principalmente pelas bactérias uma vez que, utilizando animais defaunados que recebiam dose oral de Se^{75} -metionina, HIDIRIGLOU e JENKINS (1974^c) não constatarem diferença na distribuição da radioatividade nos tecidos e excreções comparativamente à de animais não defaunados. Estes microorganismos têm ainda a habilidade de concentrar o Se em seu material de constituição relativamente às quantidades do elemento presen-

tes na dieta, com base na M.S.

Quanto à absorção do Se pelo rúmen, esta parece ser quase nula. Após um período de 3 horas do fornecimento de Se^{75} -metionina via ruminal a carneiros, HIDIROGLOU e JENKINS (1973^b) recuperaram 90% da atividade do Se neste órgão. WRIGHT e BELL (1966) também relataram que o Se inorgânico (Na_2SeO_3) quando fornecido oralmente não é extensivamente absorvido pelo rúmen.

Estudando o destino da Se metionina, administrada oralmente, no trato gastro-intestinal das ovelhas, HIDIROGLOU e JENKINS (1973^a) constataram que a absorção dos compostos de Se ocorre principalmente na porção final do intestino delgado.

3.3.2. Distribuição e retenção do selênio no organismo

Independentemente da via de fornecimento do Se, este primariamente se liga à proteína no plasma sanguíneo. HIDIROGLOU e JENKINS (1974^{a,b}) forneceram Se^{75} -metionina a carneiros oral e intravenosamente e observaram que 90 a 100% da radioatividade do plasma estava incorporada à proteína 24 horas após a dosagem sendo que a radioatividade era mais alta com a administração venosa. A suplementação através de peletes ruminais com 90% de ferro livre e 10% de Se elementar, resultou num rápido aumento inicial no nível de Se no sangue de carneiros o qual foi grandemente atribuído ao crescente nível de Se

no plasma e, num vagaroso aumento subsequente atribuído à lenta incorporação do Se dentro das células vermelhas (HANDRECK e GODWIN, 1970).

Os níveis de Se no sangue total de bovinos refletem os níveis de Se na dieta (PERRY et alii, 1976^{a,b}), mas a retenção deste no organismo depende além da quantidade fornecida, da forma de fornecimento e do estado nutricional anterior relativo ao Se. O Se da dieta, derivado de fontes naturais tem maior impacto sobre os níveis de Se nos tecidos comparativamente aos derivados de selenito de sódio (ULLREY et alii, 1975). Estudando a distribuição e retenção do Se em 13 diferentes tecidos de carneiros EHLIG et alii (1967) observaram uma maior retenção do elemento naqueles suplementados com Se-metionina que selenito, mesmo 30 dias após o tratamento. FUSS e GODWIN (1975) obtiveram resultados semelhantes e, ainda observaram que a glândula mamária absorvia seletivamente o aminoácido, o que também ficou evidenciado nos trabalhos de JENKINS e HIDIROGLOU (1971) e OH et alii (1976).

A absorção e retenção do Se⁷⁵ em ovinos difere de acordo com o estado nutricional anterior do animal. Carneiros anteriormente alimentados com dietas deficientes em Se tiveram maior absorção e retenção de Se em vários tecidos do organismo comparativamente aos que recebiam rações com nível de Se adequado. As curvas de retenção do Se nestes animais foram expressas em 2 componentes: o primeiro consistia de um período relativamente curto, de rápida eliminação, com uma meia

vida biológica de menos que um dia e, concorreu para o Se "não fixado" que foi excretado durante o período. O 2º componente consistia de um longo período de tempo de vagarosa eliminação e, neste 2º período as ovelhas deficientes em Se tiveram maior retenção de Se que aquelas sob consumo adequado (MUTH et alii, 1967). Este mesmo padrão foi também observado por VAN VLEET (1975) em ovelhas e suínos. A dosagem com Se aumenta a concentração do elemento nos tecidos do organismo (COUSINS e CAIRNEY, 1961).

O Se administrado é absorvido por vários tecidos mas, aqueles tecidos em que a síntese de proteína é mais alta, retêm mais Se relativamente (HIDIROGLOU e JENKINS, 1974^b; ROSENFELD e BEATH, 1945). Também os animais alimentados com rações com médio e alto teor de proteína, foram mais hábeis para suportar níveis elevados de Se que animais arraçoados com ração de baixo teor proteico (ROSENFELD e BEATH, 1945).

Para obter uma melhor indicação da habilidade dos diferentes órgãos em absorver e reter Se, WRIGHT (1965^a) ao abater ovelhas após 28 dias da dosagem com Se⁷⁵, dividiu a radioatividade dos vários tecidos pela radioatividade medida no sangue que o banhava e, obteve que os rins absorvem mais este elemento relativamente a outros tecidos, seguido pelo fígado. A radioatividade nos rins rapidamente atingiu um alto nível e então começou a decrescer sugerindo que a participação dos rins no metabolismo do Se talvez seja a de armazenamento imediato do Se inorgânico, ao invés de a longo prazo do mate

rial organicamente ligado. O selênio é então armazenado no fígado (HANDRECK e GODWIN, 1970).

Mas, COUSINS e CAIRNEY (1961) sugerem que a acumulação de Se na forma orgânica pelos tecidos é limitada e esta afirmação é ilustrada pelo fato de os cordeiros castrados que receberam 10mg de Se inorgânico/semana (durante 1 ano) apresentarem valores de Se nos tecidos semelhantes aos que receberam 15mg e não muito mais altos que nos controles (5mg).

3.3.3. Excreção

O Se pode ser excretado principalmente por via das fezes, urina e trato respiratório. A via de administração e a dose de Se determinam qual a via de excreção predominante.

Quando o Se foi fornecido por via ruminal a ovelhas, a maior parte da dose foi eliminada pelas fezes quer para o Se na forma orgânica ou inorgânica (JACOBSSON, 1966^a). Resultados semelhantes foram obtidos por COUSINS e CAIRNEY (1961) com a dosificação de Se via oral. BUTLER e PETERSON (1961) introduziram Se⁷⁵ no rúmen de carneiros e recuperaram 51% da radioatividade nas fezes num período de 72 horas e, assim, a principal via de eliminação do Se em ruminantes é considerado serem as fezes. O material fecal apresentou altas proporções de Se insolúvel, sendo que metade deste estava ligado à proteí

na e metade na forma inorgânica. COUSINS e CAIRNEY (1961) e JACOBSSON (1966^a) também observaram grande quantidade de Se insolúvel nas fezes.

A injeção subcutânea do Se⁷⁵ promoveu um maior aumento na concentração do Se no plasma e maior porcentagem de excreção na urina que a mesma dose administrada por via ruminal. A porcentagem de excreção aumenta com a elevação das doses de Se, tanto sob aplicação subcutânea quanto ruminal. O aumento é devido principalmente à maior excreção na urina pois, a quantidade excretada nas fezes não depende da dose fornecida no mesmo grau que a excretada na urina (JACOBSSON, 1966^a).

Todos estes autores concordam que em altas dosagens o Se é principalmente excretado pela urina nas primeiras horas ou dias e que posteriormente a excreção pelas fezes suplanta a urinária.

A via de excreção, no entanto, independe da forma na qual o Se é fornecido: selenito, selenato e Se-metionina - (HIDIROGLOU e HOFFMAN, 1975).

A eliminação do Se através do aparelho respiratório ocorre em menor escala e JACOBSSON (1966^a) observou que ovelhas exalavam 0,7 a 2,2% do Se administrado subcutaneamente em 12 a 24 horas.

3.4. Modo de Ação do Selênio

Após a descoberta da essencialidade do Se, a maior preocupação da pesquisa esteve voltada para a elucidação de como este elemento atuava no organismo animal. SCHAWRZ e FOLTZ (1957) sugeriram que o Se era parte do "fator 3" que atuava na prevenção da necrose hepática de aves.

Somente em 1973 é que ROTRUCK et alii demonstraram que o Se era parte integrante da enzima peroxidase de glutathiona (glutathiona:H₂O₂ oxidoreductase, E.C. 1.11.1.9) que cataliza a redução dos peróxidos orgânicos pela glutathiona. Vários efeitos nutricionais do Se puderam então ser explicados através de sua participação na peroxidase de glutathiona (Px-GSH). Esses autores mostraram ainda que a enzima contém 4 átomos grama de Se/mol de enzima.

Os fosfolipídeos constituintes das membranas biológicas estão sujeitos à degradação oxidativa a qual leva a danos estruturais e finalmente à ruptura da integridade celular e a taxa de peroxidação dos tecidos varia diretamente com o grau de insaturação dos ácidos graxos destes fosfolipídeos. Especialmente susceptíveis à peroxidação são a membrana plasmática dos eritócitos e várias membranas subcelulares (COMBS et alii, 1975).

Desta forma, o modo de ação do Se tem sido principalmente estudado com base no metabolismo dos peróxidos orgânicos no sangue.

A enzima Px-GSH pode ser a primeira linha de defesa contra o dano oxidativo pelo peróxido de hidrogênio ou peróxido de lipídeo produzido em várias células do corpo dos animais domésticos e também do homem (AWASTHI et alii, 1975).

Em ovinos a enzima concorre com 75% do Se total nos eritrócitos (OH et alii, 1974). O nível de Px-GSH no plasma de ratos (HAFEMAN et alii, 1974), aves (NOGUCHI et alii, 1973; SCOTT et alii, 1974; OMAE e TAPPEL, 1974) e ovelhas (OH et alii, 1976) é diretamente relacionado ao nível de Se na ração. Sua atividade enzimática também foi positivamente relacionada à concentração de Se no sangue de cavalos (CAPLE et alii, 1978) e bovinos (ALLEN et alii, 1975).

Não só nos eritrócitos mas também em vários outros tecidos do organismo a atividade da Px-GSH se eleva conforme aumente o consumo de Se (REDDY e TAPPEL, 1974; HAFEMAN et alii, 1974).

Embora a vit. E desempenhe função antioxidante no organismo, sua atuação difere do Se como Px-GSH. A vitamina não tem influência no nível de Se do sangue como também na atividade da Px-GSH no tecido (PEDERSEN et alii, 1975; WHANGER et alii, 1977^b). Enquanto a Px-GSH está associada primariamente com a fase aquosa do citosol e o plasma, a vitamina E está presente dentro da própria membrana. Assim, o Se protege contra a hemólise do eritrócito e oxidação da hemoglobina sob condições de "stress" oxidativo enquanto que a vit. E pro-

tege somente a membrana plasmática do eritrócito sob estas condições (COMBS et alii, 1975). Esta situação é semelhante em outros tecidos onde a maior proporção da enzima aparece na fração citosol (GODWIN et alii, 1975).

A participação do selênio na destruição dos peróxidos pode ser melhor visualizada no esquema proposto por CHOW e TAPPEL (1974), na figura 1.

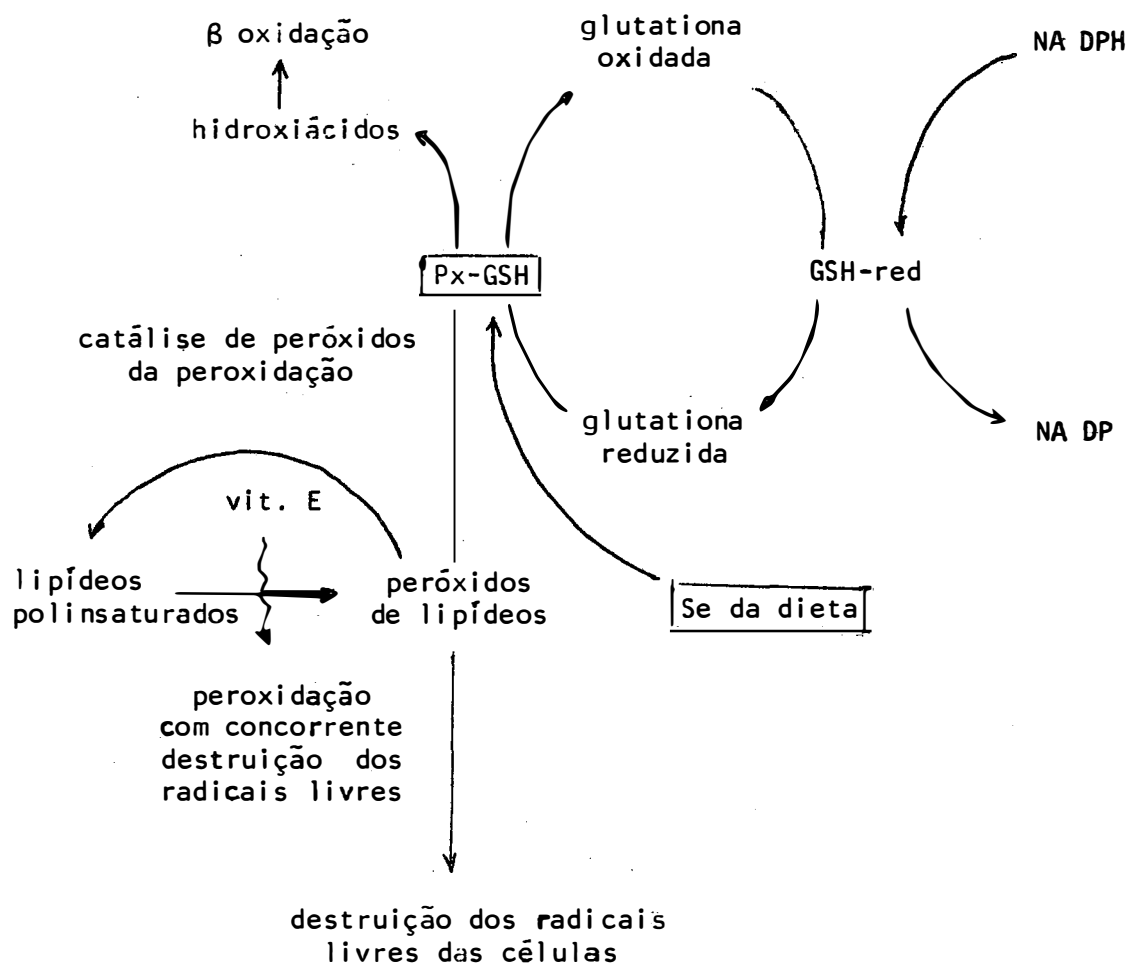


Fig. 1. Esquema de atuação do selênio

Dada a alta correlação encontrada entre Px-GSH e Se, vários autores (HAFEMAN et alii, 1974; GODWIN et alii, 1975; PEDERSEN et alii, 1975; MORAMARCO et alii, 1977; CAPLE et alii, 1978) têm sugerido que a GSH-Px nos tecidos animais é um dos melhores indicadores do nível do Se no organismo.

