

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANGELICA DE PAULA TEIXEIRA

SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO NA DIETA E SEU EFEITO SOBRE A
QUALIDADE SEMINAL DE CACHAÇOS

PALOTINA-PR

2019

ANGELICA DE PAULA TEIXEIRA

SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO NA DIETA E SEU EFEITO SOBRE A
QUALIDADE SEMINAL DE CACHAÇOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Setor Palotina da Universidade Federal do Paraná, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Camilo Alberton

PALOTINA-PR

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

T266 Teixeira, Angelica de Paula
Suplementação de selênio na dieta e seu efeito sobre a
qualidade seminal de cachaços / Angélica de Paula Teixeira.
– Palotina, 2019.
44f.

Orientador: Geraldo Camilo Alberton
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná,
Setor Palotina, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

1. Antioxidante. 2. Glutathione Peroxidase. 3. Reprodução.
4. Espermatozóide. I. Alberton, Geraldo Camilo. II. Universidade
Federal do Paraná. III. Título.

CDU 636.4



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA ANIMAL -
40001016077P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ANGELICA DE PAULA TEIXEIRA** intitulada: **Suplementação de selênio na dieta e seu efeito sobre a qualidade seminal de cachorros**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 27 de Fevereiro de 2019.

GERALDO CAMILO ALBERTON

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

DAIANE GULLICH DONIN

Avaliador Externo (UFPR)

SERGIO RODRIGO FERNANDES

Avaliador Externo (UFPR)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me permitir esta vivência, me dar saúde e forças para superar as dificuldades;

Agradeço a Universidade, corpo docente, direção e administração que oportunizaram meu aprendizado desde a graduação e, ainda agora, no mestrado;

Ao meu orientador, que é um grande exemplo de pessoa e profissional e, que em seu pouco tempo disponível me deu todo suporte necessário, pelas suas correções e incentivo;

Agradeço também aos demais membros da banca, que contribuíram de forma determinante para melhorar meu trabalho científico e, em especial a Professora Daiane Donin, que foi essencial para a realização do projeto;

Agradeço aos alunos do estágio curricular e de iniciação científica que contribuíram na realização deste projeto;

Aos meus pais, pelo amor, confiança e por sempre me apoiarem e me motivarem em meus objetivos;

A minha madrinha, minha irmã e meu sobrinho, pelo amor e apoio em todos os momentos;

E, não menos importante, agradeço aos meus amigos, que estiveram ao meu lado nesta fase e contribuíram para que eu chegasse ao final de mais uma etapa;

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação.

MEU MUITO OBRIGADA A TODOS!

“As nuvens mudam sempre de posição, mas são sempre nuvens no céu. Assim devemos ser todo dia, mutantes, porém leais com o que pensamos e sonhamos; lembre-se, tudo se desmancha no ar, menos os pensamentos”.

Paulo Beleki

RESUMO

A membrana espermática é rica em ácidos graxos poli-insaturados, o que a torna sujeita à ação de espécies reativas de oxigênio que podem prejudicar a qualidade seminal dos cachaaos. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da suplementação de duas fontes de selênio em diferentes doses, pois esse mineral faz parte da enzima glutathiona peroxidase, a qual desempenha papel fundamental na atividade antioxidante das células. Foram avaliados os ejaculados de 35 cachaaos, durante 22 semanas, resultando em 210 amostras avaliadas para volume, motilidade, pH, presença de aglutinação e alterações morfológicas, e 140 amostras para concentração espermática. As dietas foram formuladas para quatro grupos: (INOR30) 0,30 ppm de selenito de sódio; (COMP30) 0,30 ppm de metal-aminoácido de selênio; (MISTO15+15) 0,15 ppm de selenito de sódio + 0,15 ppm de metal-aminoácido de selênio e (COMP15) 0,15 ppm de metal-aminoácido de selênio. Os dados foram analisados com medidas repetidas no tempo em modelo misto. Os parâmetros seminais obtidos foram semelhantes entre os grupos suplementados, demonstrando não haver influência das diferentes fontes e doses de selênio na qualidade seminal, inclusive, os animais que receberam a dieta com metade da dose do metal-aminoácido de selênio obtiveram os mesmos parâmetros daqueles que consumiram a dieta com dose normal de selenito de sódio. O período de avaliação também não interferiu no efeito da suplementação do mineral, mas houve melhora na qualidade das células espermáticas, por outro lado, a concentração reduziu no período avaliado. Com esse estudo é possível verificar que o metal-aminoácido de selênio na dose de 0,15 ppm promove o mesmo efeito das dietas comumente formuladas com 0,30 ppm de selenito de sódio.

Palavras-chave: Antioxidante. Glutathiona peroxidase. Espermatozoide.

Reprodução.

ABSTRACT

The sperm membrane is rich in polyunsaturated fatty acids, which makes it subject to the action of reactive oxygen species that can impair the seminal quality of the sperm. The objective of the present study was to evaluate the effect of the supplementation of two sources of selenium at different doses, since this mineral is part of glutathione peroxidase, which plays a fundamental role in the antioxidant activity of the cells. The ejaculates of 35 boars were evaluated for 22 weeks, resulting in 210 samples evaluated for volume, motility, pH, agglutination and morphometric parameters, and 140 samples for sperm concentration. The diets were formulated for four groups: (INOR30) 0.30 ppm sodium selenite; (COMP30) 0.30 ppm selenomethionine; (MISTO15 + 15) 0.15 ppm sodium selenite + 0.15 ppm selenomethionine and (COMP15) 0.15 ppm selenomethionine. The data were repeated with repetitions without time in mixed model. The seminal parameters obtained were similar between the supplemented groups, showing that there was no influence of the different sources and doses of selenium on the seminal quality. In addition, the animals that received the diet with half the selenomethionine dose obtained the same parameters as those consumed the diet with a normal dose of sodium selenite. The evaluation period also did not interfere in the effect of mineral supplementation, but there was improvement in sperm quality, on the other hand, the concentration decreased in the evaluated period. With this study it is possible to verify that the selenomethionine in 0.15 ppm promotes the same effect of the commonly formulated diets with 0,30 ppm of selenite of sodium.

Keywords: Antioxidant. Boar. Glutathione peroxidase. Sperm. Reproduction.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – LOCAL DE LIMPEZA PREPUCIAL E ÁREA DE COLETA DE SEMEN	23
FIGURA 2 – AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO ESPERMÁTICA UTILIZANDO A CÂMARA DE NEUBAUER	25
FIGURA 3 – AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DOS ESPERMATOZOIDES PELA TÉCNICA DE PREPARAÇÃO ÚMIDA	26

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DAS DIETAS FORNECIDAS AOS CACHAÇOS	22
TABELA 2 – GRUPOS FORMADOS AGRUPANDO-SE AS SEMANAS	26
TABELA 3 – MÉDIAS DAS AVALIAÇÕES REALIZADAS E SEUS RESPECTIVOS VALORES DE PROBABILIDADE	28
TABELA 4 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS VARIÁVEIS EM RELAÇÃO AO TEMPO	29
TABELA 5 – MÉDIAS DOS PARÂMETROS MORFOLÓGICOS E SEUS RESPECTIVOS VALORES DE PROBABILIDADE	29
TABELA 6 – COMPARATIVO DOS PARÂMETROS MORFOLÓGICOS EM RELAÇÃO AO TEMPO	30

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	OBJETIVOS	13
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	13
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3.	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1.	FONTES DE SELÊNIO NA NATUREZA.....	14
3.2.	FONTES COMERCIAIS DE SELÊNIO E SUA BIODISPONIBILIDADE	15
3.3.	METABOLISMO DO SELÊNIO.....	16
3.4.	IMPORTÂNCIA DO SELÊNIO NA NUTRIÇÃO E SUA AÇÃO ANTIOXIDANTE	18
3.5.	FUNÇÃO DO SELÊNIO NAS CARACTERÍSTICAS SEMINAIS	19
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1.	LOCAL E ANIMAIS.....	21
4.2.	DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS.....	21
4.3.	TRATAMENTOS	21
4.4.	COLETA DE SÊMEN E AVALIAÇÕES.....	23
4.4.1.	Volume	24
4.4.2.	Motilidade	24
4.4.3.	pH	24
4.4.4.	Agglutinação.....	24
4.4.5.	Concentração	24
4.4.6.	Análise Morfológica.....	25
4.5.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	26
5.	RESULTADOS	28
6.	DISCUSSÃO	31
7.	CONCLUSÃO	37
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
	REFERÊNCIAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

A membrana que constitui o espermatozoide suíno é rica em ácidos graxos poli-insaturados, a qual é importante para manter a fluidez e flexibilidade espermática (SURAI, 2006), por outro lado, essa membrana lipídica torna a célula espermática sensível aos danos oxidativos causados por espécies reativas de oxigênio (EROs) (MAHAN, 2001). Cada vez mais estudos têm associado elevados níveis de EROs a problemas de infertilidade em machos (TURK et al., 2014; AGARWAL; ALLAMANENI, 2011).

