

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO NA DIETA DE  
CAPRINOS SOBRE A PRODUÇÃO E  
QUALIDADE DO EMBRIÃO

Autor: Eudes Esteves do Nascimento  
Orientador: Prof. Dr. Gentil Vanini de Moraes

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
janeiro - 2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO NA DIETA DE  
CAPRINOS SOBRE A PRODUÇÃO E  
QUALIDADE DO EMBRIÃO

Autor: Eudes Esteves do Nascimento  
Orientador: Prof. Dr. Gentil Vanini de Moraes

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal.

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
janeiro - 2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO NA DIETA DE  
CAPRINOS SOBRE A PRODUÇÃO E  
QUALIDADE DO EMBRIÃO

Autor: Eudes Esteves do Nascimento  
Orientador: Prof. Dr. Gentil Vanini de Moraes

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia – Área de Concentração  
Produção Animal

APROVADA em        de        de 2008.

---

Prof. Dr.

---

Prof. Dr.

---

Prof. Dr. Gentil Vanini de Moraes  
(Orientador)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por esta oportunidade, dando-me saúde, disposição, energia, persistência, dedicação e profissionalismo, para a realização deste estudo.

À minha Família, esposa e filhos, que me apoiaram sempre, acatando o meu silêncio, o meu estresse, o meu distanciamento do convívio, no dia-a-dia.

À Universidade Estadual de Maringá, em especial ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia, por me receber como estudante e, pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Aos funcionários da Secretaria do PPZ pelas informações das exigências e compromissos com as Disciplinas de Mestrado.

Ao Prof. Dr. Gentil Vanini de Moraes, pela orientação, espírito de profissionalismo ético, paciência, amizade, compreensão e dedicação.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pelos ensinamentos e exemplos de determinação.

Aos funcionários do Campus da Fazenda Experimental de Iguatemi, cozinheiras, Sr. Néelson e Sr. Ezulpério, Dr. Amauri, Diretor do Campus, que colocou à disposição toda infra-estrutura, agradecimento especial, pela sua bondade e amizade.

Ao Prof. Dr. Francisco de Assis Fonseca de Macedo, co-orientador, pela grande colaboração, cedendo os animais, para a realização do experimento.

Aos Colegas de Mestrado, principalmente, ao Jefferson Azevedo e à Marcela Mataveli, pelo apoio e ajuda no desenvolvimento das análises estatísticas.

Ao Colega, Amigo, parceiro nos trabalhos de campo, Dr. José Mendes de Oliveira, da Empresa Genética por sua imensurável contribuição na coleta e seleção das estruturas embrionárias.

Ao Dr. Paulo Cícero Werner, colega e amigo, pela sua contribuição na formulação do sal mineral.

À Empresa Biosintesis, pelo fornecimento do Cronipress para os protocolos de superovulação.

## BIOGRAFIA

Eudes Esteves do Nascimento, filho de Joaquim Esteves do Nascimento e Alice Martins do Nascimento, nasceu em Capetinga, Minas Gerais, no dia 16 de Agosto de 1948.

Em Outubro de 1974, concluiu o curso de graduação em Medicina Veterinária, pela Universidade Federal do Paraná.

No período compreendido de Novembro de 1974 a Fevereiro de 1999, foi membro da equipe e sócio da “Polivel – Policlínica Veterinária S/C Ltda”, em Londrina – PR.

Desde Março de 1999 até aos dias atuais, é sócio-gerente da Polivel Inseminação Artificial S/C Ltda, em Londrina – PR, na área de Clínica e Reprodução de Bovinos e pequenos ruminantes.

Desde 1990 até aos dias de hoje, ministra Curso Prático de Inseminação Artificial em bovinos e a partir do ano 2005, Curso Prático de Inseminação Artificial em Pequenos Ruminantes.

Exerceu a função de docente na Universidade Estadual de Londrina, Londrina – PR, na disciplina “Clínica Terapêutica e Doenças Infecciosas”, no período de 1975-1980.

Exerceu a função de docente na Universidade Norte do Paraná (UNOPAR), Arapongas – PR, nas disciplinas de Reprodução e Obstetrícia, no período de 2003.

Em Fevereiro de 2005, iniciou o curso de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS .....	v
LISTA DE FIGURAS .....	vi
LISTA DE QUADROS .....	vii
RESUMO .....	viii
ABSTRACT .....	x
I INTRODUÇÃO GERAL .....	12
Referências .....	16
II SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO NA DIETA DE CAPRINOS SOBRE A PRODUÇÃO E QUALIDADE DO EMBRIÃO .....	19
Resumo .....	19
Abstract .....	20
Introdução .....	21
Material e Métodos .....	23
Local do experimento, seleção dos animais e pesagem .....	23
Alimentação .....	23
Tratamentos .....	24
Protocolos de superovulação .....	25
Coleta de amostras para análise de selênio .....	28
Análise estatística .....	28
Resultados e discussão .....	29
Conclusão .....	31
Referências .....	32
III CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	35

## LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1	Composição da ração fornecida aos animais em matéria natural..... 23
Tabela 2	Composição do sal mineralizado utilizado para adicionar a dieta..... 24
Tabela 3	Média estimada e erro padrão do número de embriões viáveis, embriões de grau um, embriões de grau dois e embriões inviáveis de cabras Saanen submetidas à ingestão de 25 g de sal mineralizado contendo 30 ou 90 mg de selênio/kg ..... 29

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1	
Níveis médios estimados de selênio no soro de cabras Saanen, submetidas à superovulação e que receberam 25 g/ dia de sal mineralizado, via concentrado, contendo 30 ou 90 mg de selênio/ kg de sal mineral. Ingestão de 0,75 mg de selênio/ dia ou 2,05 mg de selênio/ dia. $P>0,05$ .....	30



## LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1	Protocolo da primeira superovulação de cabras Saanen..... 25
Quadro 2	Protocolo da segunda superovulação de cabras Saanen. .... 27

## RESUMO

A pesquisa foi realizada com objetivo de avaliar o efeito da suplementação dietética de selênio (Se) sobre a produção de embriões, in vivo, de caprinos. Foram utilizadas 12 fêmeas Saanen, com peso vivo médio inicial de 78,34 kg, de segunda lactação, com idade média inicial de 2,5 anos. O experimento foi desenvolvido na Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá – PR, em que os animais foram distribuídos em dois grupos de 6 animais, de forma aleatória, em um desenho experimental cross-over. Os animais controles receberam 25 g de sal mineral que continha 30 mg de selênio/ kg e os tratamentos receberam 25 g de sal mineral que continha 90 mg de selênio/ kg. No início e no final de cada fase experimental (inversão dos tratamentos) colheram-se 10 mL de sangue, via jugular, com agulhas 40x12, para extração do soro, que permitiu efetuar as análises de selênio, além de amostras das dietas. A alimentação foi à base de silagem, concentrado e pastagem, além do sal mineral dos tratamentos. A primeira fase durou 42 dias, tendo os tratamentos superovulatórios iniciados aos 21 dias de tratamento com selênio. Trinta dias após encerrada a primeira superovulação, os tratamentos foram invertidos. O protocolo inicial consistiu da inserção intra-vaginal do Cronipress (Biogenesis) com 0,33 g de progesterona (D0), no 11º dia (D11) início da aplicação das 250 UI FSH – P – gonadotrofina folículo estimulante de suíno (Pluset - Serono), em 6 aplicações com intervalos de 12 h, em doses decrescentes. No 13º dia (D13), aplicou-se 0,25 mL de Cloroprostenol sódico (Ciosin – Shering) e foram removidos os implantes vaginais. No 14º dia (D14) os animais manifestaram o cio pela manhã e foram acasalados às 12 e 24 h após, com reprodutores Bôer, na relação 1:3. No 16º dia (D16) os animais receberam novamente os implantes, e no 20º dia (D20) os mesmos foram removidos. No 21º dia (D21) procedeu-se a lavagem uterina com finalidade de recuperar os embriões com 250 mL de fosfato salina tamponado de Dulbecco (DMPBS) por corno uterino. Para tal, utilizou-se sonda uretral humana nº10, em que os efluentes foram recuperados em filtros de 70 micras e, daí, para placa de Petri e pesquisadas em esteriomicroscópio de 30 e 90 aumentos. As estruturas foram transferidas para DMPBS com 0,4% de albumina sérica de bovino para a manutenção e classificação. Na segunda fase, os procedimentos gerais foram iguais aos da fase 1, mas a progesterona foi fornecida pelo Crestar (Intervet – Brasil), na proporção de 1/ 3 Norgestomed de 1 mg, inseridas, subcutaneamente, na parte posterior e central do pavilhão auricular direito. Pelas análises efetuadas, constatou-se que houve maior produção de embriões ( $P < 0,05$ ) nos