No entanto, recentemente, LAWRENCE e BURK (1978) demonstraram que a Px-GSH não era uma simples enzima contendo Se. Estes autores, analisando vários tecidos de ratos e sangue de hamsters, suínos, aves, porco-da-Índia, ovinos e humanos, mostraram haver atividade de Px-GSH que independe do Se, e a esta enzima chamaram de "Px-GSH não dependente de Se" (Px-GSH-NSe). Uma grande diferença entre as duas atividades foi a especificidade pelo substrato de peróxido: enquanto a Px-GSH reagia com grande variedade de hidroperóxidos incluindo peróxidos de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos a Px-GSH-NSe não usava peróxido de hidrogênio como substrato mas prontamente reagia com hidroperóxidos orgânicos. Nos ratos, em termos de atividade específica, a Px-GSH-NSe era relativamente mais alta nas adrenais e fígado, intermediário nos rins e testículos e baixa na gordura e cérebro, comparativamente a Px-GSH.

Nos eritrócitos e musculatura esquelética não foi observado haver atividade da Px-GSH-NSe. Com base nos dados obtidos, os autores alertam para o fato de que, a determinação do nível do Se no organismo através da atividade enzimática pode ser errônea, a não ser quando esta é determinada com H_2O_2 como substrato.

3.5. Selênio e Reprodução

3.5.1. Reprodução na fêmea

Os efeitos da suplementação com Se se fazem sentir em várias etapas do processo reprodutivo das fêmeas. Em ratas, um maior número de filhotes por ninhada e maior sobrevivência da ninhada foi obtida em animais suplementados com Se (HALVERSON, 1974).

Nos animais domésticos, talvez a maior importância zootécnica esteja na deficiência marginal do elemento que tem sido apontada como causa de baixa eficiência reprodutiva e fecundidade (HARTLEY e GRANT, 1961; HILL et alii, 1969). A exemplo, na Escócia, 208 ovelhas foram tratadas com 271 UI de vit. E e 6mg de Se via parenteral um mês antes do acasalamento enquanto que outras 214 similarmente tratadas receberam ainda a mesma dosagem 3 meses mais tarde e, nestes dois grupos o número médio de cordeiros/ovelha foi respectivamente 1,22 e 1,28, contra 1,03 observado em 2.396 ovelhas não tratadas (MUDD e MACKIE, 1973).

O ovário e o útero seguem o mesmo padrão de absorção e retenção de Se que os outros órgãos do corpo, ou seja, há um rápido aumento inicial na concentração do elemento nos tecidos num período de cerca de 7 dias após aplicação e, ao redor de 28 dias decresce a níveis basais (WRIGHT, 1965).

A máxima eficiência do Se sobre o processo reprodutivo das fêmeas é no entanto dependente do estado nutricional do organismo. SEGERSON et alii (1977) trabalharam com grupos de vacas suplementadas ou não com 50mg de Se e 680 UI de vit. E 45 dias antes de um tratamento superovulatório e metade desta dose no 30º e 45º dia após a primeira injeção, as quais foram submetidas a dois níveis de nutrição: adequado (acima do recomendado pelo NRC) e inadequado (abaixo do recomendado pelo NRC). As vacas sob nutrição adequada e suplementadas com Se apresentaram 100% de fertilização dos óvulos (óvulo fertilizado/animal/grupo) contra 40% de fertilização nas não suplementadas. Aquelas submetidas a condições inadequadas de nutrição sem Se suplementar, apresentaram apenas 19,3% de fertilização enquanto que as suplementadas apresentaram 40,7% de fertilização.

Os níveis de Se na dieta recomendado pelo NRC para vacas é de 0,1ppm, mas com base na atividade da Px-GSH dos eritrócitos durante a gestação, ganho de peso da vaca ou do bezerro, MORAMARCO et alii (1977) sugeriram que talvez sob condições práticas de campo, a suplementação de vacas prenhes deverá ser acima da recomendação do NRC para atender as necessidades do organismo.

A retenção de placenta em vacas é outra afecção controlada pelo fornecimento de Se. TRINDER et alii (1969) administrando 15mg de Se e 680 UI de vit. E um mês antes do parto observou uma redução de 42 para 0% de retenção de placenta.

Resultados semelhantes foram obtidos por JULIEN (1976) em cinco rebanhos bovinos. Um efeito profilático do Se era observado independente de quanto α -tocoferol era suplementado (JULIEN et alii, 1976^{a,b}).

Um efeito diferencial da suplementação de Se em ratos fêmeas ou machos foi evidenciado no experimento de ROSENFIELD e BEATH (1954). Estes autores forneceram 3 níveis de Se (1,5, 2,5 e 7,5ppm) e ratos dos dois sexos por 3 gerações e relataram que os animais suplementados com 1,5 e 2,5ppm tinham reprodução normal e ninhadas normais, o que se manteve por duas gerações sucessivas de machos e fêmeas. Com o aumento na concentração para 7,5ppm Se houve decréscimo na fertilidade, redução na taxa de crescimento dos filhotes, perda de peso nos animais adultos e finalmente morte devido ao envenenamento crônico de Se. Para determinar quando a falha na reprodução era devido ao efeito do Se sobre o macho ou a fêmea, fêmeas normais foram acasaladas com machos tratados com Se e machos normais com fêmeas tratadas com Se. As fêmeas normais acasaladas com machos tratados (7,5ppm Se) tiveram reprodução e sobrevivência própria e dos filhotes normais e, o contrário não ocorreu. Portanto, a falha na reprodução quando a concentração de Se na dieta era de 7,5ppm foi devida aos efeitos do Se sobre as fêmeas; a fertilidade dos machos não foi afetada negativamente pela alta concentração do elemento.

3.5.2. Reprodução nos machos

Altas concentrações de Se são acumuladas no tecido testicular após o fornecimento de doses traço deste elemento a ratos, ovinos (JACOBSON, 1966) e aves (JENSEN et alii, 1963; PATRICK et alii, 1965).

A absorção e retenção do Se pelos testículos segue um padrão diverso dos demais tecidos do organismo. GUNN et alii (1967) estudaram a distribuição do Se^{75} fornecido em dose traço, em dez diferentes órgãos do corpo de ratos e com exceção dos testículos, todos os tecidos atingiram a máxima concentração de Se entre um dia e uma hora após a aplicação e perderam 50% a 90% deste teor em 7 dias. Ao contrário, os testículos, os quais foram um dos órgãos que menor nível de Se tiveram após uma hora, continuaram a acumular o elemento. Em 7 dias a concentração de Se nos testículos era 3,5 vezes maior que a observada na 1ª hora e, após os 7 dias a gônada era o terceiro tecido na escala, após o fígado e rins, quanto à concentração de Se.

PATRICK et alii (1965) administraram uma única dose de $Se^{75}O_3$ subcutaneamente em galos e observaram ainda haver radioatividade no líquido seminífero 44 dias após a injeção e, na fração proteína do espermatozóide até 50 dias após, sob a forma de selenocistina. Há uma considerável acumulação de Se^{75} -cistina e Se^{75} -metionina nos testículos (ANGHILERI e MARQUES, 1965).

O Se é provavelmente incorporado nos espermatozoides em sua fase de formação (GUNN e GOULD, 1970).

A acumulação de Se⁷⁵ nos testículos pode perdurar por uma ou duas semanas e, quando esta cai o Se⁷⁵ atinge precipitadamente a cabeça do epidídimo e continua a seguir a sequência normal de progressão através do corpo e cauda (GUNN et alii, 1967). Este padrão do comportamento do Se nos órgãos reprodutivos foi considerado como o indicativo de uma associação do elemento com a onda de espermatogênese.

Pesquisadores de Oregon State University, numa série de estudos sobre selênio no testículo de ratos (WU et alii, 1969; WU et alii, 1973; WU e OLDFIELD, 1977) observaram que o peso vivo médio e peso dos testículos de ratos deficientes em Se eram cerca de 59 e 67% respectivamente, do peso daqueles que recebiam 0,1ppm de Se na dieta. A carência de Se aparentemente também prejudicava a função testicular, pois, nos ratos deficientes havia uma diminuição na espermatogênese e reduzido número de espermatozoides na cauda do epidídimo e destes, a maioria era morfológicamente anormal e imóvel. A anormalidade mais frequente nos espermatozoides do epidídimo foi a quebra da cauda. A maior redução no peso corporal comparativamente ao peso dos testículos, segundo os autores, pode indicar a prioridade do último sobre o processo de crescimento somático na competição por Se. Ainda com base nestes estudos, é sugerido que o efeito da deficiência de Se sobre a estrutura

dos espermatozoides é direto e específico, ao invés do efeito indireto geral do Se sobre o crescimento. Talvez o Se seja essencial para a formação do flagelo espermático durante a espermiogênese ou ainda este elemento seja importante à qualidade da membrana que envolve os filamentos axiais. Com relação a este último ponto, WU e seus colaboradores assim o concluíram com base no fato de que a adição de vit. E à dieta em quantidades muito superiores às requeridas ou, adição de outros antioxidantes não modificou a falta de motilidade dos espermatozoides observada com a deficiência de Se.

Também JULIEN e MURRAY (1977) observaram haver relação entre Se e motilidade de espermatozoides de bovinos. Em alíquotas de sêmen diluído (com $1,0 \times 10^6$ espermatozoides móveis) foram adicionadas 0,1ml de diluídos adicionais contendo 0 a 5ppm de Se ou 0ppm de Se e 0 UI de vit. E 5ppm de Se e 68 UI de vit. E. A motilidade dos espermatozoides foi medida no tempo 0 e 24 horas depois. A % de motilidade expressa como espermatozoides móveis totais por espermatozoides totais, aumentou significativamente quando a concentração de Se aumentou de 0 a 1,0ppm. As concentrações superiores a 1ppm foram aparentemente citotóxicas. Não foram notadas diferenças significativas entre a adição de Se exclusivamente ou Se + vit. E, em níveis comparáveis de Se.

Sobre o modo de ação do Se nos testículos não há ainda informes conclusivos na literatura. É conhecida apenas a presença da Px - GSH nos órgãos reprodutivos dos machos.

A atividade da oxidase da espermina no fluido seminal é capaz de produzir H_2O_2 e a célula espermática por si mesma também produz H_2O_2 presumivelmente a partir da deaminação de aminoácidos (TOSIC e WALTON, 1950). O peróxido é altamente tóxico ao espermatozóide de bovinos e a oxigenação do sêmen é deletéria à função espermática, especialmente à motilidade (VAN DEMARK et alii, 1949). MANN (1968) também cita a presença da oxidase de L-aminoácido como uma das enzimas ligadas à atividade respiratória dos espermatozóides, a qual participa de reações que produzem amônia e peróxido de hidrogênio. O mesmo autor coloca ainda que a catalase que é largamente distribuída nos outros tecidos do organismo e responsável pela degradação de peróxidos de hidrogênio é praticamente ausente nos espermatozóides de mamíferos. Consequentemente, estes não podem decompor os peróxidos tóxicos que se acumulam em suas células.

No entanto LI (1975) após constatar a presença de atividade de Px-GSH nos espermatozóides do cão, homem, bode, coelho e porco, embora quase nula nas duas últimas espécies sugeriu que talvez esta enzima participe de um mecanismo intracelular que remova os peróxidos como o que ocorre nos eritrócitos, beneficiando a sobrevivência dos espermatozóides.

A Px-GSH, da mesma forma que o Se, segue um comportamento diferente no testículo, comparativamente a outros órgãos. CHOW e TAPPEL (1974) submeteram ratos a uma ração deficiente em Se por 17 dias e neste período a atividade da Px-GSH

no fígado, rins, coração e pulmões, decresceu respectivamente 47, 55, 53 e 39%. No plasma a queda na atividade enzimática foi muito mais drástica (cerca de 95%) e nos eritrócitos foi pouco alterada. Contrariamente, nos testículos a atividade da enzima aumentou cerca de 87% relativamente ao nível no início do período. Num período subsequente, a suplementação com Se provocou a seguinte resposta relativa quanto à Px-GSH nos tecidos: plasma > rins; coração, fígado e pulmões > eritrócitos > testículos.

Em suínos, LI (1975) não encontrou atividade de GSH-Px, mas, STONE et alii (1977) detectaram a enzima no tecido testicular e da cauda do epidídimo, sugerindo ainda que a Px-GSH pode ser importante no início da puberdade e desenvolvimento testicular dos cachorros.

O primeiro estudo sobre Px-GSH no sêmen de bovinos foi feito em 1976 por BROWN et alii, de Washington State University e seus resultados, publicados no ano seguinte (BROWN et alii, 1977) mostram haver correlação positiva ($r = 0.70$, $p < 0,01$) entre os níveis de Px-GSH e volume ejaculado. Mas, não houve correlação entre os níveis da enzima e número de espermatozoides, sugerindo que a concentração de Px-GSH é alta no plasma seminal e baixa nos espermatozoides do ejaculado. Neste ensaio foram utilizados para análise, material de duas ejaculações sucessivas de 10 touros adultos.

Num outro estudo, BROWN e SENGGER (1977), para

determinar as relações entre Px-GSH, concentração de espermatozoides e volume ejaculado e determinar se a enzima estava associada com componentes do espermatozóide do epidídimo ou plasma seminal do sêmen de bovinos, utilizaram material de 12 ejaculados consecutivos de 3 touros adultos e espermatozóides livres de plasma seminal coletados através de canulas no epidídimo e ducto deferente. Os níveis da enzima não estavam correlacionados com as mudanças na concentração de espermatozóides, entretanto houve correlação positiva ($r = 0,93$, $p < 0,01$) entre quantidade de enzima ejaculada e volume ejaculado o que confirmou a observação anterior sobre o maior nível da enzima no plasma seminal. Também foi concluído que os níveis de Px-GSH eram mais altos ($p < 0,01$) no plasma seminal que nos espermatozóides do epidídimo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Local

O experimento foi conduzido em instalações da Central de Inseminação Artificial da Agropecuária Lagoa da Serra Ltda. - Sertãozinho, Estado de São Paulo, no período de 03 de janeiro a 03 de junho de 1978.

O município de Sertãozinho está localizado a 21°09' de latitude sul e 47°59' de longitude oeste de Greenwich, com altitude de 550 metros e clima semi-úmido. A precipitação anual é de 1.150mm sendo as chuvas mais concentradas no período de novembro a janeiro e julho o mês mais seco. A temperatura média máxima é de 34,2°C e média mínima de 17,3°C.

4.2. Animais e formas de suplementação

Foram selecionados 18 touros adultos sendo 7

taurinos (*Bos taurus*) e 11 zebuinos (*Bos indicus*) com idade variando entre 33 e 150 meses, classificados em 3 níveis (faixas A, B e C) quanto à aptidão para produção e congelamento de sêmen para uso em inseminação artificial (VALE FILHO, 1978). Todos os animais apresentavam sêmen morfologicamente estável e nível de patologia baixo, com variações apenas em aspectos físicos.