A glutathiona peroxidase (GPx) é uma enzima com atividade antioxidante, que faz parte do sistema de defesa das membranas, protegendo a integridade da célula espermática de danos oxidativos. O selênio (Se) é um mineral traço na alimentação animal, o qual faz parte dessa enzima, atenuando a atividade antioxidante da mesma (ROTRUCK et al., 1973). O Se está envolvido, também, no desenvolvimento da peça intermediária e células de Sertoli (MARIN-GUZMAN, 2000a), influenciando na função testicular normal, estrutura da célula espermática e motilidade dos espermatozoides (MOSLEMI E TAVANBAKHS, 2018).

A suplementação de Se na dieta é necessária, uma vez que o organismo dos mamíferos não é capaz de produzir esse mineral (SURAI, 2002). Portanto, doses adequadas de selênio fazem-se necessária para atender a demanda do organismo, e a fonte de Se irá influenciar a absorção desse mineral, fazendo com que a necessidade de inclusão seja diferente para as diferentes fontes.

A forma mais comum de suplementação do Se na nutrição de suínos é como selenito de sódio, mas seu aproveitamento é menor e conseqüentemente há maior excreção desse mineral, principalmente pela urina (MAHAN & PARRETT, 1996). Os minerais inorgânicos, após serem ingeridos, passam por decomposição no intestino antes de serem absorvidos, formando íons metálicos livres, os quais são muito reativos, podendo afetar sua biodisponibilidade (POWER; HORGAN, 2000).

Para melhorar a absorção deste elemento e minimizar o impacto ambiental, utiliza-se o Se complexado com aminoácidos de alto valor biológico. Esses metais-aminoácidos utilizam normalmente as vias de absorção da molécula orgânica ao qual estão ligados, evitando que fatores físico-químicos interfiram na sua absorção, apresentando alta biodisponibilidade e sendo mais

prontamente absorvido (MAHAN & PARRETT, 1996). Com isso, torna-se possível diminuir a dose necessária do mineral na dieta de reprodutores suínos.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar diferentes níveis de inclusão de selênio na dieta e comparar o efeito do metal-aminoácido de selênio com o selenito de sódio na qualidade do sêmen de cachorros.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito de duas diferentes fontes de selênio (selenito de sódio e metal-aminoácido de selênio), em dois níveis (0,30 ppm e 0,15 ppm) e sua ação conjunta na qualidade do sêmen de cachaaos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar e quantificar as alterações morfológicas das células espermáticas em relação às diferentes fontes e níveis de selênio utilizados na dieta;
- Comparar a influência do selenito de sódio com o metal-aminoácido de selênio na redução de anormalidades seminais;
- Verificar a influência do tempo de suplementação de selênio na qualidade seminal.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. FONTES DE SELÊNIO NA NATUREZA

O selênio (Se) é um elemento não metálico (EISLER, 1985) que pode ser encontrado na natureza sob a forma inorgânica ou orgânica, dependendo se ele está ligado a um metal ou um não metal, respectivamente (LEESON; SUMMERS, 1997).

Em solo alcalino e bem aerado o Se é encontrado principalmente sob as formas inorgânicas, no estado oxidado de selenato (Se^{+6}) ou selenito (Se^{+4}) (EISLER, 1985; MAHAN, 2001). O selenato é mais eficientemente absorvido pela planta, seguido do selenito. Já em solo ácido, pobremente aerado, sujeito a excesso de chuva, irrigações e lixiviação, o Se é reduzido para sua forma insolúvel de selenídeo, indisponível para absorção da planta (MAHAN, 2001).

O crescimento da planta independe da quantidade de Se absorvida, mas este elemento é retido por ela proporcionalmente ao encontrado no solo e ao conteúdo de proteínas presente no tecido vegetal. Após absorção, o Se pode substituir o enxofre (S), presente nos metabolitos orgânicos da planta, devido as suas propriedades químicas serem muito semelhantes. A metionina normalmente sintetizada pela planta contém S na sua composição, o qual o Se pode substituir, em grande parte, e formar um metal-aminoácido de selênio. Portanto, o Se predominante nas plantas está sob a forma orgânica de selenocisteína (SeCis) ou selenometionina (SeMet), sendo esta a principal fonte de ingestão de Se pelos animais na natureza (MAHAN, 2001).

Existem algumas técnicas que podem ser utilizadas para melhorar as condições do solo, entre elas o processo de calagem (SWAINE, 1955), a adição de fertilizantes artificiais (POND et al., 1971; NIELSEN et al., 1979) e, ainda alguns micro-organismos presentes no solo (SARATHCHANDRA; WATKINSON, 1981) podem aumentar a conversão do Se que está na forma reduzida a oxidada, ou mesmo aumentar a quantidade de Se oxidado presente no solo e, com isso, a planta consegue absorver e disponibilizar esse mineral para os tecidos vegetais (MAHAN, 2001).

Já a adição de excretas de animais no solo, comumente utilizada, pode não ser uma alternativa eficiente para aumentar a concentração de Se na planta conforme relatado pelo Council for Agricultural Science and Technology

(CAST) (1994). Ele demonstrou que o solo adubado com excretas de animais suplementados com o mineral não incrementa a quantidade de Se nos grãos cultivados, isso se deve ao fato do elemento passar por uma redução química no intestino animal, que o torna indisponível para a absorção das plantas.

Devido aos vários fatores que podem influenciar a quantidade e a forma de Se encontrado no solo: pH, potencial redox, composição mineral, uso de fertilizantes artificiais e pluviosidade (LYONS et al., 2007), além de cada planta absorver e armazenar o Se de diferentes formas; faz-se necessário a suplementação desse mineral na dieta de suínos, em todas as fases.

3.2. FONTES COMERCIAIS DE SELÊNIO E SUA BIODISPONIBILIDADE

O Se é um mineral que compõe a dieta de suínos e é comercializado tanto na forma inorgânica quanto complexada a um composto orgânico (TODD; HENDRIKS, 2005).

As fontes inorgânicas são encontradas ligadas a um íon metálico, na forma de sais de selênio: selenito de sódio (Na_2SeO_3) e selenato de sódio (Na_2SeO_4). O selenito de sódio é o qual se utiliza normalmente na suplementação de selênio por ser uma fonte mais barata, mas tanto o selenito quanto o selenato são igualmente efetivos para suínos (MAHAN, 2001).

Os minerais orgânicos são compostos formados a partir da ligação de um metal com um carreador orgânico, normalmente um aminoácido (LEESON; SUMMERS, 1997), formando um metal-aminoácido (AAFCO, 2000). A metionina e a cisteína são os principais aminoácidos utilizados na formação do complexo metal-aminoácido de selênio, originando a SeMet e SeCis, respectivamente.

A biodisponibilidade está relacionada à absorção e a utilização do nutriente pela célula (TODD et al., 2006). No entanto, ela pode ser afetada por fatores facilitadores da sua absorção: metionina, proteínas, vitamina A e vitamina E; ou por inibidores como os metais pesados: chumbo, cádmio e mercúrio (FAIRWEATHER-TAIT, 1996). Além disso, a fonte ingerida (orgânica ou inorgânica) afeta tanto a biodisponibilidade quanto a distribuição tecidual do mineral (TODD et al., 2006).

Os minerais orgânicos apresentam melhor biodisponibilidade comparada aos minerais inorgânicos, pois além de serem prontamente transportados para os tecidos, onde são estocados por longos períodos (MAHAN; KIM, 1996; TODD; HENDRIKS, 2005), eles apresentam maior estabilidade elétrica no lúmen intestinal (CLOSE, 1998), fazendo com que a tendência do mineral se separar do alimento seja reduzida (ENSMINGER et al., 1990).

3.3. METABOLISMO DO SELÊNIO

O Se é encontrado nas plantas principalmente na forma de SeMet, seguido pela SeCis e, em menor quantidade, selenito. O organismo animal não é capaz de sintetizar estas formas de Se e, portanto, faz-se necessário a suplementação desse mineral (TODD; HENDRIKS, 2005).

O mecanismo de absorção do Se é influenciado pela fonte mineral (orgânica ou inorgânica), quantidade ingerida, concentração do mineral na dieta, do processamento do alimento, digestibilidade das fontes, entre outros (JACQUES, 2001).

Os minerais inorgânicos precisam estar associados a uma molécula transportadora ou a um agente ligante para serem absorvidos no intestino (HERRICK, 1993). O selenato é dependente do sódio, portanto ele é absorvido ativamente no íleo por cotransporte com íons sódio, enquanto o selenito independe do sódio e, sua absorção ocorre por difusão passiva no duodeno e em uma porção do íleo (JACQUES, 2001; WOLFFRAM et al., 1986).

Alguns fatores podem interferir na absorção do Se na sua forma oxidada, pois suas características eletronegativas fazem com que haja atração de elétrons de outros elementos e, estes podem ligar-se ao Se inorgânico, fazendo com que a sua absorção seja alterada (HILL, 1975). A presença de metais pesados e extratos biliares em altas concentrações na dieta podem ligar-se ao Se inorgânico no trato digestivo e reduzir sua absorção (MAHAN, 2001).

Os minerais inorgânicos, após serem ingeridos, passam por decomposição no intestino antes de serem absorvidos, formando íons metálicos livres, os quais são muito reativos, podendo afetar sua biodisponibilidade (POWER; HORGAN, 2000). Assim sendo, a interação dos

minerais com ácido oxálico e fitíco, gordura e fibras que formam compostos insolúveis, afetam a absorção do mineral, tornando-o indisponível na forma iônica (KIEFER, 2005). Todo esse mineral não absorvido será excretado, podendo causar poluição ambiental (AMARAL et al., 2014).