animais que receberam 25 g diárias do sal mineral com 30 mg de selênio/ kg, tendo sido observado a média de  $5,97 \pm 1,29$  embriões viáveis no controle e  $3,49 \pm 1,39$  nos tratados com sal mineral contendo 90 mg de selênio/ kg. Foi observado, para os embriões de graus 1 ( $5,46 \pm 1,37$ ) e inviáveis ( $2,68 \pm 1,36$ ) valores maiores ( $P < 0,05$ ) nos controles e  $3,98 \pm 1,48$  dos embriões de grau 2, maiores nos tratados ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre os teores plasmáticos iniciais e finais de selênio entre os grupos experimentais, mas nos animais que receberam 25 g diárias de sal mineral contendo 90 mg de selênio/ kg foi ao final 11,54% e continham mais Se no soro ( $0,29 \text{ mg/ L} \times 0,26 \text{ mg/ L}$ ). Desta forma, conclui-se que a administração de sal mineral contendo 30 mg de selênio/ kg é suficiente para produzir embriões em caprino

Palavras-chave. Superovulacao, Reprodução de fêmeas, nutrição, micromineral, antioxidante.

## ABSTRACT

This study was carried out with the objective to evaluate the dietetic selenium supplementation (Se) on embryo production and quality in goat. There were utilized 12 Saanen female, weighting 78.34 kg in the beginning the experiment, in second lactation, with 2.5 years old. The experiment was carried out in the Fazenda Experimental de Iguatemi, of Universidade Estadual de Maringá, Paraná. The animals were randomly distributed in two groups, with six animals in cross-over design. The control animals received 25 g of mineral salt having 30 mg selenium/ kg and the animals treated with 25 g the same salt, but having 90 mg de selenium/ kg. The salt was provided for animals by concentrate diet. In the beginning and in the end of every experimental phase (change the treatments), it was collected 10 mL of blood by jugular vein to get the serum to evaluate selenium concentration, beyond the diets. The feeding was based in corn silage, concentrate diet, grass pasture and mineral salt treatments. The first phase lasted 42 days, and superovulatory treatments started after 21 days from the beginning with selenium of treatments. Thirty days after the end of the first phase, the treatment groups were inverted. The initial superovulatory protocol was done using intravaginal Cronipress device containing 0.33 g of natural progesterone (D0) (Biogenesis), on day 11 (D11) started the 250 UI FSH-P administration (Pluset – Serono), applied in six time, in decreased values, by intramuscular via, every 12 hours. On day 13 (D13) was administrated 0.25 mL of Cloprostenol (Ciosin – Shering) administrated by intramuscular via and removing the intravaginal Cronipress device. On day 14, in the morning, the animals showed estrous and they were breeding 12 and 24 hours with Bôer reproducers in a 1:3 proportions. On day 16 (D16) the intravaginal device was again introduced and on day 20 (D20) it was removed. On day 21 (D21) the uterus was washed with the purpose of recovering the embryos, utilizing 250 mL of Phosphate saline solution (DPBS) by uterine corneous. To collect the embryos was used a human urethral catheter, number 10, and the return liquid was recovery in a 70  $\mu$ . Encon filter, then transferred to Petri plate and classified in stereomicroscope with 30 and 90 x. Following, the embryos were kept in a DPBS solution with 0.4 % of bovine albumin serum to be classified. In the second phase, the general procedures were the same of the first phase, but the progesterone was provided by 1/3 of Crestar (Intervet – Brazil) in the back of the right ear (1 mg of Norgestomet). By the statistical analysis it was observed that animals that received 25 g of mineral salt with 30 mg of selenium/ kg had a greater ( $P < 0.05$ ) embryos production compared to those received 25 g of mineral salt with 90 mg of selenium/ kg ( $5.97 \pm 1.29$  x  $3.49 \pm 1.39$ ). The same was verified with embryos

qualified as grade one ( $5.46 \pm 1.37$ ) and most viable embryos ( $2.68 \pm 1.36$ ), but the embryo grade two, was greater ( $P < 0.05$ ) in the animals receiving mineral salt with 90 mg of selenium/ kg ( $3.98 \pm 1.48$ ). There was no difference for selenium in the serum comparing the two treatments, in the beginning and in the end, but the animals that received mineral salt with 90 mg of selenium/ kg in the end had 11.54% more selenium ( $0.29 \text{ mg/ L} \times 0.26 \text{ mg/ L}$ ). So it is possible to conclude that the administration mineral salt having 30 mg of selenium/ kg is enough to embryo production in goats.

Key-words. Superovulation, reproduction female, nutrition, mineralized salt, antioxidant.

## I INTRODUÇÃO GERAL

A caprinocultura, no Brasil e no Estado do Paraná, vem crescendo significativamente como atividade de exploração animal, em virtude dos interesses de mercado interno, pela mudança dos hábitos por parte dos brasileiros e, externo, pelo caminho da exportação de carne e seus derivados. Entretanto, a exploração econômica desta espécie necessita de uma organização do uso de tecnologias avançadas, de investimentos em formação e qualificação de mão-de-obra e de uma avaliação de custo benefício das inovações tecnológicas, levando-se em consideração que esta avaliação é, muitas vezes, penalizada pela limitada capacidade de investimento, pelo baixo nível de instrução e aceitação dos produtos.

De acordo com o IBGE (2004), a distribuição do rebanho caprino, no Brasil, considerado 9º maior rebanho do mundo, é de 92,88% (9.331.460 cabeças) na região do Nordeste; 2,18% (219.455 cabeças) na região Sul; 1,48% (148.546 cabeças) na região Norte; 1,09% (110.011 cabeças) na região Centro-Oeste; e 2,36% (237.416 cabeças) na região Sudeste.

O rebanho caprino, no mundo, aumentou 55% de 1980 a 1999 e a produção de leite de cabra cresceu 58% (FAO, 2001).

A expectativa, no Brasil, nas próximas duas décadas, é um rebanho de 50 milhões de cabeças, evoluindo geneticamente por meio das biotecnologias de Reprodução (Fonseca, 2006), como a inseminação artificial, transferência de embriões, que visam o incremento da produtividade e da rentabilidade dos rebanhos e das unidades produtivas. Os resultados desta tecnologia ainda são muito variáveis e, portanto, vários estudos têm sido conduzidos, visando a melhoria de resultados (Gusmão, 2005).