Os critérios utilizados para a classificação dos animais nas 3 faixas de produção de sêmen são apresentados na tabela 1.

Os touros foram submetidos às seguintes formas de suplementação de selênio (Se) na forma de selenito de sódio:

S₁ - controle: os animais receberam uma mistura de concentrados com 0,1ppm de Se, mais ração de volumosos.

S₂ - suplementação de Se via oral: os animais receberam uma mistura de concentrados com 2,6ppm de Se, mais ração de volumosos.

S₃ - suplementação de Se via intramuscular: os animais receberam a mesma ração do S₁ e a cada 60 dias, uma injeção 9,0mg de Se/100kg de peso vivo

A relação dos touros experimentais e sua identificação pela raça, idade, faixa de produção de sêmen, PV inicial, forma de suplementação de Se e método de coleta de sêmen a que foram submetidos é apresentada na tabela 2.

Tabela 1. Classificação de touros com sêmen morfologicamente normal, para doadores de sêmen em Centrais de Inseminação Artificial. Estudo em 15 touros, trabalhados na mesma época, com idêntico manejo e análise de 21 a 27 ejaculações subsequentes (segundo VALE FILHO et alii, 1978).

	F A I L H O S		
	A	B	C
Volume (ml)	10,1 (6,5 - 12,6)	12,4 (6,8 - 16,9)	11,2 (6,9 - 15,8)
Turbilhão (1 - 5)	4,3 (3,7 - 4,6)	3,7 (3,2 - 4,3)	3,3 (3,1 - 3,8)
Motilidade (%)	67,3 (63,8 - 71,2)	59,8 (52,2 - 65,9)	56,5 (48,2 - 60,9)
Vigor (1 - 5)	4,9 (4,7 - 5,0)	4,7 (4,2 - 4,9)	4,6 (4,5 - 4,8)
Concentração ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	1612,8 (1216,0 - 1892,7)	1191,1 (714,9 - 1650,9)	1366,5 (714,9 - 2110,6)

OBS.: Os valores apresentados são médias e entre parênteses a variação mínima e máxima observada em cada faixa.

Tabela 2. Relação dos touros, sua identificação pela raça, idade, faixa de produção, peso vivo (PV), forma de suplementação de Se e método de coleta de sêmen utilizados no experimento.

Touro	Raça	Idade (meses)	PV (kg)	Faixa de produção	Forma de suplemen tação de Se	Método de coleta de sêmen
1	HPB	65	1033	A	S ₁	VA
2	SCH	89	864	A	S ₁	VA
3	NEL	130	804	B	S ₁	EE
4	NEL	66	974	B	S ₁	VA
5	TAB	65	910	C	S ₁	VA
6	SCH	81	825	C	S ₁	EE
7	HVB	42	963	A	S ₂	VA
8	HVB	68	985	A	S ₂	VA
9	NEL	75	969	B	S ₂	EE
10	NEL	68	910	B	S ₂	EE
11	NEL	64	955	C	S ₂	VA
12	NEL	150	804	C	S ₂	EE
13	HVB	33	820	A	S ₃	VA
14	GIR	62	656	B	S ₃	VA
15	NEL	64	867	C	S ₃	VA
16	NEL	33	895	C	S ₃	EE
17	GIR	70	756	A	S ₃	VA
18	SIM	57	840	B	S ₃	VA

HPB = Holandesa Preta e Branca

HVB = Holandesa Vermelha e Branca

SCH = Schwyz

NEL = Nelore

TAB = Tabapuã

GIR = Gir

SIM = Simental

VA = Vagina Artifi-
cial

EE = Eletroejacula-
ção

4.3. Alimentação dos Touros

No arraçoamento dos animais foram empregados (a) feno de grama Estrela (*Cynodon plectostachyus*), (b) silagem de milho (*Zea mays*) e (c) dois tipos de mistura de concentrados: Concentrado 1 e Concentrado 2, contendo respectivamente 2,6 e 0,1ppm de Se. Um "premix" de vitaminas e minerais foi adicionado ao concentrado.

Nas tabelas 3, 4 e 5 são apresentadas a composição da mistura de concentrados; a composição do "premix" do Concentrado 1 e Concentrado 2 e a composição bromatológica e teores de cálcio, fósforo e selênio dos alimentos.

Para os taurinos foram obedecidas as normas de alimentação do NRC (1971) enquanto que para zebuinos as exigências nutricionais foram consideradas como sendo 75% das recomendadas pelo NRC (1976) quanto à energia, segundo PRESTON e WILLIS (1974).

O volumoso foi distribuído na base de 1 a 2kg de feno e 10 a 15kg de silagem/dia para zebuinos e taurinos respectivamente e o concentrado segundo o PV de cada animal. Aos touros submetidos à forma de suplementação S_2 foi fornecido o Concentrado 1 e aos demais o Concentrado 2.

Desta forma, os animais do grupo S_2 receberam 1,0ppm de Se/100kg PV e os dos grupos S_1 e S_3 receberam 0,2ppm de Se/100kg PV na dieta total.

Tabela 3. Composição da mistura de concentrados
(Concentrado 1 e Concentrado 2)

Ingredientes	% na ração
Arroz gordo	5,0
Osso calcinado	2,5
Casca de arroz	10,0
Farelo de mandioca	15,0
Fubá de milho	23,0
Farelo de trigo	31,0
Melaço de cana	12,0
Sal móido	1,0
Premix vit./mineral	0,5
T O T A L	100,0

Tabela 4. Composição do Premix no Concentrado 1 e Concentrado 2

	Concentrado 1		Concentrado 2	
	g	%	g	%
Vitamina A 500.000 UI	1,0	0,20	1,0	0,20
Vitamina D ₃ 200.000 UI	0,2	0,04	0,2	0,04
Vitamina E 50%	3,0	0,60	3,0	0,60
Sal mineral ^b	20,0	4,00	20,0	4,00
Mistura de selênio ^a	270,0	54,0	22,0	4,40
Veículo q.s.p.	205,8	41,16	453,8	90,76
T O T A L	500,0	100,00	500,0	100,00

a: Mistura de selênio: 2,7g de selenito de sódio, diluído em 1kg de veículo.

b: Sal mineral: 20g/100kg contem: 2,0g Mn; 1,6g Fe; 4,0g Zn; 1,6g Cu; 0,1g Co; 0,08g I.

Tabela 5. Composição bromatológica^a e teores de cálcio, fósforo e selênio do feno de grama Estrela, silagem de milho e Concentrados 1 e 2.

	Feno	Silagem	Concentrado 1	Concentrado 2
Matéria seca %	88,59	31,00	85,57	85,20
Proteína bruta %	8,25	1,99	13,80	14,20
Fibra bruta %	32,56	9,52	9,87	9,46
Extrato etéreo %	1,81	0,85	1,31	1,20
Cinza %	5,20	1,34	9,87	9,59
Nutrientes digestíveis totais % ^b	44,79	20,15	60,0	59,7
Cálcio % ^c	0,52	1,90	1,10	1,00
Fósforo % ^d	0,41	0,08	0,48	0,49
Selênio (ppm) ^e	0,37	0,13	2,60	0,10

(a) Determinada com base no método do AOAC, 1975.

(b) Estimado com base nas tabelas do NRC, 1976.

(c) Determinado por titimetria com EDTA, segundo AOAC, 1965.

(d) Determinado por fotometria com molibdovanadato de amônio, AOAC 1975.

(e) Determinado por fluorometria (ver Apêndice 1).

4.4. Condução do Experimento

Durante todo o período experimental de 151 dias os touros permaneceram em piquetes individuais de grama Estrela (*Cynodon plectostachyus*) com aproximadamente 700m², com cocho coberto para alimentos e bebedouros com água à vontade.

Às 7 horas era distribuído o concentrado a cada animal e às 13 horas a mistura de feno moido e silagem. Não foi observado haver sobra de alimentos nos cochos.

Durante a distribuição dos alimentos, uma vez por semana era tomada uma sub-amostra de cada tipo de alimento para compor uma amostra mensal. As amostras de silagem foram conservadas em congelador e as de feno e concentrado à temperatura ambiente até serem analisadas quanto à composição bromatológica e teor de Se.

As coletas de sêmen foram feitas sempre no período da manhã, em número de 2 (duas)/semana/animal. Logo após ser coletado, o material era entregue ao Laboratório de Tecnologia do Sêmen, contíguo à sala de coleta, onde era submetido a exames físicos e morfológicos. Os dados obtidos individualmente para cada coleta foram posteriormente agrupados compondo a média mensal do espermiograma de cada touro.

A cada 15 dias foram tomadas amostras individuais de 20ml de sangue da veia jugular. Após coagulação do sangue à temperatura ambiente este era centrifugado a 2.000rpm

por 5 minutos e separadas as porções soro e fração figurada, sendo ambas guardadas em "freezer" a -20°C até o momento da determinação do teor de Se.

No primeiro dia do experimento e depois a cada 60 dias, os touros submetidos à forma suplementação S_3 receberam injeção de 19,81mg de selenito de sódio⁽¹⁾ (equivalente a 9,0mg de Se) e 123 UI de vit. E (na forma de acetato de tocoferol)/100kg PV, intra-muscularmente, na perna traseira.

No decorrer do período, dois touros (números 17 e 18) apresentaram problemas clínicos e foram retirados do experimento.

4.5. Análise do Sêmen

O sêmen coletado foi analisado quanto às suas características físicas e morfológicas.

A análise da morfologia espermática foi utilizada apenas para controle do nível de patologia do material coletado. Nos touros experimentais este nível manteve-se dentro dos padrões normais segundo LAGERLÖF (1934) e RAO (1971), citados por CASAGRANDE (1973).

(1) MU-SE, Burns. Biotec Laboratories Division. Oakland, Califórnia, USA.

Para os exames físicos do sêmen, foi utilizada estufa com temperatura controlada de $38,5^{\circ}\text{C}$ para acondicionamento de todo o material de contato com o sêmen; aparelho contador de partículas (tipo "micro cell counter"), bem como, pipeta de Sahli e câmara de Neubauer para avaliação da concentração espermática; microscópio convencional (aumento de 100 - 400 vezes) com platina aquecida de temperatura controlada, para verificação do turbilhonamento (motilidade em massa, classificada de 1 a 5), da motilidade (porcentagem de espermatozoides móveis) e do vigor (intensidade do movimento em si, classificada de 1 a 5).

4.6. Determinação do teor de selênio

Os níveis de Se no soro e fração figurada do sangue e alimentos foram determinados por fluorometria, segundo o método de IHNAT (1974) aprimorado por LAVORENTI (1978).

Basicamente o processo envolve a decomposição da amostra por via úmida, a reação do Se com 2,3-diaminonaftaleno e posterior extração do complexo formado com ciclohexano, sendo a fase orgânica coletada e analisada fluorimetricamente.

A descrição do material utilizado e marcha analítica da determinação do Se são apresentadas no Apêndice I.

Os níveis de Se medidos separadamente no soro e fração figurada foram posteriormente somados fornecendo o parâ

metro denominado "teor de Se no sangue total".

4.7. Análise estatística

De acordo com o delineamento experimental, cada forma de suplementação S_1 , S_2 e S_3 foi fornecida ao acaso a dois touros de cada uma das faixas A, B e C, e cada touro foi submetido a um período de 5 meses de coleta de sangue e sêmen. Em consequência deste delineamento, os dados foram submetidos a uma análise da variância de acordo com o esquema de parcelas subdivididas no tempo (STEEL e TORRIE, 1960).

Cada touro foi considerado como sendo uma parcela, enquanto que as observações sucessivas nos 5 meses feitas no mesmo animal foram designadas como subparcelas.

Tendo em vista que o valor de algumas das características estudadas eram referentes a porcentagens e notas, os mesmos foram transformados para atender às suposições da análise da variância. Os dados foram analisados tanto na sua forma original como transformados, tendo sido usado o menor coeficiente de variação como critério de escolha da transformação.

Em adição, os dados foram analisados de acordo com 3 modelos de análise da variância, pelo método dos quadrados mínimos, de acordo com HARVEY (1975), tendo em vista a perda de duas parcelas e das subparcelas correspondentes, e as di

ficuldades inerentes ao processo de estimar parcelas nessas circunstâncias. Os modelos estudados são apresentados na tabela 6 e, no caso de cada variável a escolha do modelo foi feita também pelo coeficiente de variação.

A soma de quadrados de meses foi decomposta em componentes individuais de regressão linear, quadrática, cúbica e quártica, através dos polinômios ortogonais ponderados para número desigual de observações (HARVEY, 1975).

A comparação entre médias foi feita pelo Teste de Tukey.

Tabela 6. Modelos de análise da variância dos dados pelo método dos quadrados mínimos.

Causa de Variação	GRAUS DE LIBERDADE		
	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3
Suplementação de Se (S)	2	2	2
Tipo de touro (T)	2	2	2
S x T	4	4	--
Regressão linear sobre o peso inicial	1	--	--
Resíduo (a)	6	7	11
Meses (M)	4	4	4
Regressão linear	1	1	1
Regressão quadrática	1	1	1
Regressão cúbica	1	1	1
Regressão quártica	1	1	1
S x M	8	8	--
T x M	8	8	--
Resíduo (b)	39	39	55

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Níveis de selênio no sangue

5.1.1. Nível de selênio no soro

As médias gerais do nível de selênio (Se) no soro sanguíneo dos touros submetidos às formas de suplementação S_1 (controle), S_2 (via oral) e S_3 (via intramuscular), dos touros classificados nas faixas A, B e C para produção de sêmen, e meses do experimento são apresentadas na tabela 7.

As médias mensais do nível de Se no soro para cada forma de suplementação são apresentadas na tabela A_1 do Apêndice 2 e representadas graficamente na figura 2. Na tabela A_2 do Apêndice 2 são apresentadas as médias mensais do teor de Se no soro sanguíneo dos touros das faixas A, B e C.

A análise da variância dos dados obtidos encontra-se na tabela 8.

Tabela 7. Níveis médios gerais de selênio no soro sanguíneo de touros conforme a forma de suplementação de selênio, faixa de classificação dos touros e meses.

Item	Se (ppm)
Forma de suplementação	
controle (S ₁)	0,064 ^a
via oral (S ₂)	0,079 ^a
via intramuscular (S ₃)	0,078 ^a
Tipo de touro	
faixa A	0,090 ^a
faixa B	0,060 ^b
faixa C	0,071 ^b
Meses de experimento	
janeiro	0,084 ^a
fevereiro	0,065 ^a
março	0,055 ^b
abril	0,085 ^a
maio	0,079 ^a

OBS.: Médias com letras diferentes dentro do mesmo item diferem entre si.

Tabela 8. Análise da variância dos teores de selênio no soro sanguíneo dos touros.