Os minerais orgânicos utilizam normalmente as vias de absorção da molécula orgânica ao qual estão ligados. Desse modo, essa ligação coordenada e iônica, gerada pelos ligantes do aminoácido, torna o mineral “protegido”, evitando que fatores físico-químicos interfiram na sua absorção. Quando absorvidos, os aminoácidos passam diretamente para o plasma através das células da mucosa intestinal carregando consigo o mineral, que permanece ligado ao aminoácido (POWER; HORGAN, 2000; KRATZER; VOHRA, 1996). Com isso os metais-aminoácido tornam-se mais biodisponíveis e bioativos (CLOSE, 2003; POWER; HORGAN, 2000), podendo ser incluído na dieta em níveis mais baixos que os minerais inorgânicos, sem comprometer o desempenho animal e, ainda, minimizando o impacto ambiental devido a menor excreção desse composto no ambiente (CLOSE, 2003).

A forma mais comum de Se orgânico é complexado com o aminoácido metionina, formando uma SeMet, a qual é absorvida ativamente no intestino delgado, semelhante ao que ocorre com a metionina. A SeMet compete pelo mesmo sítio de ligação da metionina para ser absorvida (LEESON; SUMMERS, 2001), assim como, a SeCis compete com a cisteína, lisina e arginina (JACQUES, 2001). Com isso, fica evidente a importância da formulação da dieta com esses elementos para otimizar a absorção (McCONNELL; CHO, 1965).

A taxa de absorção da forma orgânica é mais lenta quando comparado com a forma inorgânica, mas sua retenção nos tecidos é maior (MAHAN; PARRETT, 1996). Na musculatura, por exemplo, a SeMet e a SeCis podem ser incorporadas as proteínas no lugar da metionina e da cisteína, respectivamente (TODD; HENDRIKS, 2005).

O Se absorvido é carregado no plasma, associado às proteínas de membrana, até os tecidos alvos e será convertido em hidreto de selênio (H_2Se), independente da sua fonte, orgânica ou inorgânica. O H_2Se formado será utilizado na síntese de selenoproteínas, armazenado ou excretado.

A forma de excreção normal do Se ocorre via renal ou gastrointestinal. No intestino, o Se contido na dieta é reduzido a sua forma não absorvível e

excretado nas fezes (MAHAN, 2001). O organismo possui mecanismo de desintoxicação para eliminar o Se excedente, excretando-o pela urina nas formas metiladas (metilselenol e trimetilselenônio) (FRANCESCONI; PANNIER, 2004). Caso o nível de Se no organismo ainda seja excessivo, ocorre à excreção respiratória, na forma de dimetilselenol (SCHRAUSER, 2000; COMINETTI; COZZOLINO, 2009).

3.4. IMPORTÂNCIA DO SELÊNIO NA NUTRIÇÃO E SUA AÇÃO ANTIOXIDANTE

A deficiência de Se já foi associada a efeitos negativos no desenvolvimento, saúde e fertilidade dos animais, levando ao comprometimento do desempenho reprodutivo, tanto de fêmeas quanto de machos (LYONS et al., 2007).

Inicialmente, o Se foi associado a casos de intoxicação (VAN VLEET et al., 1977), que levaram a descoberta de sua importância no desempenho de animais de produção e, também como um elemento importante para a saúde dos animais (SCHWARZ; FOLTZ, 1957).

O corpo possui um sistema de defesa antioxidante muito eficiente, em que a primeira linha de defesa desse sistema é composta pelas enzimas superóxido desmutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona-peroxidase (GPx); além dos antioxidantes não enzimáticos: ácido ascórbico (Vitamina C), e α -tocoferol (Vitamina E). Esses sistemas são responsáveis por converter os superóxidos e peróxidos de hidrogênio (H_2O_2), formados no metabolismo de carboidratos e aminoácidos, em água, prevenindo assim, a formação de espécies reativas ao oxigênio (EROs), que podem ser os radicais livres ou compostos não radicalares (MAHAN, 2001).

Os radicais livres são átomos ou moléculas produzidas continuamente durante os processos metabólicos, que contém um ou mais elétrons desemparelhados, por isso são muito instáveis, possuem meia vida curta e são muito reativos. Contínuas adições de elétrons nessas moléculas instáveis geram intermediários, os quais são tóxicos e podem causar danos aos constituintes celulares, principalmente a membrana lipídica, podendo alterar e danificar sua estrutura (MAHAN, 2001).

O Se é componente essencial da enzima GPx, (ROTRUCK et al., 1973) a qual atua protegendo a membrana celular no controle dos níveis de H₂O₂ e hidroperóxidos lipídicos, oriundos das EROs, além de participar da manutenção da integridade estrutural espermática. A GPx remove o H₂O₂, convertendo a glutathiona reduzida em glutathiona oxidada e formando água, além de converter os lipoperóxidos em álcool e outras substâncias inertes (SURAI, 2006).

A membrana lipídica que constitui os espermatozoides é rica em ácidos graxos poli-insaturados, a qual precisa de um sistema antioxidante para manter sua integridade e propriedades fisiológicas, necessárias para o processo de fertilização e motilidade do espermatozoide (SURAI, 2003).

O Se também atua junto com a vitamina E para o correto funcionamento imune. Além disso, a vitamina E é uma das moléculas antioxidantes de maior importância, atuando principalmente nas membranas celulares, convertendo os radicais livres em produtos mais estáveis, por meio da doação de um átomo de hidrogênio (CATANIA et al., 2009).

Outra função importante associada ao Se está na produção de selenoenzimas que agem regulando os níveis e as atividades dos hormônios da tireóide. O Se, na forma de SeCis, compõe a enzima responsável pela ativação dos hormônios da tireoide, a iodotironina-deionidase. Esta enzima é responsável pela conversão da tiroxina (T4) em triiodotironina (T3), forma ativa do hormônio tireoidiano (YU, 2006). O hormônio da tireóide está envolvido no desenvolvimento animal e no aproveitamento dos alimentos (MAHAN, 2001). Portanto, a deficiência de um ou de ambos, irá comprometer o desempenho animal.

3.5. FUNÇÃO DO SELÊNIO NAS CARACTERÍSTICAS SEMINAIS

O Se é elemento essencial na nutrição de reprodutores (SURAI, 2002), sendo recomendado pelas tabelas nutricionais para suínos, em fase sexualmente ativa, na dose de 0,30 ppm de Se por dia (NRC, 2012).

Em suínos, especialmente no período de maturidade sexual, o Se estimula o aumento e o desenvolvimento das células de Sertoli. Esse mineral parece estar relacionado a todos os estágios do desenvolvimento testicular (MARIN-GUZMAN et al., 2000a), pois além de necessário para o

desenvolvimento das células germinativas na fase inicial, seu efeito irá afetar o número das mesmas quando o animal atingir a fase adulta (GOULD, 1970).

A estrutura da membrana plasmática dos espermatozoides é basicamente composta por ácidos graxos poli-insaturados, que conferem maior flexibilidade e fluidez a membrana, mas por outro lado, essa membrana lipídica torna-se mais vulnerável a peroxidação pelos radicais livres (SURAI, 2006). Apesar das radicais livres mostrarem-se importantes para o processo de capacitação espermática e na ativação e fusão com o oócito (AITKEN et al., 2004), o aumento dessas espécies reativas podem resultar em redução da fertilidade devido aos danos causados a estrutura celular, levando a ruptura da membrana e morte do espermatozoide (SURAI, 2006).

O sistema antioxidante das células é essencial para proteção da membrana lipídica e manutenção da integridade espermática, importante para manter a capacidade de fertilização. O aumento de Se estimula a atividade antioxidante da GPx, reduzindo a produção de EROs e aumentando a fertilidade, além de proteger o DNA contra danos oxidativos (IRVINE, 1996).

A mitocôndria, que está localizada na peça intermediária dos espermatozoides, é a responsável pela motilidade espermática, visto que nela ocorre a síntese de ATP (trifosfato de adenosina). A deficiência de Se na dieta de cachorros reduz a motilidade espermática, aumenta às alterações morfológicas, principalmente ligadas a peça intermediária, devido a menor concentração de ATP e menor atividade da enzima GPx (MARIN-GUZMAN et al., 2000b).

Portanto, a deficiência de Se na dieta de cachorros está relacionada à menor quantidade e qualidade espermática, com aumento dos defeitos de calda, menor motilidade espermática e menor percentual de espermatozoides normais. Além disso, a menor concentração de ATP mitocondrial, devido à deficiência de Se, reduz a produção de esperma testicular durante a espermatogênese, podendo diminuir a taxa de concepção das fêmeas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. LOCAL E ANIMAIS

Os cachaços estavam alojados em uma Central de Produção de Sêmen (CPS), localizada na região oeste do Paraná, em baias individuais de concreto, com medidas de 2,0 m X 2,5 m, equipadas com comedouro de alvenaria e bebedouro do tipo chupeta.

A CPS tem capacidade para alojar 50 machos, porém no período de estudo havia 40 animais que se enquadravam no perfil experimental, mas cinco deles tiveram que ser excluídos do estudo durante o período de adaptação a dieta.