Os macrominerais (fósforo, cálcio, sódio e enxofre) e os microminerais (selênio, zinco e cobre) beneficiam a reprodução de forma interligada, de forma direta ou indireta (Baruselli, 2003). A deficiência de selênio ocasiona algum tipo de desordem reprodutiva em todas as espécies animais e todos os sexos (Rosa, 1993. Ceballos et al., 1998; Luberda, 2005). Kamada e Kodate (1998) constataram baixo teor de progesterona plasmática, que reduziu a concepção, aumentou a mortalidade de embriões, de abortos, aumentou retenção de placenta e causou distúrbios no ciclo estral. VanNiekerk et al., (1996) verificaram redução de 20 a 40% da mortalidade embrionária em ovelhas, nas deficiências nutricionais de selênio.

A compreensão sobre a importância do selênio em bovinos aumentou significativamente, tendo sido evidenciado que o selênio tem a capacidade de estimular o sistema imunológico e, por consequência, destruir bactérias, além de ter ações antioxidantes celulares (Barbosa e Souza, 2005; Uhm et al., 2007).

O selênio é um elemento essencial em várias funções do organismo tais como crescimento, reprodução, atividade imunológica, prevenção de doenças e manutenção da integridade das células e dos tecidos (McDowell, 1992; Boland, 2003), devendo estar nas dietas de animais domésticos na concentração de 0,1 a 0,3 ppm (NRC, 1983). Mestchy (2000) destacou a necessidade diária de 0,1 mg de Se/kg de MS, na dieta de cabras gestantes.

Dentre os microminerais, acredita-se que o selênio atua especificamente na melhora da sobrevivência do embrião (Piper et al., 1980) trabalhou com ovelhas machos e fêmeas suplementados com Se em doses de 0 a 10 mg/kg.MS.

Animais com deficiência de selênio podem ter suprimida a capacidade de defesa contra doenças infecciosas, que poderiam prejudicar a sobrevivência do embrião (Ashworth, 1995).

Grace (1994) constatou que a deficiência de selênio reflete, negativamente, em animais da espécie ovina ou de qualquer espécie animal, pois é responsável pela formação de enzima 5' deiodinase, que transforma T4 em T3 (Arthur, 1993), o que prejudica o desenvolvimento animal (Oblitas et al., 2000). Neste sentido, Potts et al.,(1999) estudaram homens vasectomizados e normais, constataram que nos vasectomizados existia menos antioxidantes no epidídimo do que os normais e que isto causou maior destruição de espermatozoides neste local.. Irvine (1996) administrou Glutathione peroxidase em homens com infertilidade e comparou com os que não receberam e, verificou recuperação da infertilidade nos tratados.

Munsi et al., (2007) verificaram melhora significativa da mortalidade espermática progressiva e redução das anormalidades espermáticas de touros tratados com Glutathione peroxidase, comparados aos não tratados.

O selênio é considerado um antioxidante, tendo como função o co-fator da glutathione peroxidase (GSH-Px), enzima responsável pelo sistema de regulação extra e intracelular da hidropoxidase (Burk e Hill, 1993; Ceballos et al., 1999; Luberda, 2005). Grace (1994) constatou que a deficiência de selênio reflete, negativamente, em animais da espécie ovina ou de qualquer espécie animal, pois é responsável pela formação da enzima 5' deiodinase, que transforma T4 em T3 (Arthur, 1993), o que prejudica o desenvolvimento animal (Oblitas et al., 2000).

Em um trabalho realizado com 12 cabras leiteiras saudáveis, durante 10 semanas, em que o grupo controle recebeu dieta com 0,045 mg de Sel-Plex (Selenometionina)/ Kg de matéria seca (MS) e, um segundo grupo recebeu dieta suplementada com 0,15 mg de Sel-Plex/ kg de MS (Khaled e Illek., 1999) constataram que os animais suplementados continham teores mais elevados de Se no plasma e no leite, mas que isto não afetou atividade da tireóide.

A utilização do selênio orgânico na dieta de aves matrizes interfere na fisiologia do desenvolvimento embrionário, tais como elevar a incorporação de lipídeos pelo corpo do embrião, a atividade da delta- 6- desaturase, primeira etapa na conversão de ácido linolênico em ácido araquidônico, da triiodotironina (T3) a partir de tiroxina (T4), por meio da ação da diosinases (Paton et al., 2002).

Smith e Akinbamijo (2000) constataram que as cabras também são susceptíveis a deficiência de selênio, o qual funciona como um componente citosólico para formar GSH-Px, o qual reduz os peróxidos, evitando o ataque às membranas celulares.

A enzima glutathione peroxidase é vital para proteção da membrana lipídica dos oócitos e para a maturação dos folículos ovulatórios, para que a membrana não sofra peroxidação pelos radicais livres, que causam a ruptura da mesma e danos graves irreversíveis (Barbosa e Souza, 2005).

A participação do selênio na fisiologia do útero é vital, pois a função antioxidante é fundamental para manter o ambiente uterino o mais sadio possível, para a passagem dos espermatozoides, na época do cio, e para receber o embrião e protegê-lo durante toda a gestação (Barbosa e Souza, 2000).

Os resultados apurados (Monteiro et al., 2007) no arraçamento de selênio na dieta de alevinos de Matrinxã (*Brycon cephalus*) mostraram o efeito benéfico do



selênio, melhorando o crescimento, o ganho de peso, evitando o canibalismo, diminuindo o estresse, aumentando as defesas antioxidantes como a GPx (glutathione peroxidase) e a GSH (glutathione reduced) intracelular, considerado um dos mais abundantes antioxidantes, auxiliando na prevenção da peroxidação lipídica responsável por danos celulares.

Há evidência de que a concentração de glutathione reduced (GSH) no interior do oócito pode ser um bom sinal bioquímico para contribuir para o desenvolvimento da maturação nuclear e citoplasmático, em mamíferos. O entendimento da dinâmica da concentração de GSH durante a maturação do oócito e o desenvolvimento embrionário podem diminuir a infertilidade e aumentar a eficiência da produção de embriões (Luberda, 2005). Kingsley et al. (1998) observaram em experimento realizado em camundongos, a enzima glutathione peroxidase extracelular (EGPx), encontrada em líquidos adjacentes do embrião e metade da gestação, saco vitelínico, placenta e serve como proteção contra prejuízos de oxidação.

O meio de cultura agar gel (ITS – insulina – transferrin – selenium) auxiliou na manutenção e no desenvolvimento de folículos pré-antrais caprinos, *in vitro*, por 14 dias (Huanmin e Yong, 2000). Houve redução da mortalidade embrionária durante a implantação, o que pode ter sido devido ao aumento do índice da fertilidade. Ainda, de acordo com o autor, este efeito pode ter ocorrido pelo aumento das contrações uterinas e as melhoras no transporte dos espermatozoides, efeitos que são, particularmente, importantes na superovulação.

O presente estudo foi realizado com objetivo de avaliar a influência do selênio administrado por meio de sal mineral, vinculado a dieta, em valores maiores daquele indicado pelo NRC, sobre a produção e qualidade dos embriões.

## REFERÊNCIAS

ARTHUR, J. R. The biochemical functions of selenium relationships to thyroid metabolism and antioxidant systems. In: ROWETT RESEARCH INSTITUTE ANNUAL REPORT, p. 11-20. 1993. Rowett Research Institute, Blackburn, Abdeen, UK.

ASHWORTH, C. J. Maternal and conceptus factors affecting histotrophic nutrition and survival of embryos. *Liv. Prod. Sci, Foulun, Denmark*, v. 4, p. 99 – 105, 1995.

BARBOSA, P. A.; SOUZA, G. M. Influência dos principais microminerais na reprodução de bovinos. Belo Horizonte, MG. Disponível em: <<http://reagro.com.br/corte/>>. Acesso em: 20 jun. 2005.