Causas de Variação	GL	QM
Suplementação Se	2	0,0017
Tipo de touro	2	0,0057**
Resíduo (a)	11	0,0006
Meses	4	0,0033**
linear	1	0,0003
quadrático	1	0,0064**
cúbico	1	0,0031
quártico	1	0,0033
Resíduo (b)	55	0,0007

OBS.: (**)= $P < 0,01$ C.V.(a) = 35,67%
C.V.(b) = 37,09%

O exame da figura 2 mostra haver uma tendência do teor de Se no soro dos animais submetidos à dieta que fornecia 1,0ppm Se/100kg de peso vivo (S_2) ser mais elevado comparativamente aos dos que recebiam 0,2ppm Se/100kg de peso vivo (S_1), no entanto a análise da variância não indica ser significativa esta diferença. Esta observação não concorda com os resultados obtidos por PERRY et alii (1976^{a,b}) com gado de cor

te, os quais relatam que os níveis de Se no soro refletem os níveis de Se da dieta.

O período de suplementação (5 meses) influenciou o nível médio de Se no soro dos touros experimentais ($P < 0,01$). A equação de regressão quadrática representativa deste efeito encontra-se na figura 3.

O nível de Se no soro sanguíneo referente ao mês de março foi inferior ($P < 0,05$) aos demais meses. PERRY et alii (1976^b) à semelhança do observado no presente trabalho, também relatam um decréscimo no nível de Se no soro dos novilhos em acabamento após 94 dias do início do experimento, com níveis de suplementação de 0,1 a 0,4ppm de Se na ração, os quais retornaram a níveis iguais ou pouco superiores aos do início do período experimental no 113º dia.

Os touros classificados como de faixa A para produção de sêmen apresentaram teor médio de Se no soro mais elevado que os touros da faixa B ($P < 0,01$) e faixa C ($P < 0,05$). Cabe colocar que a distribuição dos touros experimentais dentro das faixas A, B e C segundo suas características de produção de sêmen levou coincidentemente a que a faixa A estivesse representada apenas por animais taurinos (o único zebuino pertencente a este grupo foi retirado do experimento por ter apresentado problema clínico) enquanto que nas outras duas faixas, a maior representação é de zebuinos. Talvez neste fato possa residir a causa do efeito de tipo de touro sobre o nível de Se

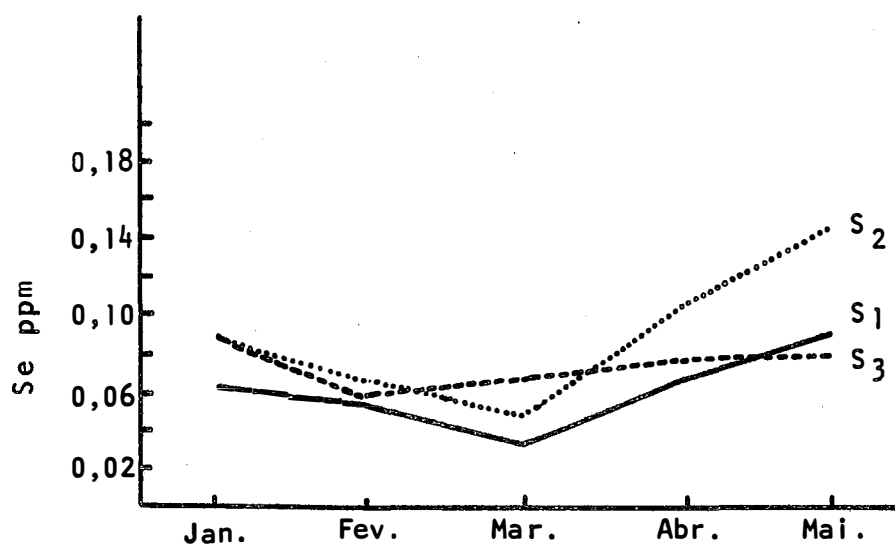


Fig. 2. Nível mensal de selênio no soro sanguíneo de touros sob três formas de suplementação de selênio.

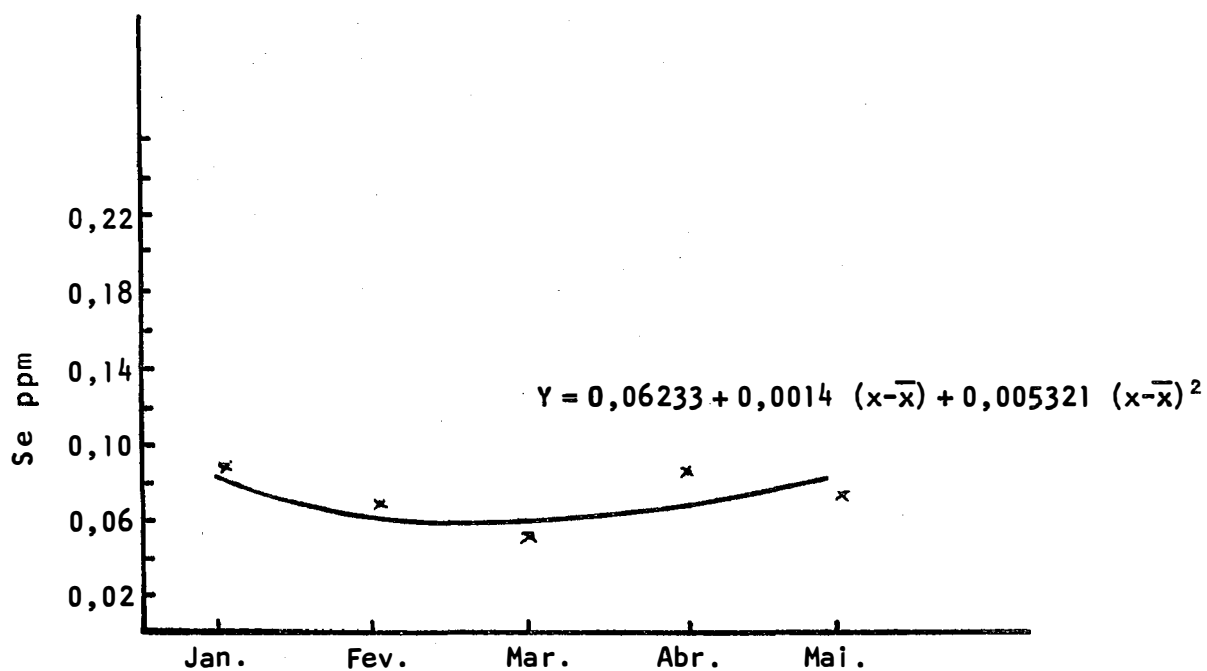


Fig. 3. Efeito de meses sobre o teor de selênio no soro sanguíneo de touros.

no sangue. A literatura ainda não fornece dados a respeito de diferenças entre raças quanto à metabolização do Se, entretanto, um indício para esta suposição pode ser obtido ainda na comparação dos trabalhos de PERRY et alii. Estes autores, quando suplementaram novilhos Hereford (1976^b) com 0,2ppm de Se observaram um nível de 0,057ppm de Se no soro após 29 dias do início do período de fornecimento, enquanto que novilhos Holstein (1976^a) suplementados no mesmo nível apresentaram um teor de 0,028ppm de Se no soro após 21 dias do início do período de suplementação.

5.1.2. Nível de selênio na fração figurada do sangue

As médias gerais do nível de Se na fração figurada do sangue dos touros submetidos às formas de suplementação S₁, S₂ e S₃, dos touros das faixas A, B e C e dos meses, são apresentadas na tabela 9. As médias mensais para cada forma de suplementação encontram-se na tabela A₁ do Apêndice 2 e estão graficamente representadas na figura 4. As médias mensais do teor de Se na fração figurada dos touros das faixas A, B e C são apresentadas na tabela A₂ do Apêndice 2.

A análise da variância dos dados obtidos encontra-se na tabela 10.

O nível de Se na fração figurada do sangue dos animais que receberam 1,0ppm de Se/100kg de peso vivo (S₂) foi significativamente ($P < 0,05$) superior aos níveis daqueles que

Tabela 9. Níveis médios gerais de selênio na fração figura da do sangue de touros conforme a forma de suplementação de selênio, faixa de classificação de touros e meses.

Item	Se (ppm)
Forma de suplementação	
controle (S ₁)	0,097 ^a
via oral (S ₂)	0,128 ^a
via intramuscular (S ₃)	0,123 ^{ab}
Tipo de touro	
faixa A	0,108 ^a
faixa B	0,118 ^a
faixa C	0,120 ^a
Meses de experimento	
janeiro	0,092 ^a
fevereiro	0,103 ^a
março	0,136 ^b
abril	0,097 ^a
maio	0,150 ^b

OBS.: Médias com letras diferentes dentro do mesmo item diferem entre si.

Tabela 10. Análise da variância dos teores de selênio na fração figurada do sangue dos touros.

Causas de Variação	GL	QM
Suplementação Se	2	0,0073*
Tipo de touro	2	0,0009
Resíduo (a)	11	0,0013
Meses	4	0,0104**
linear	1	0,0197**
quadrático	1	0,0000
cúbico	1	0,0079**
quártico	1	0,0141
Resíduo (b)	55	0,0008

OBS.: (*) = $P < 0,05$ C.V.(a) = 31,81%
(**) = $P < 0,01$ C.V.(b) = 25,51%

receberam 0,2ppm de Se/100kg de peso vivo (S_1), mas, ambos não diferiram estatisticamente do teor de Se na fração figurada do sangue dos touros suplementados por via intramuscular. Os valores de Se na fração figurada do sangue foram superiores aos valores do Se no soro.

Ao contrário do ocorrido com o Se do soro durante o período experimental, os níveis de Se na fração figurada aumentaram após 3 meses do início do experimento, tendo sido a média do mês de março superior ($P < 0,01$) à média dos outros meses, com excessão de maio. JACOBSSON (1966^b) também observou que o teor de Se no plasma de ovelhas tendia a diminuir enquanto o teor nas células sanguíneas aumentava com o passar do tempo, como consequência da incorporação do Se pelos eritrócitos.

O teor de Se na fração figurada do sangue dos touros sofreu um aumento linear significativo ($P < 0,01$) durante o período experimental. A equação de regressão representativa deste efeito é apresentada na figura 5. Conforme observado por SMITH et alii (1938), citado por JACOBSSON (1966^b) a retenção de Se nos tecidos é cumulativa e, COUSINS e CAIRNEY (1961) postulam que esta acumulação do Se no organismo é limitada.

No tocante ao Se na fração figurada do sangue, não foi observado efeito dos touros segundo sua classificação nas faixas de produção de sêmen.

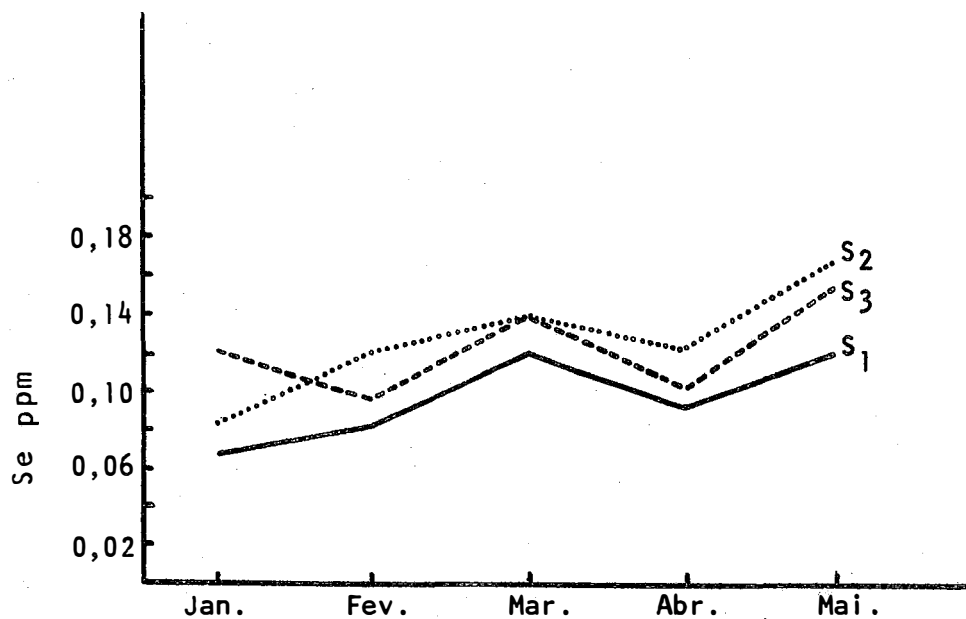


Fig. 4. Nível mensal de selênio na fração figurada do sangue de touros submetidos a três formas de suplementação.

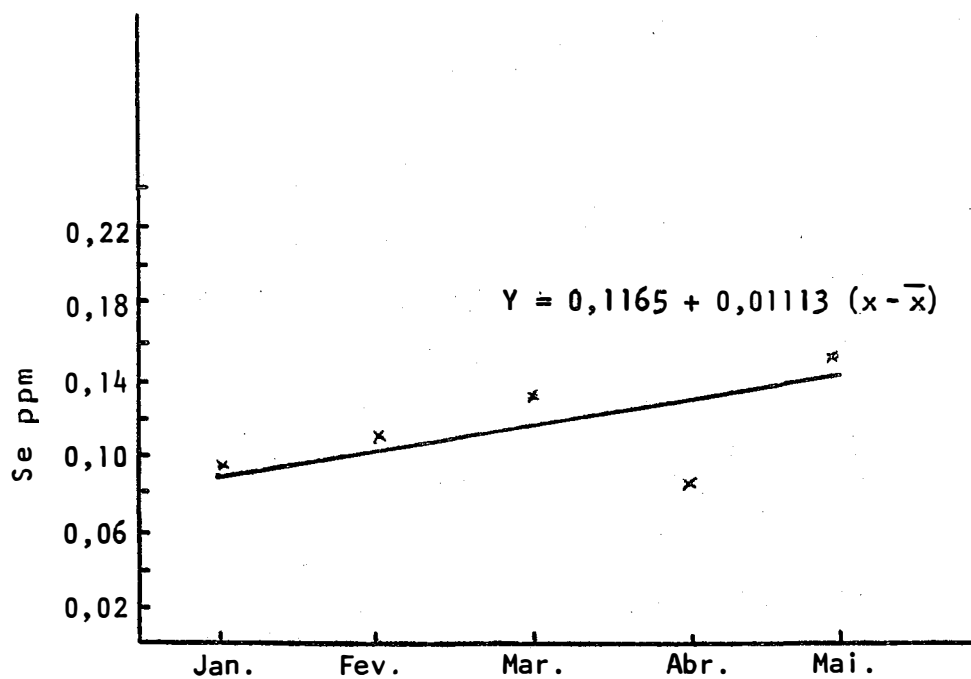


Fig. 5. Efeito de meses sobre o teor de selênio na fração figurada do sangue de touros.