Os cachaços tinham dois anos de vida em média, variando entre um a quatro anos, quando foram selecionados. Estes animais eram provenientes de empresas de melhoramento genético e já haviam passado pelo treinamento no manequim, estando aptos a participarem do experimento.

As coletas eram realizadas em quatro dias da semana por colaboradores treinados. Após a coleta as amostras de sêmen seguiam para análises qualitativas e de volume no laboratório disposto na própria central, e posteriormente eram enviadas frações do sêmen para o Laboratório de Reprodução de Suínos, pertencente à Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina para as análises de concentração e morfologia dos espermatozoides.

4.2. DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS

A distribuição dos cachaços nos tratamentos foi inteiramente casual (DIC). Os animais foram distribuídos em quatro grupos, sendo a diferença entre eles a fonte e a dose do mineral Se.

Durante dois meses os animais passaram pelo período de adaptação da ração e, a partir do terceiro mês de consumo, iniciaram as coletas de dados do experimento.

4.3. TRATAMENTOS

A dieta fornecida aos cachaços foi formulada com base nos requerimentos nutricionais de machos em atividade reprodutiva, sendo

isoproteicas e isoenergéticas, diferindo apenas quanto à fonte e o nível de inclusão do micromineral Se (Tabela 1). Foram formuladas quatro dietas: INOR30 – dieta formulada com fonte de Se inorgânico (0,30 ppm de selenito de sódio), COMP30 – dieta com fonte de Se complexado com aminoácido (0,30 ppm de metal-aminoácido de Se), MISTO15+15 – dieta formulada com Se inorgânico e complexado (0,15 ppm de selenito de sódio + 0,15 ppm de metal-aminoácido de Se) e COMP15 – dieta formulada com baixo nível de Se complexado (0,15 ppm de metal-aminoácido de Se), conforme mostra a tabela 2.

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DAS DIETAS FORNECIDAS AOS CACHAÇOS

Dieta	INOR30	COMP30	MISTO15+15	COMP15
NUTRIENTES				
ED contida na dieta (kcal/kg)	3100	3100	3100	3100
Ingestão de alimento (kg/dia)	2,5	2,5	2,5	2,5
Proteína bruta (mín.) (g/kg)	5,0	5,0	5,0	5,0
Etrato etéreo (mín.) (g/kg)	30,0	30,0	30,0	30,0
Fibra bruta (máx.) (g/kg)	40,0	40,0	40,0	40,0
Matéria mineral (máx.) (g/kg)	80,0	80,0	80,0	80,0
Cálcio (g/kg)	8,0 – 10,0	8,0 – 10,0	8,0 – 10,0	8,0 – 10,0
Fósforo (mg/kg)	6000,0	6000,0	6000,0	6000,0
Sódio (mg/kg)	2400,0	2400,0	2400,0	2400,0
Cobre (mg/kg)	145,0	145,0	145,0	145,0
Cromo (mg/kg)	0,40	0,40	0,40	0,40
Iodo (mg/kg)	1,68	1,68	1,68	1,68
Ferro (mg/kg)	100,0	100,0	100,0	100,0
Manganês (mg/kg)	55,0	55,0	55,0	55,0
Selênio inorgânico (mg/kg)	30,0	0,0	0,15	0,0
Selênio Metionina (mg/kg)	0,0	30,0	0,15	0,15
<i>Bacillus subtilis</i> (UFC/kg)	16x10 ⁵	16x10 ⁵	16x10 ⁵	16x10 ⁵
<i>Bacillus licheniformis</i> (UFC/kg)	16x10 ⁵	16x10 ⁵	16x10 ⁵	16x10 ⁵
Colina (mg/kg)	1,60	1,60	1,60	1,60
Lisina (mg/kg)	8400,0	8400,0	8400,0	8400,0
Metionina (mg/kg)	4000,0	4000,0	4000,0	4000,0
Treonina (mg/kg)	6400,0	6400,0	6400,0	6400,0
Triptofano (mg/kg)	1750,0	1750,0	1750,0	1750,0
Valina (mg/kg)	5800,0	5800,0	5800,0	5800,0
Vitamina A (UI/kg)	20000,0	20000,0	20000,0	20000,0
Vitamina B1 (mg/kg)	2,67	2,67	2,67	2,67
Vitamina B3 (mg/kg)	26,0	26,0	26,0	26,0
Vitamina B5 (mg/kg)	17,44	17,44	17,44	17,44
Vitamina B7 (mg/kg)	1,00	1,00	1,00	1,00
Vitamina B9 (mg/kg)	2,39	2,39	2,39	2,39

FONTE: Adaptado da tabela fornecida pela CPS (2017).

Os cachaços eram tratados duas vezes ao dia, uma vez no período da manhã e a outra à tarde. A quantidade de ração fornecida aos animais era em média de 2,5 kg/animal/dia, mas podia variar conforme o score corporal do

animal e idade, avaliação esta feita pelo Médico Veterinário responsável pela CPS. A água era fornecida a vontade aos animais.

4.4. COLETA DE SÊMEN E AVALIAÇÕES

O período experimental teve duração de quase oito meses, sendo dois meses o período de adaptação e 22 semanas de coleta. Os cachacos passavam pela coleta de sêmen, em média, uma vez por semana, mas esse intervalo algumas vezes foi menor devido à demanda por doses inseminantes.

A coleta do ejaculado total era realizada por funcionários treinados, utilizando a técnica da mão enluvada (HANCOCK & HOVEL, 1959). Anteriormente a coleta os animais passavam pelo procedimento de higienização do prepúcio a seco e o esvaziamento do divertículo prepucial e, então, seguiam para a coleta no manequim (Figura 1). O ejaculado era filtrado para separar as frações líquida e gelatinosa do sêmen, e acondicionado no copo coletor térmico com água previamente aquecida a 37°C.

FIGURA 1 – LOCAL DE LIMPEZA PREPUCIAL E ÁREA DE COLETA DE SEMEN



FONTE: Bruna Zuffo (2017).

O sêmen *in natura* era encaminhado imediatamente após a coleta ao Laboratório da CPS para análise de volume, motilidade, pH e presença de aglutinação.

Para as avaliações no Laboratório de Reprodução de Suínos da UFPR uma alíquota do sêmen *in natura* era adicionada a solução formol-salina tamponado para análise de concentração e morfologia, na proporção de 1:100 (0,1 mL de sêmen *in natura* para 10 mL de solução) e, 1:5 (0,1 mL de sêmen para para 0,5 mL de solução), respectivamente.

No total foram avaliados os ejaculados de 35 cachacos em atividade reprodutiva, durante 22 semanas, resultando em 210 amostras avaliadas para volume, motilidade, pH, presença de aglutinação e alterações morfológicas, e 140 amostras para concentração espermática.

4.4.1. Volume

O volume do ejaculado foi mensurado pela pesagem da fração líquida do sêmen, no próprio copo coletor, desprezando-se o peso deste e, após a retirada do papel filtro, onde estava a fração gelatinosa do sêmen coletado. Se aceita que cada 1 ml de sêmen corresponde a 1 g (grama). A mensuração do volume é importante para determinar o número total de espermatozoides no ejaculado.

4.4.2. Motilidade

A leitura foi realizada em microscópio binocular, com objetiva de 10 X, utilizando-se uma gota de sêmen *in natura* entre lâmina e lamínula previamente aquecida a 37°C. A técnica era realizada pelo técnico do laboratório da CPS. Esse método avalia a quantidade total de espermatozoides móveis na amostra, classificando esse movimento em escore de 0 a 100%.

4.4.3. pH

O pH da amostra de sêmen foi mensurado por um pHmetro (mPA-210p), o qual era calibrado todos os dias antes das coletas.

4.4.4. Aglutinação

A presença de células espermáticas aglutinadas foi expressa em cruces, sendo classificada de zero até três cruces, conforme a proporção de espermatozoides aglutinados, sendo zero a ausência de aglutinação e, três a intensa aglutinação de espermatozoides.

4.4.5. Concentração

No laboratório a concentração foi analisada através da câmara de Neubauer (Figura 2). Foi utilizado um microscópio de campo claro, na objetiva de 40 X, onde eram contados cinco quadrados de cada lado da câmara,

utilizando-se a metodologia do L invertido. Ao final da contagem de espermatozoides era aplicada a fórmula descrita pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013) para obtenção da concentração de espermatozoides total da amostra, expressa em bilhões de células.