BARUSELLI, M. S. Efeito do uso de minerais orgânicos no desempenho e comportamento animal. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA, 2003, Uberaba. *Anais...* Uberaba: 2003 (CD-ROM).

BOLAND, M. P. Trace minerals in production and reproduction in dairy cows. *Adv. in D. Techn.*, Dublin, Ireland, v.15, p.319-330. 2003.

BURK, R. F.; HILL, K. E. Regulations of selenoproteins. *An. Rev. Nutr.*, Nashville, Tennessee, v. 13, p. 65-81, 1993.

CEBALLOS, A. et al. Actividad sanguínea de glutatión peroxidase en rebaños lecheros a pastoreo: variación según edad y época del año. Brasilia. *Arch. de Méd. Vet.*, Valdivia, Peru, v. 30, n. 1, p.1-13, 1998.

FAO, 2001. Disponível em: <<http://apps.fao.org>>. Acesso em: 23 out. 2001.

FONSECA, J. F. Alguns aspectos da transferência de embriões em caprinos. *Anim. Sci. Vet.*, v. 34, p. 65 – 70, 2006.

GRACE, N. D. In: Managing trace element deficiencies 1994: p. 9—32. New Zealand Journal of Agricultural Research, Palmerston North, New Zealand.

GUSMÃO, A. L., Transferência de embriões em pequenos ruminantes. *O Embrião*, Jaboticabal- SP., v. 25, p.6-9, 2005.

HUANIM, Z.; YONG, Z. In vitro development of caprine ovarian preantral follicles. *Theriogenology*, Clare, Island., v.54. p.641 – 650, 2000.

IBGE, 2004. *Efetivo do rebanho caprino no Brasil. Pesquisa Pecuária Municipal, Rio de Janeiro. IBGE. Disp. Em* <[www.ibge.gov.br/ibge/estatística/economia/agropecuária/censoagro/default.shtm](http://www.ibge.gov.br/ibge/estatística/economia/agropecuária/censoagro/default.shtm)> Acesso em 12/02/2008.

IRVINE, D. S. *Glutathione as a treatment for male infertility. Rev. Repr., Edinburg, v.1, p.6-12, 1996.*

KHALED, N. F.; ILLEK, J. Influence of dietary supplementation of selenium-enriched yeast on selenium status of dairy goats. In: CONGRESS ON MACRO END TRACE ELEMENTS, 19<sup>th</sup>.1999. Friedrich-Schiller University, Jena, Germany, Dec. 3-4, 1999. p. 244-251.

KAMADA, H.; HODATE, K. Effect of dietary selenium supplementation on the plasma progesterone concentration in cows. *J. Vet. Med. Sci.*, Japan. v. 60, n.1, p. 133-135, 1998.

KINGSLEY, P. D. et al. Development expression of extracellular glutathione peroxidase suggest antioxidant roles in deciduum, visceral yolk sac, and skin. *Molecular Reproduction and Development*, New York, v.49, n.4, p.343-355, 1998.

LUBERDA, Z. The role of glutathione in mammalian gametes. *Reproductive Biology*, Olsztyn, Poland, v. 5, n. 1, p. 5-17. 2005.

McDOWELL, L. R. *Minerals in animal and human nutrition*. San Diego, California, USA: Academic Press, Inc. 1992.

MESTCHY, F. Recent progress in the assesment of mineral requirement of goats. *Liv. Prod. Sci.*, Paris, France, v. 64, p. 9-14, 2000.

MONTEIRO, D. A.; RANTIN, F. T.; KALININ, A. L. Uso do selênio na dieta de Matrinxã, *Brycon cephalus*. *Ver. Brasil. de Saúde e Prod. Anim.*, São Carlos, SP., v.8, n.1, p. 32-47, 2007.

MUNSI, M. N. et al. Effects of exogenous glutathione on the quality of chilled semen. *Reprod. Dom. Anim.*, Blacwell, Verlag, v. 42, p. 358 – 362, 2007.

NRC – National Research Coucil, Subcomitte on Selenium. *Selenium nutrition*. Washington, DC.: National Academic Press. 1983.

OBLITAS, F.et al. Efecto de la suplementación com selênio sobre la actividad sangüínea de glutatión peroxidase (GSH-Px) y ganancia de peso em bovinos selenio deficientes mantenidos a pastoreo. *Arch. Med. Vet.*, Valdivia, Peru, v. 32, n. 1, p. 1-11, 2000.

PATON, N. D. et al. Absorption of selenium by developing chick embryos during incubation. In: BIOTECNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 18<sup>th</sup>. p. 107-121, 2002. Proceeding of Alltech´s 18<sup>th</sup> annual symposium: Nottingham, UK, 2002.

PIPER, L. R. et al. The effect of selenium treatment on the fertility of Merino sheep. In. *PROC. AUST. SOC. ANIM. PROD.*, v.13, p. 241-244, 1980.

POTTS, R. J., JEFFERIES, T. M., NOTARIANI, L. J. Antioxidant capacity of the epididymis. *Hum. Reprod.*, Bath, Ireland, v.14, n.10, p.2513 – 2516, 1999.

ROSA, I. V. *Deficiências de microelementos e reprodução*. Campo Grande: Embrapa Gado Corte. 9 p. 1993.

SMITH, O. B.; AKINBAMIJO, O. Micronutrients and reproduction in farm animals. *Anim. Reprod. Sci.* Ottawa, Canadá. v. 60/61, p. 549-560, 2000.

UHM, S.J. et al. Embryo development: Selenium improves the developmental ability and reduces the apoptosis in porcine parthenotes. *Mol. Reprod. De.t, Seoul, South Korea*, v. 74, n. 11, p. 1386-1394. 2007.

VanNiekerk, F. E; CLOETE, SWP; HEINE, EWP; vanderMerwe, A; duPlessis, SS; BEKKE, D. The effect of selenium supplementation during the early pos-mating period on embryonic survival in sheep. *J. South African Vet. Assoc.*, Stellenbosch, South África, v. 67, n. 4, p. 209-213, 1996.

## II SUPLEMENTAÇÃO DE SELÊNIO NA DIETA DE CAPRINOS SOBRE A PRODUÇÃO E QUALIDADE DO EMBRIÃO

**RESUMO.** A pesquisa foi realizada com objetivo de avaliar o efeito da suplementação dietética de selênio (Se) sobre a produção e qualidade de embriões, de caprinos, *in vivo*.. Foram utilizadas 12 fêmeas Saanen, com peso vivo médio inicial de 78,34 kg  $\pm$  6,4 de segunda lactação, com idade média inicial de 2,5 anos. O experimento foi desenvolvido na Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá – PR, em que os animais foram distribuídos em dois grupos de 6 animais, de forma aleatória, em um desenho experimental cross-over. Os animais controles receberam 25 g de sal mineral que continha 30 mg de selênio/ kg e os animais do grupo experimental receberam 25 g de sal mineral que continha 90 mg de selênio/ kg. Assim, foi observado para os embriões de graus 1 (5,46  $\pm$  1,37) e inviáveis (2,68  $\pm$  1,36) maiores (P<0,05) nos controles e 3,98  $\pm$  1,48 dos embriões de grau 2, maiores nos tratados (P<0,05). Não houve diferença (P>0,05) entre os teores plasmáticos iniciais de selênio entre os dois grupos. Desta forma, conclui-se que a administração de sal mineral contendo 30 mg de selênio/ kg é suficiente para produzir embriões em caprinos.