5.1.3. Níveis de selênio no sangue total

As médias gerais do nível de Se no sangue total dos touros submetidos às formas de suplementação S_1 , S_2 e S_3 , dos touros das faixas A, B e C e dos meses de experimento são apresentadas na tabela 11. As médias mensais para cada forma de suplementação encontram-se na tabela A₁ do Apêndice 2 e estão graficamente representadas na figura 6. As médias mensais do teor de Se no sangue total de touros das faixas A, B e C são apresentadas na tabela A₂ do Apêndice 2.

A tabela 12 mostra a análise da variância dos resultados obtidos.

O nível de Se no sangue total dos touros submetidos à forma de suplementação S_1 , ou seja, aqueles que receberam 0,2ppm de Se/100kg de peso vivo (PV)/dia ou ração de concentrados com 0,1ppm de Se foi significativamente inferior ($P < 0,01$) comparativamente ao apresentado pelos touros que receberam ração de concentrados com 2,6ppm de Se (S_2) ou 9,0mg de Se via intramuscular a cada 60 dias (S_3). Este fato concorda com PERRY et alii (1976^b) os quais observaram que os níveis de Se no sangue total de novilhos refletem os níveis de Se da dieta. A comparação entre os valores obtidos para as formas de suplementação oral e para a suplementação intramuscular, relativamente a qualquer um dos parâmetros do sangue é mais difícil de ser feita, quer pela falta de equiparação das dosagens, quer pela diferente resposta do organismo a estas duas formas

Tabela 11. Níveis médios gerais de selênio no sangue total de touros conforme a forma de suplementação de selênio, faixa de classificação dos touros e meses.

Item	Se (ppm)
Forma de suplementação	
controle (S ₁)	0,161 ^a
via oral (S ₂)	0,206 ^b
via intramuscular (S ₃)	0,201 ^b
Tipo de touro	
faixa A	0,199 ^a
faixa B	0,177 ^a
faixa C	0,192 ^a
Meses de experimento	
janeiro	0,177 ^a
fevereiro	0,166 ^a
março	0,192 ^{ab}
abril	0,183 ^{ab}
maio	0,229 ^b

OBS.: Médias com letras diferentes dentro do mesmo item diferem entre si.

Tabela 12. Análise da variância dos teores de selênio no sangue total de touros.

Causas de Variação	GL	QM
Suplementação Se	2	0,0155**
Tipo de touro	2	0,0033
Resíduo (a)	11	0,0018
Meses	4	0,0095**
linear	1	0,0257**
quadrático	1	0,0070
cúbico	1	0,0007
quártico	1	0,0044
Resíduo (b)	55	0,0031

OBS. : (**) = $P < 0,01$

C.V. (a) = 22,52%

C.V. (b) = 29,67%

de fornecimento. JACOBSSON (1966^b) cita que a quantidade do Se que é retida no organismo após sua aplicação intramuscular depende da habilidade do Se da dieta em atingir ou não a capacidade de armazenamento fisiológico do organismo.

A comparação das médias mensais dos níveis de Se no sangue total dos touros experimentais mostrou haver diferença significativa ($P < 0,05$) entre a média do último mês, que foi superior, e as médias dos dois primeiros meses.

O período de suplementação influenciou significativamente ($P < 0,01$) o nível médio do Se no sangue total dos touros. Durante o experimento foi observado um aumento linear do teor de Se no sangue total o qual está representado na equação de regressão da figura 7.

Os teores médios de Se no sangue total, da mesma forma que os teores na fração figurada do sangue foram superiores aos teores médios de Se no soro durante o período experimental. Isto pode ser melhor visualizado na figura 8 a qual reúne os níveis médios mensais de Se nos três parâmetros do sangue.

No presente trabalho, o parâmetro Se no sangue total foi obtido pela soma dos valores determinados pela análise química do teor de Se no soro e fração figurada do sangue e sem dúvida é esperado que seu valor esteja acima daqueles que o compuseram. No entanto, um quadro semelhante foi observado por KUTTLER et alii (1961) com ovinos e PERRY et alii (1976^b)

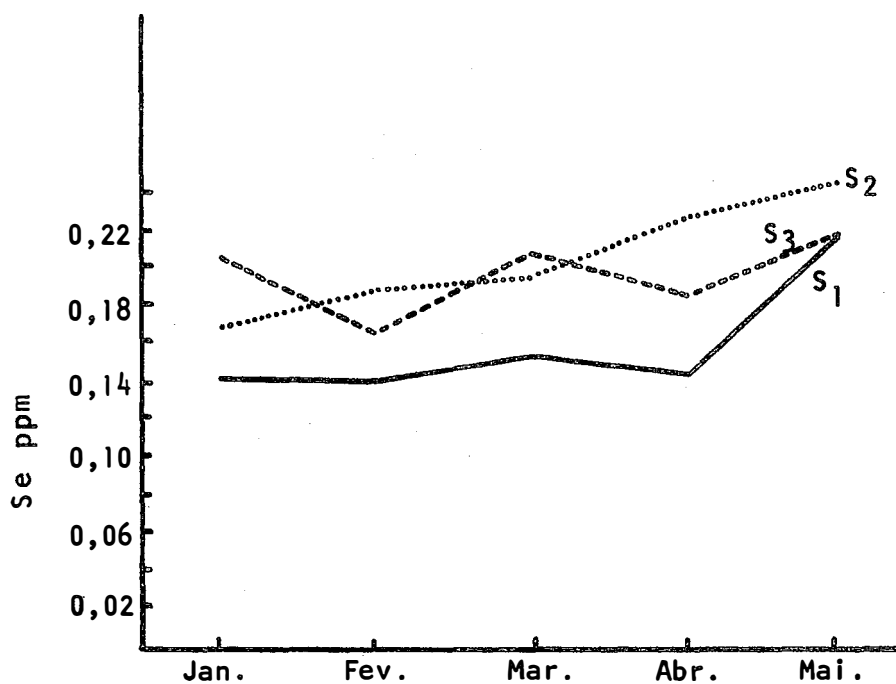


Fig. 6. Nível mensal de selênio no sangue total de touros sob três formas de suplementação.

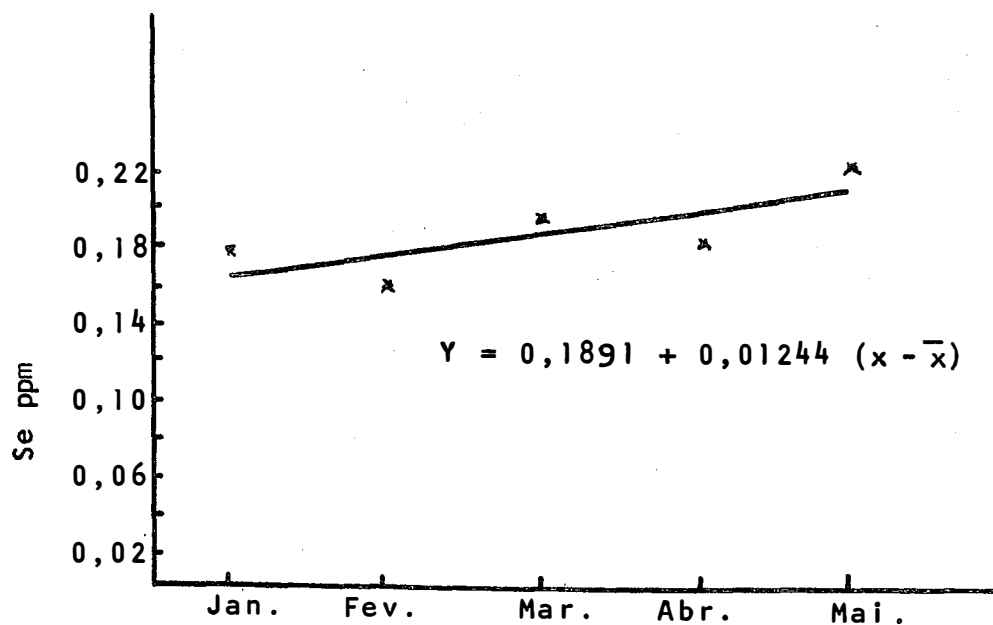


Fig. 7. Efeito de meses sobre o teor de selênio no sangue total dos touros.

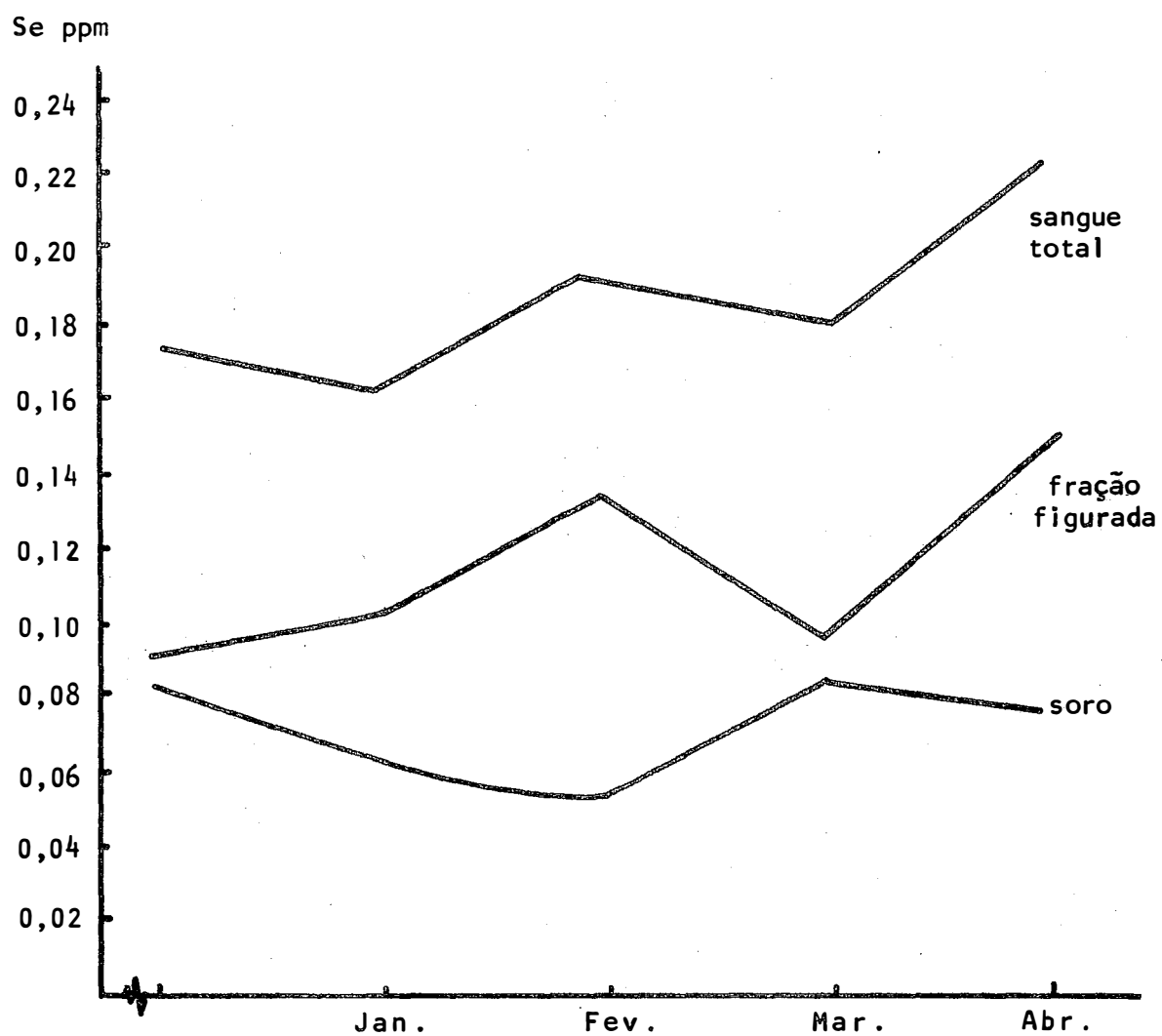


Fig. 8. Teores médios mensais de selênio no soro e fração figurada do sangue e sangue total dos touros.

com bovinos, ao determinarem quimicamente os níveis de Se em amostras de soro e sangue total. KUTTLER et alii obtiveram valores de Se no sangue total cerca de 2,8 vezes superiores aos teores de Se no soro e PERRY et alii obtiveram valores de Se no sangue total de 1,5 a 3,0 vezes maiores que os do soro. No presente experimento os níveis de Se no sangue total foram em média 2,6 vezes mais elevados que os níveis de Se determinados no soro.

5.2. Análise do Sêmen

5.2.1. Volume e concentração

As médias gerais do volume e concentração de espermatozoides no sêmen dos touros submetidos à formas de suplementação de selênio S₁ (controle), S₂ (via oral) e S₂ (via intramuscular), dos touros classificados nas faixas A, B e C para produção de sêmen e nos meses de coleta são apresentadas na tabela 13.

As médias mensais relativas a cada uma das formas de suplementação e tipo de touro encontram-se nas tabelas A₃ e A₄ do Apêndice 2, respectivamente para volume e concentração.

A análise da variância dos dados de volume de sêmen é apresentada na tabela 14 e de concentração de espermatozoides na tabela 15.

Os efeitos de forma de suplementação e tipo de

Tabela 13. Médias gerais do volume⁽¹⁾ e concentração de espermatozoides do sêmen dos touros, conforme a forma de suplementação, faixa de classificação dos touros e meses.

Item	Concentração (x 10 ³ /mm ³)	Volume ⁽²⁾
Forma de suplementação		
controle (S ₁)	1432,61	3,073
via oral (S ₂)	1002,29	3,285
via intramuscular (S ₃)	1518,76	2,806
Tipo de touro		
faixa A	1647,99	2,718
faixa B	1158,69	3,434
faixa C	1146,87	3,011
Meses ⁽³⁾		
janeiro	1491,65 ^a	3,078
fevereiro	1037,87 ^b	3,153
março	1438,69 ^a	3,051
abril	1400,35 ^a	2,901
maio	1220,69 ^a	3,088

(1) medido em ml.

(2) os valores apresentados correspondem aos dados originais transformados em \sqrt{x} .

(3) as médias assinaladas com letras diferentes, diferem entre si.

Tabela 14. Análise da variância do volume⁽¹⁾ do sêmen dos touros.

Causas de Variação	GL	QM
Suplementação Se		1,0726
Tipo de touro		4,4198
Resíduo (a)		2,2154
Meses		0,0582
linear		0,0062
quadrático		1,1170
cúbico		0,0971
quártico		0,0125
Resíduo (b)		0,0591

(1) Os valores apresentados correspondem aos dados originais transformados em \sqrt{x} .

$$C.V. (a) = 48,46\%$$

$$C.V. (b) = 7,91\%$$

Tabela 15. Análise da variância da concentração de espermatozoides no sêmen dos touros.