Fórmula:

$$\frac{A}{\frac{1}{B} \times \frac{N}{25} \times \frac{1}{10}} = n^{\circ} \text{ de espermatozoides/mm}^3$$

Onde:

A – número de espermatozoides contados

B – fator de diluição

N – número de quadrados contados

1/10 – altura da câmara

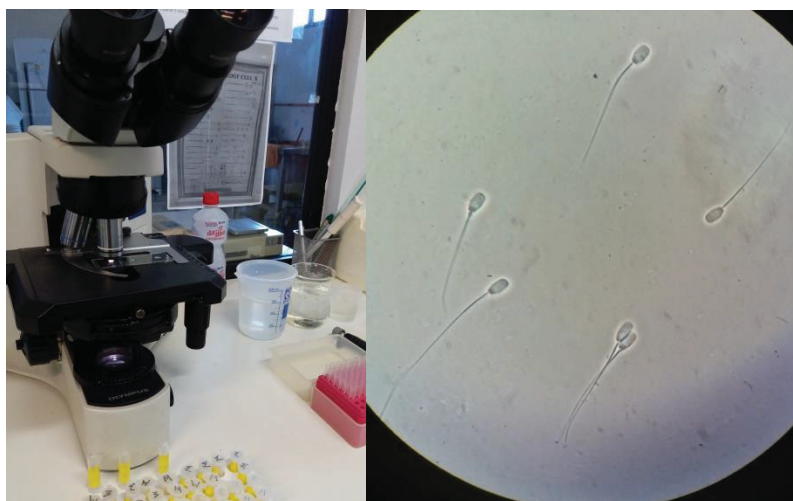
FIGURA 2 – AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO ESPERMÁTICA UTILIZANDO A CÂMARA DE NEUBAUER



4.4.6. Análise Morfológica

Foi utilizada a técnica de preparação úmida para avaliação das características morfológicas de cada amostra. Utilizou-se microscópio de contraste de fase, no aumento de 1000 X, em óleo de imersão. Uma gota da amostra pré-fixada, em solução formol-salina tamponado, foi colocada entre lamina e lamínula, sendo feita a avaliação morfológica espermática de 200 células (Figura 3).

FIGURA 3 – AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DOS ESPERMATOZOIDES PELA TÉCNICA DE PREPARAÇÃO ÚMIDA



A classificação das anormalidades encontradas foram expressas em porcentagem. Foram avaliados os defeitos de cabeça (pequena, gigante, periniforme e isolada), acrossoma, peça intermediária, cauda (dobrada, dobrada com gota, fortemente dobrada, quebrada e isolada), gota citoplasmática proximal e formas teratogênicas.

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística as semanas de coletas foram agrupadas para se obter menores quantidades de medidas repetidas no tempo e, possibilitar a visualização do comparativo das médias. Essa condensação das semanas levou em consideração o período de produção dos espermatozoides suínos. Foram analisadas as duas primeiras semanas em conjunto e na sequência foram agrupadas a cada quatro semanas, seguindo a ordem de coleta (Tabela 2).

TABELA 2 – GRUPOS FORMADOS AGRUPANDO-SE AS SEMANAS

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
Semanas	1 e 2	3 a 6	7 a 10	11 a 14	15 a 18	19 a 22

Os dados foram analisados com medidas repetidas no tempo em modelo misto (PROC MIXED). Foi utilizado este modelo, pois ele descreve um conjunto de dados cuja estrutura de grupos envolve fatores que são fixos e outros

fatores que são aleatórios, independentemente da média e do erro. No modelo misto foram considerados os efeitos fixos de tipo de suplemento mineral na ração (3 graus de liberdade – GL), períodos de avaliação (5 GL) e suas interações (15 GL). A idade dos animais foram incluídas como covariáveis e as classes de *estimating breeding value* (EBV) como bloco no modelo, buscando-se controlar esses efeitos nas variáveis analisadas. Os efeitos aleatórios de animal e de coletador de sêmen foram considerados no modelo. A estrutura de erros mais adequada para cada variável foi definida de acordo com os critérios de informação de Akaike corrigido (AICC) e Bayesiano (BICC). As médias que apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) para os efeitos fixos e para as suas interações foram comparadas pelo teste de Fischer (PROC LSMEANS). As análises foram realizadas no programa *Statistical Analysis System* (SAS), versão 9.0.

5. RESULTADOS

As diferentes fontes e doses de Se utilizadas mostraram ter semelhante influencia nas características seminais avaliadas, podendo-se verificar que o volume, motilidade, aglutinação celular, pH, concentração e dose espermática não diferiram entre os grupos que receberam selenito de sódio ou metal-aminoácido de selênio nas doses de 0,15 ppm ou 0,30 ppm. O período de consumo do mineral também não influenciou na resposta das diferentes fontes e doses de Se (Tabela 3).

TABELA 3 – MÉDIAS DAS AVALIAÇÕES REALIZADAS E SEUS RESPECTIVOS VALORES DE PROBABILIDADE

Variáveis	Tratamentos				EPM	Probabilidade		
	INOR30	COMP 30	MISTO15 +15	COMP 15		Trat.	Tempo	Trat*Tempo
Vol.	272,84	276,77	259,40	270,10	5,92	0,9810	<0,0001	0,1910
Motil.	93,56	93,88	93,15	93,94	0,14	0,5602	<0,0001	0,6034
Aglut.	1,50	1,50	1,31	1,33	0,07	0,8240	<0,0001	0,8163
pH	7,41	7,34	7,39	7,45	0,01	0,5291	<0,0001	0,1414
Conc.	57,01	55,40	56,11	62,80	1,78	0,8863	<0,0001	0,9160
N.	17,98	17,53	17,63	19,73	0,60	0,8969	<0,0001	0,8906

Doses
Vol.: Volume (mL) / Aglut.: Aglutinação / Motil.: Motilidade (%) / Conc.: Concentração ($\times 10^9$ spz/ejaculado) / N. Doses: Número de doses.

Por outro lado, o tempo influenciou a quantidade e a qualidade seminal dos cachaaos. De modo geral, verifica-se o decréscimo das células espermáticas ao longo das 22 semanas, mas a qualidade dos espermatozoides, avaliados pelas suas características morfológicas e pela motilidade espermática, apresentou melhora, como pode ser observado nas tabelas 4 e 6.

Na tabela 4 é possível verificar que o volume variou durante o período observado, apresentado menor volume ($p < 0,05$) entre as semanas 7 e 10 e voltando a aumentar nas semanas subsequentes. Já a concentração espermática, apresentou redução da celularidade a partir da 15^a semana de avaliação. A motilidade melhorou quase que progressivamente, havendo diferença ($p > 0,05$) a partir da sétima semana de avaliação. A presença de aglutinação nos ejaculados foi maior no decorrer do tempo, sendo observado aumento de mais de três vezes nos dois últimos períodos avaliados com

relação à primeira observação. Já o pH das amostras variou no período experimental.

TABELA 4 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS VARIÁVEIS EM RELAÇÃO AO TEMPO

Semanas	Vol. (mL)	Motil. (%)	Aglut.	pH	Concentração	N. Doses
1 e 2	277,24 ^{ab}	92,89 ^b	0,64 ^d	7,35 ^d	-	-
3 a 6	270,10 ^{ab}	92,46 ^b	0,89 ^{cd}	7,42 ^b	-	-
7 a 10	247,32 ^c	93,81 ^a	1,08 ^c	7,39 ^c	61,17 ^a	19,28 ^b
11 a 14	263,95 ^b	94,21 ^a	1,63 ^b	7,46 ^a	67,55 ^a	21,40 ^a
15 a 18	284,18 ^a	94,38 ^a	2,07 ^a	7,41 ^{bc}	49,29 ^b	15,53 ^c
19 a 22	275,88 ^{ab}	94,05 ^a	2,16 ^a	7,35 ^d	53,30 ^b	16,66 ^c

*Colunas com letras diferentes diferem pelo teste F ($p < 0,05$).

Vol.: volume / Motil.: motilidade / Concentração ($\times 10^9$ spz/ejaculado) / N. Doses: Número de doses.

Os parâmetros morfológicos também não foram influenciados pelas diferentes fontes e doses de selênio, no entanto, houve efeito do tempo, como observado nas demais análises (Tabela 5). Ao avaliar os defeitos espermáticos isolados, é possível verificar que a presença de gota citoplasmática proximal e defeitos de cauda são as alterações encontradas em maior proporção, chegando a representar quase 20% dos defeitos morfológicos, como é observado no grupo C.

TABELA 5 – MÉDIAS DOS PARÂMETROS MORFOLÓGICOS E SEUS RESPECTIVOS VALORES DE PROBABILIDADE

Variáveis (%)	Tratamento				EPM	Probabilidade		
	INOR30	COMP 30	MISTO15 +15	COMP 15		Trat.	Tempo	Trat*Tempo
Normais	85,18	82,98	76,28	81,68	1,01	0,4748	<0,0001	0,1410
GCP	6,19	11,87	12,68	9,29	0,94	0,6903	0,0074	0,2843
Def. Cd.	6,25	2,32	6,64	6,42	0,34	0,2500	<0,0001	0,3133
Def. Cb.	0,97	1,48	2,68	1,76	0,20	0,2479	0,0071	0,4025
Def. Acr	0,36	0,63	0,14	0,16	0,04	0,4804	0,0007	0,3368
Def. PI	0,34	0,63	0,96	0,41	0,06	0,2427	0,0091	0,7136
Teratog.	0,03	0,02	0,02	0,03	0,01	0,9207	0,1478	0,8267

GCP: gota citoplasmática proximal / Def. Cd.: defeito de cauda / Def. Cb.: defeito de cabeça / Def. Acr.: defeito de acrossoma / Def. PI: defeito de peça intermediária / Teratog.: Teratogenia

Observando-se a evolução das alterações morfológicas, ao longo das 22 semanas de estudo, é possível verificar melhora dos parâmetros avaliados. Na tabela 6 é possível verificar que o índice de células espermáticas normais foi maior no último período avaliado, podendo-se notar menos defeitos de cauda, cabeça, acrossoma e peça intermediária, principalmente a partir do terceiro

mês de análise, referente ao quinto mês de suplementação dos cachorros. Apenas o índice de presença de gota citoplasmática proximal (GCP) piorou no período avaliado.