**Palavras-chave:** Superovulação, reprodução, nutrição, mineral, antioxidante.

**ABSTRACT. Diet selenium supplementation on goat embryos production and quality.** This study was carried out with the objective to evaluate the dietetic selenium supplementation (Se) on embryo production and quality in goat. There were utilized 12 Saanen female, weighting an average of  $78.34 \text{ kg} \pm 6.4$  in the beginning of the experiment, second lactation, with 2.5 years old. The experiment was carried out in the Fazenda Experimental de Iguatemi, of Universidade Estadual de Maringá, Paraná. The animals were randomly distributed in two groups, with six animals in cross-over design. The control animals received 25 g of mineral salt having 30 mg of selenium/ kg and the experimental animals 25 g the same salt, but having 90 mg of selenium/ kg. It was observed that the animals receiving 25 g of mineral salt with 30 mg of selenium/ kg had a greater ( $P < 0.05$ ) embryos production compared with that receiving 25 g of mineral salt with 90 mg of selenium/ kg ( $5.97 \pm 1.29$  x  $3.49 \pm 1.39$ ). The same was verified with embryos qualified as grade one ( $5.46 \pm 1.37$ ) and also to more viable embryos ( $2.68 \pm 1.36$ ), but the embryo grade two, was greater ( $P < 0.05$ ) in animals receiving mineral salt with 90 mg of selenium/ kg ( $3.98 \pm 1.48$ ). No difference was observed in selenium serum comparing the two treatments. So it is possible to conclude that the administration mineral salt having 30 mg of selenium/ kg is enough to embryo production and quality in goats.

**Key-words:** Superovulation, reproduction female, nutrition, mineralized salt, antioxidant.

## Introdução

O Selênio (Se) é um micronutriente metalóide, ligeiramente ácido, número atômico 34, peso atômico 78,96 daltons, que se caracteriza pela capacidade de oxidorredução, podendo apresentar-se com valência de -2 até +6, descoberto por John Jacob Berzelius em 1817 (PDRhealth, 2005) que recebeu esse nome por derivar de *selene*, que quer dizer lua. De acordo com PRDhealth (2005), o Se encontra-se irregularmente distribuído pelo solo de todo mundo e é encontrado nas rochas sedimentares das regiões mais secas.

Os microminerais são importantes para as diferentes funções do organismo e, assim, a produção (McDowell, 1992; Boland, 2003), incluindo a atividade reprodutiva (Boland, 2003), devendo estar nas dietas de animais domésticos em concentrações de 0,1 a 0,3 ppm (NRC, 1983).

Frank (1934) citado por Ortolani (2002), relacionou o Se com atividade biológica, ao observar, em eqüinos, um tipo de manqueira causada pela intoxicação de Se e, Shwarz e Foltz (1957) descreveram, pela primeira vez, em ratos, necrose hepática causada pela deficiência de Se, assim como descreveram, em animais, miopatia grave devido à deficiência de Se.

Ceballos et al. (1999) e Luberda (2005) observaram que o Se faz parte da enzima glutathiona peroxidase (GSH-Px), que tem a função de inativar os radicais livres derivados do oxigênio, em consequência do metabolismo e a concentração sanguínea de Se, e que apresenta relação de 0,74 a 0,97 com a atividade da GSH-Px (Wittwer et al., 2002). O Se atua na proteção das células contra os danos causados por espécies de oxigênio reativo e pela redução de peróxidos de hidrogênio, bem como favorece a síntese de hormônios derivados do ácido araquidônico, do metabolismo de compostos estranhos ao organismo e no transporte de alguns aminoácidos nos rins (Sandholm, 1980; Barbosa e Souza, 2005). PDRhealph (2005)..

Os radicais livres causam danos à membrana celular, reduzindo, consequentemente a qualidade dos gametas (Luberda, 2005). Oócitos de boa qualidade, com boas características morfológicas e de desenvolvimento, são o primeiro requisito para o sucesso da produção de embriões *in vitro* (Paschoal e Gradela, 2007).

Já foram identificadas 10 selenoproteínas, dentre as quais a GSH-Px, cujas funções ainda não são claras (Arthur, 1990). Dentre as selenoproteínas, a diodinase que

converte tiroxina ( $T_4$ ) em triiodotironina ( $T_3$ ) e, num caso de deficiência de Se pode elevar o TSH e, por consequência, a deficiência de  $T_4$  e  $T_3$  (Arthur et al., 1993; OMS, 1998), o que poderia prejudicar o desenvolvimento animal (Oblitas et al., 2000).

Hurley e Doane (1989) afirmaram que o Se pode estar associado a produção de prostaglandinas e que existe acúmulo de Se nos placentomas, ovários, pituitária e glândula adrenal, sugerindo que haja exigências específicas nestes tecidos. Salientaram também que pode reduzir a retenção de placenta e incrementar a performance reprodutiva visto que há indícios que a glutathione peroxidase protege a membrana dos oócitos contra danos oxidativos, o que coincide, em parte, com as observações de Lubberda (2005). De acordo com Eppig (1996) e Krisher e Bavister (1998) a Glutathione peroxidase tem se revelado importante no processo de maturação de oócitos, envolvendo a síntese de componentes bioquímicos, fosforilação de proteínas e a ativação de caminhos metabólicos específicos.

Santiago (1986) observou, no Rio Grande do Sul, aumento no índice de fecundação, diminuição do número de inseminações por concepção e do intervalo entre parto e fecundação, em dois grupos de vacas da raça charolesa, que foram tratadas, respectivamente, 30 dias pré-parto, 30 dias pré-parto e 60 dias pós-parto, com 1mL/100kg de selênio-tocoferol.

Entre os microminerais, acredita-se que o selênio atue especificamente na melhora da sobrevivência do embrião (Piper et al., 1980). VanNiekerk et al. (1996) constataram que a suplementação de selênio 15 a 35 dias após o parto, via parenteral, reduziu a morte de embriões, em ovelhas, em 22 a 40 %.

Apesar dos avanços ocorridos nos últimos anos na produção de embriões *in vitro*, vários aspectos precisam ser esclarecidos e, dentre eles está a competência dos gametas (Paschoal e Gradela, 2007). Assim, para tentar contribuir neste processo, realizou-se este estudo com o objetivo de verificar a influência da adição dietética de Se, além daquela prevista para a produção animal, na produção e qualidade de embrião.



## Material e Métodos

### Local do experimento, seleção dos animais e pesagem

O experimento foi conduzido no setor de caprinocultura da Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá – PR, de outubro de 2006 a abril de 2007.

Foram utilizadas 12 cabras Saanen, segunda lactação, com idade média de 2,5 anos, com peso vivo médio inicial, na primeira superovulação de 78,4 kg  $\pm$  6,4 e peso médio final de 74,5 kg.  $\pm$  6,3. No início da segunda superovulação o peso inicial médio foi de 75,2 kg  $\pm$  7,2 e o peso final de 77,3 kg.  $\pm$  9,7.

### Alimentação

Os animais foram mantidos em sistema de semi confinamento, recebendo ração balanceada contendo 15 % de PB e 2,53 % de NDT natural, silagem de milho e sal mineralizado.

Tabela 1 Composição da ração fornecida aos animais em matéria natural.

Food composition provided to animal in natural stuff.

Parâmetros	Quantidade (Kg)
Parameters	Quantity
Milho triturado	220,00
Ground corn	
Farelo de soja	83,50
Soybean real	
Feno de aveia	175,00
Oat hay	
Calcário	3,50
Calcarious	
Fosfato bicálcico	3,00
Bicalcic Phosphate	
Total	485,10
Total	

Tabela 2 Composição do sal mineralizado utilizado para adicionar a dieta.  
Mineralized salt composition utilized to add in the diet.