Causas de Variação	GL	QM
Suplementação Se (S)	2	1868783,0029
Tipo de touro (T)	2	1844158,5034
Interação S x T	4	219352,1253
Resíduo (a)	7	973404,8594
Meses (m)	4	461748,5008 ^{**}
linear	1	201905,4991
quadrático	1	386,8599
cúbico	1	1165254,5029 ^{**}
quártico	1	479462,1883 ^{**}
Interação S x M	8	83419,8439
Interação T x M	8	57421,7501
Resíduo (b)	39	61116,0938

OBS.: (**) = $P < 0,01$

C.V. (a) = 38,17
C.V. (b) = 9,49

touro não foram significativos para estes dois parâmetros do sêmen. Apenas para a concentração de espermatozoides foi significativo ($P < 0,01$) o efeito de meses.

O valor médio da concentração no mês de fevereiro foi significativamente menor que o observado nos meses de janeiro, março e maio ($P < 0,01$) e abril ($P < 0,05$).

WU et alii (1973) relataram que ratos criados com dietas isentas de Se, além de redução no peso corporal e do testículo, produziam reduzido número de espermatozoides com alto índice de anormalidade. No entanto, não há informação na literatura relacionando nível de consumo de Se e concentração de espermatozoides ou volume de sêmen produzidos.

Volume ejaculado e concentração de espermatozoides são características sujeitas à modificação pelo método de coleta utilizado. Amostras de sêmen obtidas por eletroejaculação são usualmente de maior volume e menor concentração de espermatozoides comparativamente às coletadas com vagina artificial. Tamanho da raça do touro também afeta o volume (HAFEZ, 1974). Estes fatores podem ter influenciado os valores observados relativamente a estas características do sêmen, uma vez que o experimento envolveu várias raças bovinas e utilizou os dois tipos de coleta de sêmen.

Outros fatores como temperatura ambiente, comprimento do dia, tamanho do testículo, podem influenciar a con

centração espermática e número total de espermatozoides (CLEGG e GANONG, 1969).

Em vista desses fatores externos não é contraditório obter efeito de mês de coleta sobre a concentração de espermatozoides.

5.2.2. Turbilhonamento e vigor

As médias gerais dos valores de turbilhonamento e vigor dos espermatozoides do sêmen dos touros submetidos às formas de suplementação S_1 , S_2 e S_3 , dos touros das faixas A, B e C e nos meses de coleta são apresentadas na tabela 16.

As médias mensais relativas às 3 formas de suplementação e tipos de touro encontram-se nas tabelas A_5 e A_6 do Apêndice 2, respectivamente para turbilhonamento e vigor.

A tabela 17 mostra a análise da variância dos dados obtidos.

Da mesma forma que o observado para os parâmetros volume e concentração, não foram significativos os efeitos da suplementação de Se e tipo de touro para o turbilhonamento e vigor dos espermatozoides e também não houve efeito dos meses.

O turbilhonamento ou movimentação em massa dos espermatozoides e o vigor que é a intensidade de movimento das células espermáticas são características cujo valor, no presen

Tabela 16. Médias gerais do turbilhonamento¹ e vigor¹ do sêmen dos touros, conforme a forma de suplementação de selênio, faixa de classificação de touros e meses.

Item	Turbilhão ²	Vigor ²
Forma de suplementação		
controle (S ₁)	1,110	1,524
via oral (S ₂)	1,266	1,605
via intramuscular (S ₃)	1,312	1,567
Tipo de touro		
faixa A	1,414	1,604
faixa B	1,210	1,574
faixa C	1,065	1,517
Meses		
janeiro	0,212	1,556
fevereiro	0,373	1,582
março	1,198	1,555
abril	1,202	1,576
maio	1,162	1,557

1 avaliados subjetivamente segundo uma escala de 1 a 5, sendo 5 o melhor.

2 os valores apresentados correspondem aos dados originais transformados em log x.

Tabela 17. Análise da variância do turbilhamento⁽¹⁾
e vigor⁽¹⁾ do sêmen dos touros.

Causas de Variação	GL	Quadrados médios	
		turbilhão	vigor
Suplementação Se	2	0,3164	0,0509
Tipo de touro	2	0,7821	0,0533
Resíduo (a)	11	0,2601	0,0449
Meses	4	0,0655	0,0013
linear	1	0,0658	0,0001
quadrático	1	0,0582	0,0001
cúbico	1	0,0356	0,0003
quártico	1	0,1022	0,0049
Resíduo (b)	55	0,0254	0,0023
Coefficientes de		(a) 41,94	(a) 13,55
Variação %		(b) 13,11	(b) 3,11

(1) Os valores apresentados correspondem aos dados originais transformados em $\log x$.

te trabalho, é expresso através de uma escala numérica (1 a 5, sendo 5 o melhor valor), após o exame subjetivo das amostras de sêmen. Talvez esta forma de expressão, embora de grande utilidade e emprego na avaliação do sêmen para uso em inseminação artificial, não seja sensível o bastante para o uso em trabalhos científicos. Instrumentos eletrônicos e cinematografia de alta velocidade usados em pesquisas sobre fisiologia da reprodução (FOOTE, 1969) podem avaliar com maior acuracidade estes parâmetros. Além disso, o turbilhonamento reflete a concentração e viabilidade das células espermáticas e, como discutido anteriormente, a concentração de espermatozoides nas amostras de sêmen coletadas pode ter sido influenciada por fatores de manejo ou meio ambiente.

5.2.3. Motilidade

As médias gerais da motilidade do sêmen dos touros submetidos às formas de suplementação S_1 , S_2 e S_3 , dos touros classificados nas faixas A, B e C e nos meses experimentais são apresentadas na tabela 18.

As médias mensais relativas a cada uma das formas de suplementação e tipos de touros são encontradas na tabela A₇ do Apêndice 2.

Na tabela 19 é apresentada a análise da variância dos dados.

A motilidade medida como porcentagem de esperma

Tabela 18. Médias gerais da motilidade (% de espermatozóides móveis) no sêmen dos touros, conforme a forma de suplementação de selênio, faixa de classificação de touros e meses.

Item	Motilidade ⁽¹⁾
Forma de suplementação	
controle (S ₁)	48,716 ^a
via oral (S ₂)	52,698 ^b
via intramuscular (S ₃)	50,293 ^{ab}
Tipo de touro	
faixa A	52,831 ^a
faixa B	51,057 ^b
faixa C	47,818 ^{ab}
Meses	
janeiro	49,414 ^a
fevereiro	52,596 ^b
março	49,068 ^a
abril	50,701 ^{ab}
maio	51,066 ^{ab}

(1) os valores apresentados correspondem aos dados originais transformados em $\text{arc sen } \sqrt{\%}$.

OBS.: médias com letras diferentes dentro do mesmo item diferem entre si.

Tabela 19. Análise da variância da motilidade
do sêmen dos touros⁽¹⁾

Causas de Variação	GL	QM
Suplementação Se (S)	2	103,3804*
Tipo de touro (T)	2	159,4098*
Interação S x T	4	41,1062
Regressão linear sobre o Peso inicial	1	11,3556
Resíduo (a)	6	19,9619
Meses (m)	4	26,0699**
linear	1	1,5125
quadrático	1	0,1871
cúbico	1	44,4864**
quártico	1	58,0932**
Interação S x M	8	2,9822
Interação T x M	8	6,0983
Resíduo (b)	39	5,7687

(1) os valores apresentados correspondem aos
dados originais transformados em $\text{arc sen}\sqrt{\%}$

OBS.: (*) = $P < 0,05$

C.V. (a) = 8,88%

(**) = $P < 0,01$

C.V. (b) = 4,77%

tozóides móveis no sêmen, foi influenciada pela suplementação com Se. Os touros que receberam 1,0ppm de Se/100kg PV/dia (S_2) apresentaram maior índice de motilidade ($P < 0,05$) comparativamente aos touros suplementados com 0,2ppm de Se/100kg PV/dia (S_1) através da ração. Não houve entretanto diferença significativa na motilidade do sêmen dos animais submetidos à forma de suplementação S_3 (via intramuscular) relativamente às formas S_1 e S_2 .

WU et alii (1969, 1973) relatam que os espermatozóides produzidos por ratos mantidos sob dieta isenta de Se, são células imóveis e com alto índice de anormalidades, enquanto que aqueles mantidos sob dieta com 0,1ppm de Se produziram sêmen de morfologia normal e excelente motilidade.

Um único estudo, de JULIEN e MURRAY (1977), foi encontrado na literatura pesquisada, relacionando selênio e motilidade de sêmen de bovinos. Estes autores observaram que a motilidade em amostras de sêmen diluído aumentava significativamente conforme os níveis de adição de Se aumentaram de 0 a 1ppm.

Os touros da faixa A apresentaram um nível de motilidade significativamente superior ($P < 0,05$) ao observado nos touros da faixa C. Entretanto, a motilidade do sêmen dos touros da faixa B não diferiu significativamente da apresentada no sêmen dos touros das faixas A e C.

Um efeito de meses ($P < 0,01$) foi ainda observa-

do sobre a motilidade. A comparação entre as médias dos meses mostrou que o valor da motilidade no mês de fevereiro foi mais elevado ($P < 0,05$) relativamente aos meses de janeiro e março.

5.3. Considerações finais

Até o presente momento, a grande maioria dos estudos levados a efeito sobre metabolismo, distribuição nos tecidos e excreção de Se, referem-se a períodos curtos de tempo, muitas vezes horas, o que torna difícil sua comparação relativamente a um período experimental mais extenso como é o caso do presente trabalho.

No que se refere aos efeitos do Se sobre a qualidade do sêmen estes talvez pudessem ser melhor observados se no experimento houvessem sido incluídos, ou uma dieta deficiente em Se ou touros com problemas de fertilidade, relativos às condições de manejo, pronunciados. Os animais experimentais apresentavam entretanto satisfatório índice de fertilidade; segundo seus espermogramas e o fornecimento de Se foi em quantidade similar ou superior à recomendada pelas tabelas de alimentação do N.R.C.

No entanto, a motilidade mostrou ser positivamente influenciada pela suplementação de Se e esta observação se constitui num passo de grande importância e interesse no campo da nutrição de reprodutores pois motilidade é considerada

ser uma das mais significantes informações acerca da qualidade do sêmen, devido à sua alta correlação com taxa de frutólise e respiração, dois importantes processos metabólicos do sêmen (HAFEZ, 1974).

Os resultados obtidos evidenciaram que talvez sob condições práticas, um nível superior a 0,1ppm de Se possa ser requerida na dieta de touros. MORAMARCO et alii (1977) também observaram que a exigência em Se de vacas mantidas à campo parece ser acima da recomendada pelo N.R.C.

Para uma maior definição sobre o assunto é necessário entretanto que novas pesquisas sejam desenvolvidas, aprofundando e estendendo os conhecimentos sobre o Se e seus efeitos na reprodução de bovinos.

6. CONCLUSÕES

As principais inferências obtidas no presente trabalho podem ser assim resumidas:

1) O selênio se concentra mais na fração figurada do sangue, comparativamente ao soro sanguíneo, sendo que os níveis de selênio na fração figurada ou sangue total de touros, tendem a refletir o teor de selênio da dieta. A concentração de selênio no sangue, tende a aumentar com o decorrer do período de suplementação.

2) A adição de selênio à mistura de concentrados ou sua aplicação periódica intramuscularmente não provocaram alterações no volume, vigor e turbilhonamento, ou concentração de espermatozóides do sêmen.

A motilidade (% de espermatozóides móveis) foi influenciada pela suplementação de selênio na dieta. A forma como foi conduzido o experimento não permite concluir qual o nível de suplementação de selênio mais adequado para a obtenção de sêmen de boa qualidade, embora tenham havido evidências

de que este esteja acima de 0,1ppm na ração.

As observações feitas neste estudo, justificam a condução de novas pesquisas sobre o assunto.

7. SUMMARY

This study was conducted in order to evaluate the effects of selenium (Se) supplementation on semen quality of bulls in practical conditions of semen collection. Se was supplemented through the concentrate at levels of 0.2 and 1.0 ppm Se/100kg of body weight/day for treatments S_1 and S_2 , respectively and intramuscularly at the level of 9mg Se/100kg of body weight every 60 days for treatment S_3 . The experimental period lasted 5 months.

Sixteen mature european and zebu bulls classified in three levels (A, B and C), regarding their ability of semen production, were randomly assigned to the treatments.

Se supplementation showed a quadratic effect ($P < 0.01$) on the serum-Se and a positive linear ($P < 0.01$) effect on blood cells-Se and whole blood-Se. The volume and concentration of sperm as well as vigour and swirl motion were not affected by the treatments. Sperm motility (% of motile spermatozoa) was higher ($P < 0,05$) in bulls receiving S_2 as compared to S_1 , while S_3 as intermediary between S_1 and S_2 .

8. BIBLIOGRAFIA CITADA

- ALLEN, W.M., W.H.PARR, P.H.ANDERSON, S.BERRETT, R.BRADLEY e D.S.P.PATTERSON, 1975. Selenium and the activity of glutathione peroxidase in bovine erythrocytes. Vet. Rec. London 96:360-361.
- AMMERMAN, C.B., S.M.MILLER, L.R.McCROWELL e E.C.ARAUJO, 1976. Selenio na nutrição de ruminantes. In: Simposio Latino-Americano sobre pesquisas em nutrição mineral de ruminantes em pastagens. UFMG, Belo Horizonte, MG., pp. 148-166.
- ANGHILERI, L.J. e R.MARQUES, 1965. Fate of injected Se^{75} -methionine and Se^{75} -cystine in mice. Arch. Biochem.Biophys. 111:580-584.
- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists), 1965. Official Methods of Analysis. 10a. Ed. Washington, D.C., metod nº 1.021.

A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists), 1975.
Official Methods of Analysis. 12a. Ed. Washington, D.C.
cap. 7 Animal feed.

AWASTHI, Y.C., E.BEUTLER e S.K.SRIVASTAVA, 1975. Purification
and properties of human erythrocyte glutathione peroxidase.
J. Biol. Chem. Bethesda 250:5144-5149.

BROWN, D.V., P.L.SENGER, S.L.STONE, J.A.FROSETH e W.C.BECKER,
1977. Glutathione peroxidase in bovine semen. J. Reprod.
Fertility 50:117-118.

BROWN, D.V. e P.L.SENGER, 1977. Glutathione peroxidase in
bovine ejaculated semen, seminal plasma and epididymal
spermatozoa. 69th Annual Meeting American Society of
Animal Science. University of Wisconsin. Madison,
Wisconsin - 141 (abstract).