TABELA 6 – COMPARATIVO DOS PARÂMETROS MORFOLÓGICOS EM RELAÇÃO AO TEMPO

Variáveis (%)	Normais	GCP	Def. Cd.	Def. Cb.	Def. Acr.	Def. PI	Teratog
Semanas							
1 e 2	78,59 ^d	8,50 ^b	7,16 ^a	3,73 ^a	0,62 ^a	0,99 ^a	0,00
3 a 6	83,16 ^{ab}	9,52 ^{ab}	4,70 ^{bc}	1,36 ^{bc}	0,33 ^b	0,45 ^b	0,03
7 a 10	80,14 ^{cd}	10,97 ^a	5,62 ^b	1,71 ^b	0,33 ^b	0,75 ^a	0,03
11 a 14	81,71 ^{bc}	10,24 ^a	5,53 ^b	1,50 ^{bc}	0,22 ^{cd}	0,44 ^b	0,03
15 a 18	81,33 ^{bc}	10,69 ^a	5,91 ^{ab}	1,09 ^{bc}	0,14 ^d	0,41 ^b	0,02
19 a 22	84,27 ^a	10,13 ^a	3,51 ^c	0,97 ^c	0,28 ^{bc}	0,46 ^b	0,04

*Colunas com letras diferentes diferem ($p < 0,05$).

GCP: gota citoplasmática proximal / Def. Cd.: defeito de cauda / Def. Cb.: defeito de cabeça / Def. Acr.: defeito de acrossoma / Def. PI: defeito de peça intermediária / Teratog.: Teratogenia

6. DISCUSSÃO

Com o presente estudo foi possível verificar que, apesar de não haver diferença ($p > 0,05$) entre os níveis e fontes de Se suplementado, os dados observados no grupo que recebeu ração com fonte inorgânica, na dose de 0,30 ppm, comparados com o grupo que recebeu metade da dose de metal-aminoácido de selênio (0,15 ppm), apresentaram resultados semelhantes, corroborando com vários estudos que apontam que o aproveitamento da fonte orgânica é maior quando comparada a fonte inorgânica, devido a maior biodisponibilidade dos minerais orgânicos (TODD et al., 2006; CLOSE, 2003; POWER; HORGAN, 2000; MAHAN; PARRETT, 1996).

Os minerais complexados utilizam normalmente as vias de absorção da molécula orgânica ao qual estão ligados. Desse modo, essa ligação coordenada e iônica, gerada pelos ligantes do aminoácido, torna o mineral “protegido”, evitando que fatores físico-químicos interfiram na sua absorção. Quando absorvidos, os aminoácidos passam diretamente para o plasma através das células da mucosa intestinal carregando consigo o mineral, que permanece ligado ao aminoácido (POWER; HORGAN, 2000; KRATZER; VOHRA, 1996). Com isso os metais-aminoácido tornam-se mais biodisponíveis e bioativos (CLOSE, 2003; POWER; HORGAN, 2000).

No estudo realizado por Mahan et al. (1999), eles analisaram a concentração de Se hepático em suínos de 55 kg e 105 kg de peso vivo, alimentados com diferentes fontes do mineral. Os suínos terminados tiveram maior concentração de Se no fígado quando alimentados com fonte de Se orgânica, enquanto os animais em fase de crescimento não apresentaram diferença na concentração de Se. Os autores sugerem que animais em fase de crescimento tem maior mobilização de Se complexado com aminoácidos no tecido muscular, ocupando o sítio dos aminoácidos ao qual estão ligados, enquanto suínos terminados apresentam menor mobilização muscular, deixando esse mineral disponível para ser retido no tecido hepático, o qual parece ser o órgão de estocagem de Se (MAHAN; PARRETT, 1996).

Portanto, a maior biodisponibilidade do selênio quando complexado com aminoácido e ainda, a possibilidade de estocagem desse selênio no fígado, possibilitam a sua inclusão na dieta em níveis mais baixos que os minerais inorgânicos, sem comprometer o desempenho animal e, ainda, minimizando o

impacto ambiental devido a menor excreção desse composto no ambiente (CLOSE, 2003). Isso corrobora com a última publicação de Rostagno et al. (2017), em que sugere-se que o selênio inorgânico seja incluído na ração de cachaços na dose de 0,40 ppm, enquanto que o selênio complexado a fonte orgânica tenha sua inclusão reduzida para 0,18 ppm, demonstrando a menor necessidade de selênio proveniente de fonte orgânica.

O volume e a concentração espermática são as análises realizadas mais frequentemente dentro das centrais, uma vez que estes são os parâmetros utilizados para o cálculo das doses inseminantes. A maturidade do cachaço tem influência sobre esses parâmetros: enquanto o volume total do ejaculado aumenta, a concentração diminui com o avançar da idade (JANKEVICIUTE; ZILINSKAS, 2002). Segundo Smital (2009), que avaliou mais de 230 mil registros de coletas de ejaculado, a produção de células espermáticas varia conforme a idade e raça do reprodutor, aumentando consideravelmente nos primeiros três anos de vida do cachaço, podendo chegar à produtividade máxima aos 3,5 anos e declinando após essa idade. O autor demonstrou ainda que a recuperação dos parâmetros seminais está relacionada à intensidade sexual do cachaço, sendo necessário de 5 a 7 dias para reestabelecer o volume total do ejaculado e até 11 dias para o completo restabelecimento da concentração espermática.

O presente experimento foi realizado com animais relativamente jovens, com média de 2,0 anos ao iniciar o estudo, por isso esperava-se que a concentração aumentasse, ao contrário do que foi observado, em que o número de espermatozoides declinou ao longo das 22 semanas avaliadas. Esse resultado pode sugerir que os cachaços estavam em intensa atividade sexual, não havendo tempo suficiente para a recuperação total da concentração espermática.

Os valores do volume do ejaculado suíno podem variar entre 125 a 500 mL de acordo com a raça, idade, frequência de coleta (BENNEMANN, 2014). O volume médio obtido neste estudo foi de 250 mL, apesar de ter variado no período, ele se manteve dentro do considerado normal para a espécie. Assim como o pH dos ejaculados, que variou no período experimental, mas se manteve dentro do normal para a espécie, que é levemente alcalino, variando de 7,3 a 7,9 (CBRA, 2013).

A presença de aglutinação no ejaculado suíno é relativamente comum, sendo observado em quase toda amostra examinada, podendo ser induzida pela presença de células espermáticas mortas ou epiteliais, contaminação bacteriana, resfriamento rápido. A aglutinação pode ser visualizada pela união das cabeças dos espermatozoides já no momento em que é feita a avaliação da motilidade espermática (BENNEMANN, 2014). No presente estudo verificou-se aumento gradativo da presença de aglutinação, que coincide com o aumento da presença de gotas citoplasmáticas nas amostras, podendo este ter sido um fator predisponente para a situação, mas não foi encontrado relatos na literatura correlacionando estas variáveis, podendo esta ser uma área a ser estudada.

A motilidade espermática observada ficou acima de 90%, estando dentro do aceitável pelo CBRA (2013), que sugere que o ejaculado deve apresentar percentual mínimo de 70% de espermatozoides móveis. Foi possível observar melhora da motilidade espermática ao longo das 22 semanas de avaliação, resultando em um incremento de 1,16% na média observada entre o último e o primeiro período de avaliação. Petrujkic et al. (2014), observaram aumento da motilidade e maior concentração de selênio no sêmen de cachorros, quando estes foram alimentados com selênio complexado a uma fonte orgânica. Além disso, no estudo de Moslemi e Tavanbakhsh (2018), a suplementação de Se e vitamina E em pacientes humanos subfêrteis aumentou a motilidade espermática, que foi a principal variável correlacionada com a fertilidade, observando-se, inclusive, casos em que a administração oral desses dois antioxidantes resultaram em gravidez.

Os parâmetros morfológicos também não foram influenciados pelas diferentes fontes e doses de selênio, no entanto, houve efeito do tempo, como observado nas demais análises. Na avaliação das alterações morfológicas espera-se que a quantidade de células anormais não ultrapasse 20% do total de células avaliadas (CBRA, 2013), estando o grupo C um pouco abaixo do esperado (76,28%), mas não diferindo dos demais grupos estatisticamente. Ao avaliar os defeitos espermáticos isolados, é possível verificar que a presença de gota citoplasmática proximal e defeitos de cauda são as alterações encontradas em maior proporção. A média encontrada para presença de GCP

ficou no limite de aceitação para a espécie suína, que é de até 10% de defeitos dessa ordem (CBRA, 2013), chegando a média de 12% no grupo C.

A presença e a localização da gota citoplasmática (GC) reflete o estágio de maturação do espermatozoide e pode acarretar em problemas na fertilidade, gerando prejuízos à produção (LOVERCAMP; SUTOVSKY, 2008). A gota citoplasmática distal (GCD) normalmente é destacada da cauda do espermatozoide no momento da ejaculação, podendo ser resultado da baixa frequência de coleta, enquanto que a presença de GCP é observada em machos jovens ou reprodutores adultos em alta atividade sexual, ou ainda, em casos patológicos (BENNEMANN, 2014).