Elementos	Quantidade	
Elements	Quantity	
Cálcio	Calcium	150,0 g
Fósforo **	Phosphorus	65,0 g
Magnésio	Magnesium	15,0 g
Sódio	Sodium	130,0 g
Enxofre	Sulphur	20,0 g
Cobalto	Cobalt	100,0 mg
Cobre	Copper	50,0 g
Iodo	Iodine	65,0 mg
Manganês	Manganese	1600,0 mg
Ferro	Iron	500,0 mg
Selênio	Selenium	6,67 g ou 20,0 g
Zinco	Zinc	4000,0 mg
Flúor (Máx.)	Fluorite	650,0 mg

\* Quantidade para 100 kg  
Quantity for 100/ kg

\*\* Solubilidade do Fósforo (P) em ácido cítrico a 2%, já no mínimo de 95%.  
Phosphorus solubility (P) in citric acid in 2 % already in the minimal 95 %.

## Tratamentos

As cabras foram divididas, aleatoriamente, em dois grupos de 6 animais cada, sendo um grupo identificado como controle (25 g de sal mineralizado com 30 mg de selênio por kg) e o segundo como experimental (25 g de sal mineralizado com 90 mg de selênio por kg de ração).

As fêmeas foram submetidas à avaliações reprodutivas, por exame vaginoscópico e por ultra-sonografia, por via retal, com o auxílio de um transdutor linear de 5,0 MHz, ultra-som Aloka, 500 – SSD500 (Aloka Co., Ltda., Tóquio, Japan).

## Protocolos de superovulação

A partir de 21 dias de ingestão da dieta contendo diferentes sais minerais, foi iniciado o protocolo da primeira superovulação, inserindo o implante intravaginal Cronipress (0,33 g de progesterona – Biogenesis - Brasil), considerado D0. No D11, iniciou-se o protocolo de superovulação com 250 UI de gonadotrofina suína (Pluset – Serono, Itália), durante 3 dias, administrados em doses decrescentes, conforme o Quadro 1.

No D13, foram aplicadas duas doses de 0,25 mL de Cloprostenol sódico (Ciosin – Shering), via intramuscular e, remoção dos implantes vaginais.

Quadro 1 Protocolo da primeira superovulação de cabras Saanen.

Protocol of the first superovulation of Saanen female goats

<b>Dia (Day)</b>	<b>Hora (Hour)</b>	<b>Procedimento na doadora Donnor Proceedings</b>
0	8:00	Cronipress(0,33 g Progesterona)
11 <sup>o</sup>	7:00	2,5 mL Pluset (62,5 UI)
	19:00	2,5 mL Pluset (62,5 UI)
12 <sup>o</sup>	7:00	1,5 mL Pluset (37,5 UI)
	19:00	1,5 mL Pluset (37,5 UI)
13 <sup>o</sup>	7:00	1,0 mL Pluset (25,0 UI)
	19:00	1,0 mL Pluset (25,0 UI) + 0,25 mL Ciosin + Remoção do implante
14 <sup>o</sup>	19:00	Primeira cobertura
15 <sup>o</sup>	7:00	Segunda cobertura
16 <sup>o</sup>	7:00	Novo Cronipress
20 <sup>o</sup>	9:00	Retirada de comida e água
	18:00	Retirada do Cronipress e aplicação 0,5 mL de Ciosin
21 <sup>o</sup>	8:00	Colheita dos embriões

As coberturas foram realizadas por meio de monta natural controlada, com machos da raça Bôer, nos D14 e D15, sendo que a primeira monta foi 24 horas após a remoção do implante e, a segunda monta, 12 horas após a primeira. Os machos utilizados na monta foram comprovadamente aptos à reprodução, testados por meio de exames andrológicos e a proporção foi de 1:3 (machos: fêmeas, respectivamente).

Decorridas 24 horas da segunda monta, no D16 foram reinsertos os implantes vaginais, sendo retirados 12 horas antes da colheita dos embriões, no D20. Os animais foram submetidos ao jejum hídrico e alimentar e receberam uma dose de 0,5 mL de Cloprostenol sódico (Ciosin - Shering), com objetivo de proporcionar dilatação cervical, para facilitar a passagem da sonda uretral de uso humano nº10.

No D21, efetuou-se a lavagem uterina, por meio transcervical, utilizando-se 250 mL de fosfato salina tamponado de Dulbecco (DPBS), com 0,4 % de soro albumina de bovino, sendo introduzidas em porções de 50 mL, em cada corno uterino, lavado por 5 vezes, injetados por meio de seringa de 50 mL por sistema fechado adaptado. Os efluentes foram retidos em um filtro de 70 micras, mantendo-se cerca de 30 mL de meio no filtro Encon no final da colheita.

Para a colheita dos embriões, os animais receberam 1,5 mL de anestésico local (Lidocaína – Pearson), via epidural caudal, e 0,5 mL de Acepran 1% (Univet), via intramuscular. Para expor a cérvix foram utilizadas duas pinças de Posi de 25 cm, utilizando-se de um espéculo modelo bico de pato e, uma vez localizado o óstio cervical, foi fixado, bilateralmente com as duas pinças e, então, suavemente tracionado até o mais próximo possível da abertura vulvar (Gusmão et al., 2007). O cateter foi posicionado, primeiramente, no corno uterino direito e introduzido com auxílio de um mandril de metal, utilizando o dedo indicador no interior do reto para orientar a introdução (Gusmão, 2005).

Os embriões foram classificados em esteriomicroscópio, em aumento de 30 e 90 vezes, de acordo com Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS, 1998).

A classificação consta de embriões excelentes ou bom (grau 1), regular (grau 2), pobres (grau 3) e mortos ou degenerados (grau 4).

Trinta dias depois de encerrados os tratamentos, período em que os animais receberam ração sem sal mineral, data em que foram invertidos os tratamentos (cross-over) mantendo-se a mesma alimentação e a mesma quantidade de ingestão forçada de sal mineral, contendo 30 ou 90 mg de selênio/ kg, os quais foram sempre incorporados na dieta concentrada.

O protocolo da segunda superovulação (quadro 2) iniciou-se 21 dias após o início da ingestão das dietas contendo sal mineralizado com Se, em que se fez a implantação, na parte auricular posterior e central, subcutaneamente, de 1/3 de Norgestomet (1,0 mg – Crestar- Intervet). A aplicação de FSH-P iniciou-se no D11,

com 250 UI de gonadotrofina suína (Pluset – Serono, Itália), durante 3 dias, em doses decrescentes, aplicadas a cada 12 horas, via intramuscular.

No D13, foram aplicadas duas doses de 0,25 mL de Cloprostenol sódico (Ciosin – Shering), via intramuscular, seguido da retirada dos implantes auriculares.

As coberturas foram realizadas por meio de monta natural, com os mesmo reprodutores da primeira superovulação, sendo a primeira 24 horas após a remoção do crestar e, a segunda, 12 horas após a primeira (D14 e D15, respectivamente).

Decorridas 24 horas da segunda monta, foram recolocados os novos implantes auriculares, os quais foram retirados 12 horas antes da colheita dos embriões (D20), mantidos em jejum hídrico e alimentar e, receberam uma dose de 0,5 mL de Cloprostenol sódico (Ciosin), via intramuscular. No D21, efetuou-se a colheita das estruturas embrionárias, pelo método transcervical, de acordo com a metodologia de Gusmão et al. (2007). A classificação, também, foi de acordo com a IETS (1998), em esteriomicroscópio de 30 a 90 aumentos.

**Quadro 2** Protocolo da segunda superovulação de cabras Saanen.

Protocol of the second superovulation of Saanen female goat.