BURROUGHS, W., R.KOHLMEIER, R.BARRINGER, R.KAWASHIMA e A.
TRENKLE, 1963. Selenium and vitamin E and K additions to a
no-hay finishing cattle ration. J. Anim. Sci. Albany 22:
929-933.

BUTLER, G.W. e P.J.PETERSON, 1961. Aspects of the fecal
excretion of selenium by sheep. New Zealand J. Agr. Res.
Wellington 4:484-491.

CAPLE, I.W., S.J.A.EDWARDS, W.M.FORSYTH, R.A.M. WHITELEY, R.H.SELTH

- e L.J.FULTON, 1978. Blood glutathione peroxidase activity in horses in relation to muscular dystrophy and selenium nutrition Australian Vet. J. . Brunswick, 54:57-60.
- CASAGRANDE, J.F., 1973. Relações entre algumas características físicas e morfológicas do sêmen de zebuinos e sua congelabilidade. Fac. Med. Vet. e Agron. Jaboticabal. Tese Doutor. 61pp.
- CHOW, C.K. e A.L.TAPPEL, 1974. Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in rats. J. Nutr. Bethesda 104:444-451.
- CLEGG, M.T. e W.F.GANONG, 1969. Environmental factors affecting reproduction. In: COLE, H.H. e P.T.CUPPS, Ed. Reproduction in domestic animals. Academic Press, New York, 2th ed. p. 473-488.
- COMBS, Jr. G.F., T.NOGUCHI e M.L.SCOTT, 1975. Mechanisms of action of selenium and vitamin E in protection of biological membranes. Fed. Proc. Bethesda 34:2090-2095.
- COUSINS, F.R. e I.M.CAIRNEY, 1961. Aspects of selenium metabolism in sheep. Australian J. Agr. Res., Melbourne 12:927-943.
- EHLIG, C.F., D.E.HOGUE, W.H.ALLAWAY e D.J.HAMM, 1967. Fate of selenium from selenite or selenomethionine, with or without

vitamin E, in lambs. J. Nutr. Philadelphia 92:121-126.

FOOTE, R.H., 1969. Physiological aspects of artificial insemination. In: COLE, H.H. e P.T.CUPPS, Ed. Reproduction in domestic animals. Academic Press, New York, 2th ed. p. 313-353.

FUSS, C.N. e K.O.GODWIN, 1975. A comparison of the uptake of ⁷⁵Se selenite, ⁷⁵Se selenomethionine and ³⁵S methionine by tissues of ewes and lambs. Australian J. Biol. Sci. Melbourne 28:239-249.

GODWIN, K.O., C.N.FUSS e R.E.KUCHEL, 1975. Glutathione peroxidase activities in sheep and rat muscle and some effects of selenium deficiency. Australian J. Biol. Sci. East Melbourne, 28:251-258.

GUNN, S.A., T.C.GOULD e W.A.D.ANDERSON, 1967. Incorporation of selenium into spermatogenic pathway in mice. Proc. Soc. Exptl. Med. Wyoming 124:1260-1263.

GUNN, S.A., T.C.GOULD e W.A.D.ANDERSON, 1968. Mechanisms of zinc, cysteine and selenium protection against cadmium induced vascular injury to mouse testis. J. Reprod. Fertility, 15:65-70.

GUNN, S.A. e T.C.GOULD, 1970. In: JOHNSON, A.D., W.R.GOMES e N.L.VANDERMAK eds. The Testis. Academic Press, New York,

vol. III. 596pp.

- HAFEMAN, D.G., R.A.SUNDE e W.G.HOEKSTRA, 1974. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. J. Nutr. Bethesda 104:580-587.
- HAFEZ, E.S.E., 1974. Reproduction in farm animals. Lea & Febriger, 3th ed., Philadelphia. 480pp.
- HALVERSON, A.W., 1974. Growth and reproduction with rats fed selenite - Se. Proceedings of the South Dakota Academy of Sciences. Brookings 53:167-177.
- HAMILTON, J.W. A.L.TAPPEL, 1963. Lipid antioxidant activity in tissues and proteins of selenium - fed animals. J. Nutr. Philadelphia 79:493-502.
- HANDRECK, K.A. e K.D.GODWIN, 1970. Distribution in the sheep of selenium derived from ⁷⁵Se - labelled ruminal pellets. Australian J. Agr. Res. East Melbourne 21:71-84.
- HARTLEY, W.J. e A.B.GRANT, 1961. A review of selenium responsive diseases of New Zealand in livestock. Fed.Proc. Bethesda 20:679-692.
- HARVEY, W.R., 1975. Least-squares analysis of data with unequal subclass numbers. Agricultural Research Service. U.S. Department of Agriculture. 157pp.

HIDIROGLOU, M. e K.J.JENKINS, 1973^a. Fate of ⁷⁵Se selenomethionine in the gastrointestinal tract of sheep.

Can. J. Anim. Sci. Ottawa 53:527-536.

HIDIROGLOU, M. e K.J.JENKINS, 1973^b. Absorption of ⁷⁵Se - selenomethionine from the rumen of sheep. Can. J. Anim.

Sci. Ottawa 53:345-347.

HIDIROGLOU, M. e K.J.JENKINS, 1974^a. Fate of ⁷⁵Se selenomethionine in the gastrointestinal tract of sheep. In:

HOEKSTRA, W.G., J.W.SUTTIE, H.E.GANTER e W.MERTZ, Ed.

Trace Element Metabolism in Animal - 2. Baltimore. Univ. Park Press, p.574-577.

HIDIROGLOU, M. e K.J.JENKINS, 1974^b. Distribution of radioactivity in tissues of sheep given selenomethionine

⁷⁵Se . Répartition tissulaire de la radioactivité chez le mouton ayant reçu de la ⁷⁵Se-sélénométhionine. Ann.

Biol. Anim. Bioch. Bioph. Ottawa 14:837-844.

HIDIROGLOU, M. e K.J.JENKINS, 1974^c. Influence of defaunation on the utilization of selenomethionine by sheep. Influence

de la défaunation sur l'utilisation de la sélénométhionine chez le mouton. Ann. Biol. Anim. Bioch. Bioph. Ottawa 14:

157-165.

HIDIROGLOU, M., K.J.JENKINS e J.E.KNIPFEL, 1974. Metabolism of

selenomethionine in the rumen. Can. J. Anim. Sci. Ottawa 54:325-330.

HILL, M.K., S.D.WALKER e A.G.TAYLOR, 1969. Effects of "marginal" deficiencies of copper and selenium on growth and productivity of sheep. N. Z. Agric. Res. Wellington 12: 261-267.

HILL, C.H., 1975. Interrelationships of selenium with other trace elements. Fed. Proc. Bethesda 34:2096-2100.

JACOBSSON, S.O., 1966^a. Excretion of a single dose of selenium in sheep. Acta Vet. Scand. Stockholm 7:226-239.

JACOBSSON, S.O., 1966^b. Uptake of Se⁷⁵ in tissue of sheep after administration of a single dose of Se⁷⁵ sodium selenite, Se⁷⁵ selenomethionine or Se⁷⁵ selenocystine. Acta. Vet. Scand. Stockholm 7:303-320.

JENKINS, K.J. e M.HIDIROGLOU, 1971. Transmission of selenium as selenite and as selenomethionine from ewe to lamb via milk using selenium-75. Can. J. Anim. Sci. Ottawa 51:389-403.

JENKINS, K.L. e M.HIDIROGLOU, 1972. A review of selenium/vitamin E responsive problems in livestock: a case for selenium as a feed additive in Canada. Can. J. Anim. Sci. Ottawa 52:591.

- JENSEN, L.S., E.D.WALTER e J.S.DUNLAP, 1963. Influence of dietary vitamin E and selenium on distribution of Se^{75} in the chick. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. Wyoming 112:899-901.
- JULIEN, W.E., H.L.CONRAD, J.E.JONES e A.L.MOXON, 1976^a. Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. J. Dairy Sci. Champaign 59:1954-1959.
- JULIEN, W.E., H.R.CONRAD e A.L.MOXON, 1976^b. Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. II. Prevention in commercial herds with prepartum treatment. J. Dairy Sci. Champaign 59:1960-1962.
- JULIEN, W.E., 1976. Dietary factors affecting metabolic disturbances in dairy cows. Ph.D. dissertation. The Ohio State University.
- JULIEN, W.E. e F.A.MURRAY, 1977. Effect of selenium and selenium with vit. E on "in vitro" mobility of bovine spermatozoa. 69th Annual Meeting of American Society of Animal Science. University of Wisconsin. Madison, Wisconsin. 174 (abstract).
- KHIRWAR, S.S. e S.P.ARORA, 1976. Influence of different levels of selenium on protein synthesis by rumen microbes in vitro. Milchwissenschaft Karnal 81:275-277.

- KUTTLER, K.L., D.W.MARBLE e C.BLINCOE, 1961. Serum and tissue residues following Se injections in sheep. Am. J. Vet. Res. Michigan 22:422-428.
- LANNEK, N. e P.LINDBERG, 1975. Vitamin E and selenium deficiencies (VESD) of domestic animals. Adv. Vet. Sci. and Comp. Med. New York 19:127-164.
- LAVORENTI, A., 1978. Sobre a determinação fluorimétrica de selenio em tecidos animais, vegetais e águas naturais. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Dissertação Mestrado. (Não prelo).
- LAWRENCE, R.A. e R.F.BURK, 1978. Species, tissue and subcellular distribution of non Se-dependent glutathione peroxidase activity. J. Nutr. Bethesda 108:211-215.
- LI, T.K., 1975. The glutathione and tiol content of mamalian spermatozoa and seminal plasma. Biology of Reproduction 12:641-646.
- MANN, T., 1968. Evaluation of semen by chemical analysis. In: ENOS J. PERRY, Ed. The artificial insemination of farm animals. Rutgers Univ. Press. New Brunswick, 4th ed.
- McDOWELL, L.R., J.A.FROSETH, H.G.KROENING e W.A.HALLER, 1974. Effects of dietary vitamin E and oxidized cottonseed oil

on SGOT, erythrocyte hemolysis, testicular fatty acids and testicular selenium in swine fed peas (*Pisum sativum*).

Nutr. Rep. Inter. 9:359-369.

McLEAN, J.W., G.G.THOMPSON e J.H.CLAXTON, 1959. Growth responses to selenium in lambs. Nature. London 184:251-252.

MORAMARCO, M.A., J.A.FROSETH e T.A.BRAY, 1977. Oral e parenteral selenium administration of beef cows fed a practical diet. 69th Annual Meeting of American Society of Animal Science. University of Wisconsin. Madison, Wisconsin, pp. 248 (abstract).

MUDD, A.J. e I.L.MACKIE, 1973. The influence of vitamin E and selenium on ewe prolificacy. Vet. Rec. London 93:197-199.

MUTH, O.H., 1957. White muscle disease (myopathy in lambs and calves). I. Occurrence and nature of the disease in Oregon. J. Amer. Vet. Med. Assoc. Chicago 126:335.

MUTH, O.H., H.W.PENDELL, C.R.WATSON, J.E.OLDFIELD e P.H.WESWIG, 1967. Uptake and retention of parenterally administered ⁷⁵Se in ewes on different selenium regimens. Am. J. Vet. Res. Michigan 23:1397-1406.

NOGUCHI, T., A.H.CANTOR e M.L.SCOTT, 1973. Mode de action of

selenium and vitamin E in prevention of exudative diathesis in chicks. J. Nutr. Bethesda 103:1502-1511.

N.R.C. (National Research Council), 1971. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. National Academy of Sciences. Washington. n° 3.

N.R.C. (National Research Council), 1976. Nutrient Requirements of Beef Cattle. National Academy of Sciences. Washington. n° 4.

OH, S.H., H.E.GANTHER e W.G.HOEKSTRA, 1974. Selenium as a component of glutathione peroxidase isolated from ovine erythrocytes. Biochemistry. Washington 13:1185-1829.

OH, S.H., A.L.POPE e W.G.HOEKSTRA, 1976. Dietary selenium requirement of sheep fed a practical-type diet as assessed by tissue glutathione peroxidase and other criteria. J. Anim. Sci. Albany 42:984-992.

OMAYE, S.T. e A.L.TAPPEL, 1974. Effect of dietary selenium on glutathione peroxidase in the chick. J. Nutr. Bethesda 104:747-753.

PATRICK, H., R.A.VOITTE, H.M.HYRE e W.G.MARTIN, 1965. Incorporation of phosphorus³² and selenium⁷⁵ in cock sperm. Poultry Sci. Ithaca 44:587-591.

- PAULSON, G.D., C.A.BAUMANN e A.L.POPE, 1968. Metabolism of ^{75}Se -selenite, ^{75}Se -selenate, ^{75}Se -selenomethionine e ^{75}Se -sulfate by rumen microorganisms "in vitro". J. Anim. Sci. Albany 27:497-501.
- PEDERSEN, N.D., P.D.WHANGER e H.P.WESWIG, 1975. Effect of dietary selenium depletion and repletion on glutathione peroxidase levels in rat tissues. Nutr. Rep. Inter. Los Altos 11:429-435.
- PERRY, T.W., D.M.CALDWELL e R.C.PETERSON, 1976^a. Selenium content of feeds and effect of dietary selenium on hair and blood serum. J. Dairy Sci. Champaign 59:760-763.
- PERRY, T.W., W.M.BEESON, W.H.SMITH e M.T.MOHLER, 1976^b. Effect of supplemental selenium on performance and deposit of selenium in blood and hair of finishing beef cattle (J. Anim. Sci. Albany 42:192-195.
- POPEKHINA, P. e L.LEVINA, 1975. (Effect of vitamin E on reproduction in boars.) Vliyanie vitamina E na voproizvoditel' nuyu funktsiyu khryakov. Svinovodstvo. Moscow n^o 4, 39.
- PRESTON, R.L. e M.B.WILLIS, 1974. Intensive beef production. Pergamon Press. N. York, 2nd Ed. 567pp.
- REDDY, K. e A.L.TAPPEL, 1974. Effect of dietary selenium and

autoxidized lipids on the glutathione peroxidase system of gastrointestinal tract and other tissues in the rat. J. Nutr. Bethesda 104:1069-1078.

ROSENFELD, I. e O.A.BEATH, 1945. The elimination and distribution of selenium in the tissues in experimental selenium poisoning. J. Nutr. Philadelphia 30:443-449.

ROSENFELD, I., 1962. Biosynthesis of seleno-compounds from inorganic selenium by sheep. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Wyoming 111:670-673.

ROTRUCK, J.T., A.L.POPE, H.E.GANTHER, A.B.SWANSON, D.C.HAFNER e W.G.HOEKSTRA, 1973. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science. Washington 179:588-590.

SCHROEDER, H.A., 1967. Effects of selenate, selenite and tellurite on the growth and early survival of mice and rats. J. Nutr. Philadelphia 92:334-338.