Portanto, o alto índice de GCP encontrado somado a redução da concentração espermática reafirma a suspeita de que esses reprodutores vinham sendo coletados com frequência acima daquela sugerida para cachaços, não havendo tempo suficiente para a produção e maturação dos espermatozoides.

O presente estudo avaliou apenas a GCP como defeito morfológico, enquanto a presença de gota citoplasmática distal (GCD) foi contabilizada junto com as células espermáticas normais, conforme orientação no manual do CBRA (2013). Essa orientação se deve ao fato da GCD não ser considerada como defeito patológico, portanto não causaria prejuízos reprodutivos (BORTOLOZZO et al., 2005; CBRA, 2013). Por outro lado, no trabalho realizado recentemente por Gaggini et al. (2018), observou-se que a presença de GCD tem influência sobre a motilidade espermática, prejudicando a fertilidade do reprodutor. Com isso, os valores de presença de GC nos ejaculados avaliados é ainda maior, se for somado a presença de GCD.

Avaliando-se os defeitos de cauda foi possível observar que o grupo suplementado com 0,30 ppm de metal-aminoácido de selênio apresentou quase três vezes menos defeitos de cauda, comparado aos demais grupos (2,32%). Apesar disso, não diferiu estatisticamente, o que pode ser devido ao alto desvio padrão dos dados analisados, que foi de 4,78 e 6,70 pontos percentuais (para mais ou para menos) na média e no grupo B, respectivamente. Mesmo assim, esse resultado pode indicar que o Se na forma complexada teve maior potencial protetor para a célula contra danos oxidativos, já que a membrana lipídica, que constitui os espermatozoides, é rica em ácidos

graxos poli-insaturados, os quais precisam de um sistema antioxidante para manter sua integridade (SURAI, 2003).

Em experimento desenvolvido com ratos, nos quais foram induzidos danos testiculares que produziram maiores índices de células morfológicamente anormais, foi possível observar que o Se influenciou na redução dos problemas de fertilidade ocasionado (TAGHIZADEH et al., 2017). Isso pode ser justificado pelo fato dos espermatozoides morfológica e funcionalmente anormais serem os principais produtores de EROs no ejaculado (MAIA; BICUDO, 2009). Com isso, sugere-se que a suplementação foi efetiva para aumentar o potencial antioxidante e proteger a célula espermática.

Estudos realizados recentemente com frangos alimentados com minerais orgânicos (SHAN et al., 2017) e caprinos alimentados com Se orgânico e zinco (SISWOYO et al., 2018), foi possível observar melhora dos parâmetros seminais. Em contrapartida, o trabalho realizado por Ziaei (2015) com caprinos suplementados com Se orgânico e vitamina E não demonstram haver diferença nas características dos ejaculados, mas melhorou o peso ao nascimento da prole dos caprinos suplementados, parâmetro este não avaliado no presente estudo.

Analisando os trabalhos recentemente publicados que obtiveram resultados estatisticamente diferentes com a suplementação de Se, pode-se sugerir que ação conjunta dos nutrientes com potencial protetor de membrana e antioxidante potencializa a resposta no organismo em comparação com sua ação isolada (SURAI, 2003). A GPx e a vitamina E parecem ter ação complementar. A vitamina E, ao proteger os lipídeos da oxidação, é convertida em radical tocoferil, precisando ser regenerada para recuperar seu potencial antioxidante, no qual a enzima GPx reduzida participa, além também do ácido-ascórbico e da coenzima Q10 (SULEIMAN et al., 1996), podendo este ser um dos fatores que não permitiu observar a eficiência de diferentes fontes e doses de Se na suplementação dos cachaços, já que o mineral foi utilizado de forma isolada na dieta.

Outro ponto importante a ser destacado foi a não avaliação da fertilidade dos cachaços através da taxa de parição, taxa de retorno ao cio e demais parâmetros relacionados à sua prole, sendo estes dados importantes. Cada

vez mais estudos têm utilizados estes dados para estimar a fertilidade de reprodutores (KUMMER et al., 2013).

7. CONCLUSÃO

A utilização da metade da dose de selênio complexado com a metionina produz o mesmo efeito na qualidade seminal comparada aos reprodutores que consumiram a dieta com selênio inorgânico na dose recomendada pelas tabelas nutricionais para cachaços.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar do número de células espermáticas morfolologicamente normais estar dentro do esperado, ao ser avaliado cada defeito separadamente, pode-se sugerir que os animais estão expostos a situação de estresse pela alta frequência de coletas. Portanto, é possível aferir que a CPS precisa de mais reprodutores para suprir a demanda da empresa.

A utilização de mais de uma fonte de suplementação com ação antioxidante pode ser mais eficiente para demonstrar melhora dos parâmetros seminais.

Além das características seminais, é importante avaliar a influência do ejaculado na taxa de parição e tamanho da prole, para prever a fertilidade do reprodutor.

O auxílio de técnicas computadorizadas também é uma ferramenta importante para aumentar a precisão e repetibilidade das variáveis analisadas.

REFERÊNCIAS

- AAFCO. Official publication. ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIAL . Atlanta, GA: **AAFCO**, 2000.
- AGARWAL, A.; ALLAMANENI, S. S. Free radicals and male reproduction. **Journal of the Indian Medical Association**, p. 109-184, 2011.
- AITKEN, R. J.; RYAN, A. L.; BAKER, M. A. et al. Redox activity associated with the maturation and capacitation of mammalian spermatozoa. **Free Radical Biology and Medicine**, p. 994-1010, 2004.
- AMARAL, A. C.; KUNZ, A.; STEINMETZ, R. L. R. et al. Zinc and copper distribution in swine wastewater treated by anaerobic digestion. **Journal of Environmental Management**, v. 141, p. 132-137, 2014.
- ARRUDA, R. P.; CELEGHINI, M. A.; ALONSO, H. F. et al. Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 35, n. 2, p. 145-151, 2011.
- BENNEMANN, P. E. (2014). Técnicas de avaliação, contagem, processamento, diluição e envase do sêmen suíno. *In*: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE SUÍNOS (ABCS). **Produção de Suínos: Teoria e Prática**. 1. ed. Brasília, DF, p. 334-348, 2014.
- BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I.; FERREIRA, F. M. et al. Exame do ejaculado. *In*: BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I.; BENNEMANN, P.E. et al. **Inseminação artificial na suinocultura tecnificada**. Porto Alegre: Pallotti, cap. 7, p. 69-89, 2005.
- COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY (CAST). Risks and benefits of selenium in agriculture. **Issue Paper Supplement**, n. 3, CAST, Ames, IA, p. 35, 1994.
- CATANIA, A. S.; BARROS, C. R.; FERREIRA, S. R. G. Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, vol. 53, n. 5, p. 550-559, 2009. ISSN 1677-9487. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302009000500008>. Acesso em: Ago. 2017.
- CLOSE, W. H. The role of trace mineral proteinases in pig nutrition. *In*: LYONS, T.P.; JACQUES, K.A. **Biotechnology in the Feed Industry**. Nottingham University Press: United Kingdom, p. 469-483, 1998.
- CLOSE, W. H. Trace mineral nutrition of pigs revisited: meeting production and environmental objectives. **Recent Advances in Animal Nutrition in Australia**, v. 14, 2003.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – CBRA. **Manual para exame andrológico e a avaliação de sêmen animal**, 3. ed., Belo Horizonte: CBRA, 2013.

COMINETTI, C.; COZZOLINO, S. M. F. Funções plenamente reconhecidas de nutrientes: Selênio. **Série de publicações ILSI Brasil**, São Paulo, v. 8, p. 1-20, 2009.

EISLER, R. Selenium hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. **Fish and Wildlife Service Biological Report**, v. 85, p. 5-57, 1985.

ENSMINGER, M. E.; OLDFIELD, J. E., HEINEMANN, W. W. Byproduct feed/crop residues. **Feed and Feeding**, 2. ed., Ensminger Publishing Co.: Clovis, CA, p. 433-490, 1990.

FAIRWEATHER-TAIT, S. J. Bioavailability of dietary minerals. **Biochemical Society Transactions**, Colchester, v. 24, n. 3, p. 775-780, 1996.

FRANCESCONI, K. A.; PANNIER, F. Selenium metabolites in urine: a critical overview of past work and current status. **Clinical Chemistry**, v. 50, p. 2240-2253, 2004.

GAGGINI, T. S.; BARBOSA, H.; BELETTI, M. E. et al. Alta ocorrência de gota citoplasmática distal altera parâmetros relacionados ao movimento espermático de reprodutores suínos. **Archives of Veterinary Science**, v. 23, n. 4, p. 44-50, 2018.

GOULD, T.C. Incorporation of minerals in spermatogenic pathway. **Journal of Andrology**, v. 1, p. 56-58, 1970.

HANCOCK, J. L. Pig insemination technique. **Veterinary Record**, v. 71, p. 523-527, 1959.

HERRICK, J. B. The roles of amino acid chelates in animal nutrition. *In*: ASHMEAD, H.D. **Mineral in Animal Health**, New Jersey: Noyes, p. 3-9, 1993.

HILL, C. H. Interrelationships of selenium with other trace elements. **Fed. Proc.**, v. 34 p. 2096, 1975.

IRVINE, D. S. Glutathione as a treatment for male infertility. **Rev. Reprod.**, p. 6-12, 1996.