<b>Dia (Day)</b>	<b>Hora (Hour)</b>	<b>Procedimento na doadora Donnor Procedings</b>
0	8:00	Crestar (Progesterona)
11 <sup>o</sup>	7:00	2,5 ml Pluset (62,5 UI)
	19:00	2,5 mL Pluset (62,5 UI)
12 <sup>o</sup>	7:00	1,5 mL Pluset (37,5 UI)
	19:00	1,5 mL Pluset (37,5 UI)
13 <sup>o</sup>	7:00	1,0 mL Pluset (25,0 UI) + 0,25 mL - IM
	19:00	1,0 ml Pluset (25,0 UI) + 0,25 mL Ciosin - IM + remoção do implante
14 <sup>o</sup>	19:00	Primeira cobertura
15 <sup>o</sup>	7:00	Segunda cobertura
16 <sup>o</sup>	7:00	Implante de novo Crestar
20 <sup>o</sup>	9:00	Retirada de comida e água
	18:00	Aplicação 0,5 mL de Ciosin e retirada do Crestar
21 <sup>o</sup>	8:00	Colheita dos embriões

## Coleta de amostras para análise de selênio

Foram colhidas 10 mL de sangue da veia jugular, com agulha 40x12, sem anticoagulante e centrifugadas a 3500 rpm (2178 g força) por 15 minutos. O soro foi armazenado em frasco de ependorf, conservado a – 20°C e depois encaminhado ao Laboratório Green Lab, Porto Alegre, RS, para determinar o teor de selênio, juntamente com as amostras de concentrado.

A determinação foi feita por espectrofotometria de absorção atômica, Metodologia SM 3500 Se e a análise de sólidos foi feita pela digestão ácida (ácido sulfúrico e ácido nítrico) - Bomba Tolgi (Olson et al, 1975).

## Análise estatística

Utilizou-se o delineamento cross-over (Cue, 2004), no qual os animais foram distribuídos, aleatoriamente, em dois grupos, ocorrendo inversão dos tratamentos de cada grupo ao final do primeiro período. Consideraram-se como variáveis resposta o número de embriões viáveis, embriões de grau um, embriões de grau dois, embriões inviáveis e níveis sorológicos de selênio, de acordo com o modelo estatístico descrito abaixo:

$$y_{ijk} = \mu + T_i + A_j + P_k + e_{ijk}$$

Onde:  $y_{ijk}$  - Observação referente ao animal (j), que recebeu o tratamento (i), no período (k);

$\mu$  - Média geral;

$T_i$  - Efeito fixo do tratamento (i);

$A_j$  - Efeito aleatório do animal (j);

$P_k$  - Efeito fixo do período (k);

$e_{ijk}$  - Erro aleatório.

Para a realização das análises estatísticas utilizou-se o procedimento MIXED do SAS (1992), considerando como efeitos fixos o tratamento e o período e como efeito aleatório o animal.

## Resultados e discussão

Os resultados referentes a produção de embriões de cabras Saanen, após 41 dias de experimento na fase 1, mais 41 dias de experimento da fase 2, avaliando a suplementação de selênio, são apresentados na Tabela 1. Observou-se maior número de embriões viáveis de grau 1 ( $P < 0,05$ ) nas cabras que receberam 25 g de sal mineralizado contendo 30 mg de selênio/ kg de sal mineral, em comparação com aqueles que receberam sal mineralizado, contendo 90 mg de selênio/ kg de sal mineral, os embriões viáveis totais, os de grau dois e os inviáveis, não tiveram diferenças ( $P > 0,05$ ), considerando-se os dois períodos de superpopulação, ao avaliar-se os animais que foram alimentados com sal mineralizado, contendo 90 mg de Se/Kg de sal.

Tabela 3 Média estimada e erro padrão do número de embriões viáveis, embriões de grau um, embriões de grau dois e embriões inviáveis de cabras Saanen submetidas à ingestão de 25 g de sal mineralizado contendo 30 ou 90 mg de selênio/ kg.

Estimate mean and standard error of viable embryos number, one grade embryos, two grade embryos and not viable embryos of Saanen female goat submitted of the intake of mineralized salt containing 30 or 90 mg of selenium/ kg.

Parâmetros Parameters	N	Tratamentos						
		30 mg de selênio/ kg de sal mineral 30 mg of selenium/ kg mineral salt			90 mg de selênio/ kg de sal mineral 90 mg of selenium/ kg mineral salt			
Estruturas infertilizadas	10	1,53	4,02	±		5,91	±	1,59
Embriões viáveis Viable embryos	12	5,97	±	1,29	3,49	±	1,39	
Embriões de grau um Grade one embryos	7	5,46*	±	1,37	0,99	±	1,84	
Embriões de grau dois Grade two embryos	8	2,14	±	1,48	3,98	±	1,48	
Embriões inviáveis Not viable embryos	12	2,68	±	1,36	1,29	±	1,38	

\*  $P < 0,05$

Os níveis sorológicos de selênio não foram diferentes ( $P > 0,05$ ) nas cabras suplementados com 30 ou 90 mg de selênio/ kg de sal mineral (Figura 1), o que corrobora com os resultados observados na Tabela 1, os quais destacam que a suplementação de 30 mg de selênio/ kg de sal mineral contribuiu para maior produção de embriões viáveis de grau um. Também, não houve diferenças entre os níveis sanguíneos iniciais e finais de selênio.

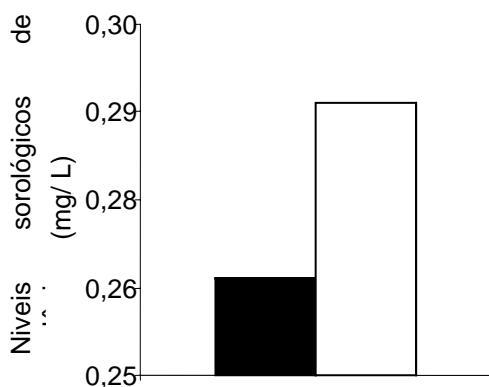


Figura 1 Níveis médios estimados de selênio no soro de cabras Saanen, submetidas à superovulação e que receberam 25 g/ dia de sal mineralizado, via concentrado, contendo 30 ou 90 mg de selênio/ kg de sal mineral. Ingestão de 0,75 mg de selênio/ dia ou 2,05 mg de selênio/ dia.  $P>0,05$

Selenium levels in serum of Saanen female goat, submitted to superovulation that received 25g/ day of mineralized salt by concentrate, contained 30 or 90 mg of selenium/ kg of mineral salt. Intake 0.75 mg of selenium/ day or 2.05 mg of selenium/ day.  $P>0.05$

Diante da propriedade antioxidante do selênio, no combate dos radicais livres resultantes de átomos ou de moléculas que apresentam um ou mais elétrons despareados (Stryer, 1996) esperava-se que a adição de 90 mg de selênio/ kg de sal mineral aumentasse a produção de embriões viáveis e de melhor qualidade.

Entretanto, sabe-se que, quando há desequilíbrio entre radicais livres (oxidantes) e os antioxidantes (defensores) que favorecem os oxidantes, surge o estresse oxidativo, havendo o ataque dos oxidantes às células, produzindo resíduos celulares ou a morte das células (Rodriguez et al., 2004). Segundo Uhm et al. (2007), o selênio garante adequada biossíntese de selenoproteína, protegendo as células dos embriões de ações oxidantes e apoptose.

Com relação à selenoproteína, pode ser destacado os estudos de Wittwer et al. (2002) que observaram correlação de 0,74 a 0,97 dos teores de selênio ingeridos pelo animal e a GSH-Px. Neste estudo, parece ter ocorrido o contrário, pois predominou a produção de embriões naqueles que receberam sal mineral com menos selênio.