SCOTT, M.L., T.NOBUCHI e G.F.COMBS Jr., 1974. New evidence concerning mechanisms of action of vitamin E and selenium. Vit. and Horm. New York 32:429-444.

SEGERSON, E.C.Jr., F.A.MURRAY, A.L.MOXON, D.R.REDMAN e H.R. CONRAD, 1977. Selenium/vitamin E: role in fertilization of bovine ova beef cattle. J. Dairy Sci. Champaign 60: 1001-1005.

- SHWARZ, K. e C.M.FOLTZ, 1957. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. J. Amer. Chem. Soc. Easton 79:3298-3293.
- STEEL, R.G.D. e J.H.TORRIE, 1960. Principles and Procedures of Statistics. Mc Graw-Hill Book Company, Inc. New York. 481pp.
- STONE, S.L., J.A.FROSETH e P.L.SENGER, 1977. Testicular, liver and blood plasma glutathione peroxidase activity in pigs fed cull peas. 69th Annual Meeting American Society of Animal Science. University of Wisconsin. Madison, Wisconsin. p.110 (abstract).
- STOWE, H.D., 1967. Serum selenium and related parameters of naturally and experimentaly fed horses. J. Nutr. Philadelphia 93:60-64.
- THIESSEN, D.D., G.ONDRUSEK e R.V.COLEMAN, 1975. Vitamin E and sex behavior in mice. Nutrition and Metabolism 18:116-119.
- TOSIC, J. e A.WALTON, 1950. Metabolism of spermatozoa. The formation and elimination of hydrogen peroxide by spermatozoa and effects on motility and survival. Biochemistry J. 47: 199-212.
- TRINDER, N., C.D.WOODHOUSE e C.P.RENTON, 1969. The effect of vitamin E and selenium on the incidence of retained placenta

- in dairy cows. Vet. Rec. London 85:550-553.
- ULLREY, D.E., 1974. The selenium - deficiency problem in animal agriculture. In: HOEKSTRA, W.G., J.W.SUTTIE, H.E.GANTER e W.MERTZ, Ed. Trace Element Metabolism in Animal - 2. Baltimore - Univ. Park Press. pp.275-293.
- ULLREY, D.E., P.K.KU, P.S.BRADY e J.P.HITCHCOCK, 1975. Se supplements for sheep and tissue Se. 67th Annual Meeting of American Society of Animal Science. Colorado State University. Fort Collins, Colorado. 432 (abstract).
- VALE FILHO, V.R., P.A.PINTO, J.FONSECA e L.C.O.V.SOARES, 1978. Patologia do Sêmen. Diagnóstico Andrológico e Classificação do *Bos taurus* e *Bos indicus* quanto à fertilidade para uso como reprodutores em condições de Brasil. Dow Química S.A., São Paulo. 54pp.
- VAN VLEET, J.F., 1975. Retencion of selenium in tissues of calves, lambs and pigs after parenteral injection of a selenium - vitamin E preparation. Am. J. Vet. Res. Michigan 36:1335-1340.
- WHANGER, P.D., P.H.WESWIG, J.A.SCHMITZ e J.E.OLDFIELD, 1977^a. Effects of selenium and vitamin E deficiencies on reproduction, growth, blood components and tissue lesions in sheep fed purified diets. J. Nutr. Bethesda 107:1288-1297.

WHANGER, P.D., P.H.WESWIG, J.A.SCHMITZ e J.E.OLDFIELD, 1977^b.

Effects of selenium and vitamin E on blood selenium levels, tissue glutathione peroxidase activities and white muscle disease in sheep fed purified or hay diets. J. Nutr. Bethesda 107:1298-1307.

WHANGER, P.D., P.H.WESWIG e J.E.OLDFIELD, 1978. Selenium, sulfur and nitrogen levels in ovine rumen microorganisms. J. Anim. Sci. Albany 46:515-519.

WRIGHT, P.L. e M.C.BELL, 1964. Selenium-75 metabolism in the gestating ewe and fetal lamb: Effects of dietary α -tocoferol and selenium. J. Nutr. Philadelphia 84:49-57.

WRIGHT, E., 1965^a. The distribution and excretion of radioselenium in sheep. N. Zeal. J. Agr. Res. Wellington 8:284-291.

WRIGHT, E., 1965^b. The concentration of radioselenium by the tissues of selenium - responsive sheep in relation to their growth rates. N. Zeal. J. Agric. Res. Wellington 8:292-294.

WU, A.S.H., J.E.OLDFIELD, O.H.MUTH, P.D.WANGER e P.W.WESWIG, 1969. Effect of selenium on reproduction. Proc. Western Sec., Am. Soc. Anim. Sci. 20:85-89.

WU, S.H., J.E.OLDFIELD, P.D.WHANGER e P.H.WESWIG, 1973. Effect of selenium, vitamin E and antixodants on testicular function in rats. Biology of Production 8:625-629.

WU, A.S.H. e J.E.OLDFIELD, 1977. Effect of selenium on sperm cells in rats. 69th Annual Meeting of American Society of Animal Science. University of Wisconsin. Madison, Wisconsin. 220.

9. A P Ê N D I C E I

A P Ê N D I C E IDETERMINAÇÃO FLUORIMÉTRICA DO SELÊNIO
EM TECIDOS ANIMAIS E VEGETAIS1. Material:

1.1. Fluorímetro TURNER modelo 110 equipado com filtro primário nº 7-60 (365nm) e combinação de filtros secundários nº 58 (525nm) e nº 2A - 15 (520nm).

1.2. Bloco digestor BD-40 TECHNICON com tubos de digestão adequados.

1.3. Banho-maria à temperatura constante FANEN modelo 112/1.

1.4. Estufa FANEN modelo 315/5.

1.5. Vidraria: além da vidraria de uso normal em laboratório (pipetas graduadas e volumétricas, buretas com torneiras de Teflan, provetas e balões volumétricos), foram utilizados funis de separação de 125ml tipo SQUIBB, forma de pera com torneira de Teflan e tampa de polietileno.

1.6. Reagentes: todos os reagentes utilizados foram grau ACS. Os detalhes sobre a preparação de padrões e da solução de 2,3-diaminonaftaleno seguiram as recomendações de IHNAT (1974)⁽¹⁾

(1) IHNAT, M., 1974. Fluorimetric determination of selenium in foods. Journal of A.O.A.C. 57 (2):368-372.

2. Marcha analítica:

2.1. Adicionar 1,0ml de soro de sangue em tubo de digestão de 75ml.

(Para a obtenção da curva padrão adicionar 1,0ml dos padrões 0,00; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25 e 0,30ppm de Se).

2.2. Adicionar 5,0ml de HNO_3 concentrado e 2,0ml de ácido perclórico a 70%.

2.3. Levar os tubos para o bloco digestor e decompor a amostra a 210°C por cerca de 4 horas, até aparecerem os fumos de HClO_4 e aquecer por mais 15 minutos.

2.4. Retirar os tubos do bloco e deixar esfriar por 10 minutos.

2.5. Adicionar 2,5ml de HCl 1+9 e colocar em banho-maria a 60°C por 30 minutos. Retirar e deixar esfriar.

2.6. À solução obtida adicionar 5,0ml de Na_2EDTA 0,02N; 1,0ml de cloridrato de hidroxilamina 20% e agitar.

2.7. Adicionar 3 gotas de Azul de Timol 1% (até cor rósea) e neutralizar com NH_4OH 5N até cor amarela.

2.8. Adicionar 5,0ml de DAN (2,3-diaminonaftaleno) 4×10^{-3} M e deixar reagindo em estufa a 60°C por 30 minutos.

2.9. Esfriar e proceder à extração do complexo da seguinte maneira:

2.9.1. Transferir a solução para funil de separação de 125ml e adicionar 5ml de ciclohexano.

2.9.2. Proceder a extração por 15 segundos.

2.9.3. Descartar a fase aquosa e coletar 4,0ml da fase orgânica em cubeta de fluorímetro.

2.10. Fazer a leitura contra o padrão 0,00 de Se, em fluorímetro com excitação a 366nm e detecção da fluorescência a 525nm.

NOTA: Na determinação do Se em alimentos, é utilizada uma amostra de 0,5g de matéria seca (etapa 2.1). Após a adição de ácido nítrico e ácido perclórico (etapa 2.2) o material deve ser deixado em repouso por uma noite. A digestão subsequente (etapa 2.3) pode levar maior tempo com vegetais comparativamente a tecido animal, mas, o final da etapa é o aparecimento dos fumos de HClO_4 .

10. A P Ê N D I C E 2

Tabela A₁. Médias mensais de Selênio no soro, fração figurada do sangue e sangue total de touros submetidos a três formas de suplementação.

Formas de Suplementação	NÍVEL DE SELÊNIO (ppm)				
	JAN.	FEV.	MAR.	ABR.	MAI.
Controle (S ₁)					
soro	0,067	0,058	0,036	0,066	0,092
fração figurada	0,075	0,082	0,123	0,078	0,127
sangue total	0,142	0,141	0,159	0,144	0,220
Oral (S ₂)					
soro	0,090	0,068	0,054	0,105	0,077
fração figurada	0,084	0,128	0,145	0,113	0,168
sangue total	0,175	0,189	0,199	0,218	0,246
Intramuscular (S ₃)					
soro	0,095	0,067	0,074	0,084	0,067
fração figurada	0,118	0,100	0,141	0,101	0,154
sangue total	0,214	0,166	0,216	0,186	0,222

Tabela A₂. Médias mensais de Selênio no soro, fração figurada do sangue e sangue total de touros classificados de acordo com três faixas de aptidão para produção de sêmen.

T O U R O S	NÍVEL DE SELÊNIO (ppm)				
	JAN.	FEV.	MAR.	ABR.	MAI.
Faixa A					
soro	0,108	0,076	0,073	0,083	0,107
fração figurada	0,074	0,101	0,141	0,096	0,130
sangue total	0,183	0,177	0,215	0,180	0,238
Faixa B					
soro	0,066	0,055	0,048	0,073	0,057
fração figurada	0,106	0,108	0,124	0,098	0,155
sangue total	0,173	0,155	0,173	0,171	0,213
Faixa C					
soro	0,079	0,062	0,043	0,099	0,072
fração figurada	0,096	0,101	0,144	0,098	0,164
sangue total	0,175	0,164	0,187	0,198	0,236

Tabela A₃. Médias mensais do volume⁽¹⁾ de sêmen dos touros submetidos a três formas de suplementação de Selênio e classificados de acordo com três faixas de produção de sêmen.

	VOLUME DE SÊMEN ⁽²⁾				
	JAN.	FEV.	MAR.	ABR.	MAI.
Forma de suplementação					
controle (S ₁)	3,158	3,418	2,963	2,735	3,089
via oral (S ₂)	3,280	3,258	3,385	3,295	3,206
via intramuscular (S ₃)	2,798	2,783	2,805	2,673	2,969
Tipo de touro					
faixa A	2,664	2,678	2,742	2,572	2,932
faixa B	3,476	3,672	3,469	3,173	3,381
faixa C	3,096	3,110	2,941	2,958	2,951

(1) Medido em ml.

(2) Os valores apresentados correspondem aos dados originais transformados em \sqrt{x} .

Tabela A₄. Médias mensais da concentração de espermatozoides no sêmen dos touros submetidos a três formas de suplementação de Selênio e classificados de acordo com três faixas de produção de sêmen.

	Concentração (número de espermatozoides x 10 ³ /mm ³)				
	JAN.	FEV.	MAR.	ABR.	MAI.
Forma de suplementação					
controle (S ₁)	1520,26	939,98	1471,84	1857,78	1373,56
via oral (S ₂)	1157,66	809,36	1163,83	947,83	932,75
via intramuscular (S ₃)	1797,02	1365,16	1680,41	1395,45	1355,77
Tipo de touro					
faixa A	1897,93	1295,05	1849,59	1745,67	1451,71
faixa B	1185,19	992,07	1171,16	1179,56	1265,49
faixa C	1391,83	826,48	1295,33	1275,83	944,88

Tabela A₅. Médias mensais do turbilhonamento⁽¹⁾ no sêmen dos touros submetidos a três formas de suplementação de selênio e classificados de acordo com três faixas de produção de sêmen.

	TURBILHONAMENTO ⁽²⁾				
	JAN.	FEV.	MAR.	ABR.	MAI.
Forma de suplementação					
controle (S ₁)	0,996	1,259	1,067	1,174	1,057
via oral (S ₂)	1,302	1,318	1,259	1,221	1,231
via intramuscular (S ₃)	1,338	1,543	1,269	1,210	1,199
Tipo de touro					
faixa A	1,457	1,534	1,337	1,368	1,375
faixa B	1,105	1,327	1,268	1,136	1,212
faixa C	1,075	1,259	0,990	1,101	0,899

(1) Os dados originais referem-se a uma escala de 1 a 5, sendo 5 o melhor.

(2) Os valores apresentados correspondem aos dados originais transformados em log x.

Tabela A₆. Médias mensais do vigor⁽¹⁾ dos espermatozoides no sêmen dos touros submetidos a três formas de suplementação de selênio e classificados de acordo com três faixas de produção de sêmen.

	V I G O R (2)				
	JAN.	FEV.	MAR.	ABR.	MAI.
Forma de suplementação					
controle (S ₁)	1,519	1,563	1,472	1,516	1,54
via oral (S ₂)	1,599	1,609	1,609	1,604	1,603
via intramuscular (S ₃)	1,550	1,574	1,585	1,608	1,520
Tipo de touro					
faixa A	1,592	1,595	1,615	1,616	1,603
faixa B	1,565	1,581	1,571	1,582	1,574
faixa C	1,511	1,570	1,479	1,531	1,494

(1) Os dados originais referem-se a uma escala de 1 a 5 sendo 5 o melhor.

(2) Os valores apresentados correspondem aos dados originais transformados em log x.

Tabela A₇. Médias mensais da motilidade (% de espermatozoides móveis) no sêmen dos touros submetidos a três formas de suplementação de Selênio e classificados de acordo com três faixas de produção de sêmen.

	MOTILIDADE ⁽¹⁾				
	JAN.	FEV.	MAR.	ABR.	MAI.
Forma de suplementação					
controle (S ₁)	46,980	51,317	46,328	49,329	50,420
via oral (S ₂)	52,769	53,981	52,149	53,085	53,069
via intramuscular (S ₃)	48,067	52,120	48,300	49,545	49,473
Tipo de touro					
faixa A	51,611	53,532	52,417	53,551	53,902
faixa B	49,211	52,396	49,487	50,136	52,109
faixa C	46,993	51,491	44,873	48,271	46,951

(1) Os valores apresentados correspondem aos dados originais transformados em $\text{arc sen } \sqrt{\%}$.