JACQUES, K. A. Selenium metabolism in animals: the relationship between dietary selenium form and physiological response. *In*: LYONS, T. P.; JACQUES, K. A. (Eds) **Science and Technology in the Feed Industry**. Nottingham University Press, p. 319-348, 2001.

JANKEVICIUTE, N., ZILINSKAS, H. Influence of some factors on semen quality of different breeds of boars. **Veter. Zootech.**, v. 19, p. 15–19, 2002.

- KIEFER, C. Minerais quelatados na nutrição de aves e suínos. **Revista eletrônica Nutritime**, v. 2, n. 3, p. 206-220, 2005.
- KRATZER, F. H.; VOHRA, P. Chelates and chelation. *In*: KRATZER, F.H.; VOHRA, P. **Chelates in Nutrition**. Boca Raton, Florida: CRC Press, p .5-33, 1996.
- KUMMER, A. B. H. P.; GAGGINI, T. S.; BERNARDI, M. L. et al. Multivariate analyses for determining the association of field porcine fertility with sperm motion traits analysed by computer-assisted semen analysis and with sperm morphology. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 48, p. 747-754, 2013.
- LARSSON, B., RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H. Can we use in vitro fertilization tests to predict semen fertility? **Animal Reproduction Science**, v. 60/61, p. 327-336, 2000.
- LEESON, S; SUMMERS, J. D. **Commercial poultry nutrition**. 2. ed. Guelph, Ontario: University Books, p. 57-58, 1997.
- LEESON, S.; SUMMERS, J. D. **Nutrition of the chicken**. 4. ed. Guelph, Ontario: University Books, p. 591, 2001.
- LOVERCAMP, K.; SUTOVSKY, P. Cytoplasmic droplets: the most frequently observed abnormality. **Proc. Midwest Boar Stud Managers Conference**, Saint Louis, MI, USA, p. 31-49, 2008.
- LYONS, M. P.; PAPAZYAN, T. T.; SURAI, P. F. Selenium in food chain and animal nutrition: lessons from nature. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 20, n. 7, p. 1135-1155, 2007.
- MAHAN, D. C.; CLINE, T.R.; RICHERT, B. Effects of dietary levels of selenium-enriched yeast and sodium selenite as selenium sources fed to grower-finisher pigs on resulting performance, tissue selenium, serum glutathione peroxidase activity, and carcass characteristics. **Journal of Animal Science**, v. 77 p. 2172, 1999.
- MAHAN, D. C; KIM, Y. Y. Effect of inorganic and organic selenium at two dietary levels on reproductive performance and tissue selenium concentrations in first parity gilts and their progeny. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 2711-2718, 1996.
- MAHAN, D. C.; PARRETT, N. A. Evaluating the efficacy of Se-enriched yeast and inorganic selenite on tissue Se retention and serum glutathione peroxidase activity in grower and finisher swine. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 2967, 1996.
- MAHAN, D. C. (2001). Selenium and vitamin E in Swine Nutrition. *In*: LEWIS, A.J.; SOUTHERN, L.L. (Eds) **Swine Nutrition**, 2. ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 281-314, 2001.

- MAIA, M. S.; BICUDO, S. D. Radicais livres, antioxidantes e função espermática em mamíferos: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, n. 4, p. 183-193, 2009.
- MARIN-GUZMAN, J.; MAHAN, D. C.; PATE, J. L. Effect of dietary selenium and vitamin E on spermatogenic development in boars. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1537-1543, 2000a.
- MARIN-GUZMAN, J.; MAHAN, D. C.; WHITMOYER, R. Effect of dietary selenium and vitamin E on the ultrastructure and ATP concentration of boar spermatozoa, and efficacy of added sodium selenite in extended semen on sperm motility. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1544-1550, 2000b.
- MCCONNELL, K. P.; CHO, G. J. Transmucosal movement of selenium. **American Journal of Physiology**, v. 208, p. 1191, 1965.
- MOSLEMI, M. H.; TAVANBAKHSI, S. Selenium–vitamin E supplementation in infertile men: effects on semen parameters and pregnancy rate. **International Journal of General Medicine**, p. 94-104, 2018.
- NIELSEN, H. E.; DANIELSEN, V.; SIMESSEN, M. G. *et al.* Selenium and vitamin E deficiency in pigs. *In*: Influence on growth and reproduction, **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 20, p. 276, 1979.
- NRC. **Nutrient requirements of swine**. 11. ed. Natl. Acad. Press; Washington, DC, 2012.
- PETRUJKIC, B. T.; SEFER, D. S.; JOVANOVIĆ, M. *et al.* Effects of commercial selenium products on glutathione peroxidase activity and semen quality in stud boars. **Animal Feed Science and Technology**. p. 194-205, 2014.
- POND, W. G.; ALLAWAY, W. H.; WALKER, E. F. *et al.* Effects of corn selenium content and drying temperature and of supplemental E on growth, liver selenium and blood vitamin E content of chicks. **Journal of Animal Science**, v. 33, p. 996, 1971.
- POWER, R.; HORGAN, K. Biological chemistry and absorption of inorganic and organic trace metals. **Biotechnology in the Feed Industry**, Nottingham University Press, Nottingham, UK., p. 277-291, 2000.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.M.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T.; EUCLIDES, R.F. **Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**, 4ª edição, Viçosa, MG: UFV, p. 488, 2017.
- ROTRUCK, J. T.; POPE, A. L.; GANTHER, H. E. *et al.* Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. **Science**, v. 179, p. 588, 1973.
- SARATHCHANDRA, S. U.; WATKINSON, J. H. Oxidation of elemental selenium to selenite by *B. megateris*. **Science**, v. 211, p. 600, 1981.

SCHRAUZER, G. N. Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1659-1656, 2000.

SCHWARZ, K.; FOLTZ, C. M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. **Journal of the American Chemical Society**, v. 79, p. 3292-3293, 1957.

SHAN, T.; DAI, P.; ZHU, P. et al. Effect of an Organic Trace Mineral Premix on the Semen Quality, Testicular Morphology and Gene Expression Related to Testosterone Synthesis of Male Broiler Breeders. **Brazilian Journal of Poultry Science**, n. 3, v. 19, p. 481-488, 2017.

SMITAL, J. Effects influencing boar semen. **Animal Reproduction Science**, v.110, p.335–346, 2009.

SISWOYO, P.; TAFSIN, M.; HANDARINI, R. Potential reproduction and response of selenium and zinc mineral supplementation on quality of goat samosir semen. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, 2018.

SWAINE, D. J. The trace-element content of soils: Harpenden, England, *Common. Bur. Soil Science*, (Great Britain) *Tech. Commun.*, v. 48, p. 91, 1955.

SULEIMAN, S. A.; ALI, M. E.; ZAKI, Z. M. et al. Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E. **Journal of Andrology**, p. 530-537, 1996.

SURAI, P. F. **Selenium in Nutrition and Health**. Nottingham University Press, p. 974, 2006.

SURAI, P. F. Selenium. *In: Natural Antioxidants in Avian Nutrition and Reproduction*. Nottingham University Press, p. 233-304, 2002.

SURAI, P. F. Selenium-vitamin E interactions: does 1+1 equal more than 2?. *In: LYONS, T. P.; JACQUES, K. A (Eds) Nutrition Biotechnology in the Feed and Food Industries*. 2003. Nottingham University, UK, p. 59-76, 2003.

TAGHIZADEH, L.; EIDI, A.; MORTAZAVI, P. et al. Effect of selenium on testicular damage induced by varicocele in adult male Wistar rats. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 44, p. 177-185, 2017.

TODD, S. E.; HENDRIKS, W. H. Comparative selenium metabolism in cats and dogs. *In: LYONS, T. P AND JACQUES, K. A (Eds). Nutrition Biotechnology in the Feed and Food Industries*. 2005. Nottingham University Press, p. 389-397, 2005.

TODD, S. E.; THOMAS. D.; TUCKER, L. Selenium requirements in cats and dogs. *In: D-K LAUE AND LA TUCKER (Eds). Recent Advances in Pet Nutrition*. 2006. Nottingham University Press, p.79-89, 2006.

TURK, S.; MANDAR, R.; MAHLAPUU, R. et al. Male infertility: decreased levels of selenium, zinc and antioxidants. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, p. 179-185, 2014.

VAN VLEET, J. F.; REBAR, A. H.; FERRANS, V. J. Acute cobalt and isoproterenol cardiotoxicity in swine: protection by selenium-vitamin E supplementation and potentiation by stress-susceptible phenotype. **American Journal of Veterinarian Research**, v. 38, p. 991, 1977.

WOLFFRAM, S.; ANLIKER, E.; SCHARRER, E. Uptake of selenate and selenite by isolated brush border membrane vesicles from pig, sheep and rat intestine. **Biological Trace Element Research**, v. 10, p. 293, 1986.

YU, S.; WEDEKIND, K. J.; KIRK, C. A.; NACHREINER, R. F. Primary hair growth. *In: Dogs Depends on Dietary Selenium Concentration.* **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 90, p. 137-151, 2006.

ZIAEI, N. Effect of selenium and vitamin E supplementation on reproductive indices and biochemical metabolites in Raieni goats. **Journal of Applied Animal Research**, p. 426-430, 2015.