O selênio no soro, apesar de não haver diferença ( $P>0,05$ ) apresentou resultado que difere dos encontrados por Khaled e Illek ((1999), ao terem suplementado cabras com Selplex, em que os suplementados continham teores plasmáticos mais elevados de selênio.

O aumento da produção de embriões de melhor qualidade depende, também, da qualidade dos óocitos. Sendo assim, a manutenção dos teores sanguíneos de selênio, verificadas neste estudo com a suplementação de 30 mg de selênio/ kg de sal mineral, pode ter contribuído para melhorar o crescimento, a maturação e a competência dos oócitos. Fatores, destacados por Pavlok et al. (2005) e Perry (2007), que observaram, em bovinos, melhor competência dos oócitos obtidos dos folículos com mais de 2 mm de diâmetro, pois os obtidos de folículos com diâmetro inferior não foram capazes de sobreviverem além do estágio de clivagem de oito células.

Desta maneira, é possível que a formação de maior quantidade de glutathione peroxidase, relacionada ao tamanho do folículo (Wittwer et al., 2002) possa ter favorecido a foliculogênese dos animais alimentados com 30 mg de selênio/ kg de sal mineral, resultando em maior quantidade de embriões viáveis de grau um, em relação aos animais suplementados com 90 mg de selênio/ kg de sal mineral.

De acordo com Luberda (2005), a síntese intracelular de glutathione é parte crítica da maturação citoplasmática do oócito, sendo a concentração de glutathione de oócitos maturados *in vitro* pouco diferente entre os mamíferos. Porém, o autor destacou que a concentração de glutathione dos oócitos maturados *in vivo* são maiores que os maturados *in vitro*, visto que os maturados *in vitro* são expostos ao maior ataque dos oxigênios redundantes. Portanto, é possível que a suplementação de 90 mg de selênio/ kg de sal mineral possa proporcionar melhores resultados, se o presente estudo se referisse a produção de oócitos e, posterior, produção de embriões *in vitro*.

## **Conclusão**

Conclui-se, para caprinos, que a ingestão de 25 g de sal mineralizado contendo 30 mg de selênio/ kg de sal mineral é suficiente para produção de embriões com boa qualidade.

## REFERÊNCIAS

ARTHUR, J. R.; NICOL, F.; BECKETT, G. J. Hepatic idothyronine 5'-deiodinase: The role of selenium. *Bioch. J.*, Bucksburn, Aberdeen, U. K., v. 272, p. 537-540, 1990.

ARTHUR, J. R. The biochemical functions of selenium relationships to thyroid metabolism and antioxidant systems. In: ROWETT RESEARCH INSTITUTE ANNUAL REPORT, p. 11-20. 1993. Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen, UK.

BARBOSA, F. A.; SOUZA, G. M. Influência dos principais microminerais em bovinos. 2005. <http://www.rhagro.com.br/leite>>. Disponível em: 04/05/2005.

BOLAND, M. P. Trace minerals in production and reproduction in dairy cows. *Adv. Dairy Tech.*, Dublin, Ireland, v. 15, p.319-330. 2003.

CEBALLOS, A. et al. Actividad de glutatión peroxidase en bovinos lecheros a pastoreo correlacionada con la concentración sanguínea y plasmática de selenio. *Pesq. Agrop. Brasil., Valdivia, Peru*, v. 34, n. 12, p.2331-2338, 1999.

CUE, R. I. Cross-over designs. 2004 Disponível em: <<http://animsci.agrenv.mcgill.ca/servers/anbreed/statisticsII/crossovr/index.html>>. Acesso em: 29 set. 2006.

EPPIG, J. J. Coordination of nuclear and cytoplasmic oocyte maturation in uterariau mamals. *Reprod., Fert. Develop.*, New York, v.8. n.4, p.485 – 489, 1996.

GUSMÃO, A. L., Transferência de embriões em pequenos ruminantes. *O Embrião*, Jaboticabal, SP, v. 25, p.6-9, 2005.

GUSMÃO, A. L. Transferência de embriões em ovelhas pela via transcervical. In.: SIMPÓSIO PARANAENSE DE OVINOCULTURA, 11, 2005. Maringá. Universidade Estadual de Maringá, Ovinopar, Ovinomar, SEAB, 2005. p.117 – 124.

GUSMÃO, A. L. et al. Colheita transcervical de embriões em ovinos da raça santa inês no semi-árido nordestino. *Rer. Brasil. Saúde e Prod. Anim., UFBA, Bahia*, v. 8, n. 1, p. 01 – 10, 2007.

HURLEY, W. L.; DOANE, R. M. Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. *J. of Dairy Sci., Illinois* v. 27, n. 3, p. 784-804, 1989.

IETS – International Embryo Transfer Society. Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões. 3 ed.. Sovay, Illinois: International Embryo Transfer Society, Inc. 1998., 180 p. Traduzida de: International Embryo Transfer Society, 1998.

KHALED, N. F.; ILLEK, J. Influence of dietary supplementation of selenium-enriched yeast on selenium status of dairy goats. In: CONGRESS ON MACRO END TRACE

ELEMENTS, 19<sup>th</sup>. 1999. Friedrich-Schiller University, Jena, Germany, Dec. 3-4, 1999. p. 244-251.

KRISHER, R.L; BAVISTAR, B. D. Responses of oocytes and embryos to the culture environment. *Theriogenology*, v. 49, p. 103-114, 1998.

LUBERDA, Z. The role of glutathione in mammalian gametes. *Reprod. Biol.*, Olsztyn, Poland, v. 5, n. 1, p. 5 – 17, 2005.

McDOWELL, L. R. *Minerals in animal and human nutrition*. San Diego, California, USA: Academic Press, Inc. 1992.

NRC – National Research Council, Subcommittee on Selenium. *Selenium nutrition*. Washington, DC.: National Academic Press. 1983.

OBLITAS, F. et al. Efecto de la suplementación con selênio sobre la actividad sanguínea de glutatión peroxidase (GSH-Px) y ganancia de peso em bovinos selenio deficientes mantenidos a pastoreo. *Arch. Med. Vet.*, Valdivia, Peru, v. 32, n. 1, p. 1-11, 2000.

OLSON, O.E. et al.. Modification of the official fluorimetric method for selenium in plants. *J. Assoc. Off. Analyt. Chem.*, New York, v.58, p.117-121, 1975.

OMS - Organização Mundial da Saúde. *Elementos traço na nutrição e saúde humana*. São Paulo: Editora Roca; 1998.

ORTOLANI, E. L. Macro e microelementos. In. SPINOS, H. S.; GÓRNIAK, S. L.; BERNARDI, M. M. (CD). *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 648 – 649, 2002.

PASCHOAL, D. M.; GRADELA, A. Produção *in vitro* de embriões bovinos: revisão de literatura. *Rev. CFMV*, Brasília, ano 13, n. 41, p.20-28, 2007.

PAVLOK, A. et al, Fertilization and developmental competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicles. *Mol. Reprod. and Dev.*, v. 31, n. 1, p. 63-67, 2005.

PERRY, G. A. Effect of follicle size on fertility in cattle. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, Brookings, SD, v. 2, n. 14, p. 1-9, 2007.

PIPER, L. R. et al. The effect of selenium treatment on the fertility of Merino Sheep. In. PROCEEDING AUSTRALIAN SOCIETY ANIMAL PRODUCTION, v. 13. p. 241 – 244, 1980.

PRDhealth. Selenium. 2005. Disponível em.<[http://www.pdrhealth.com/drug\\_info/nmdrugprofiles/nutsupdrugs/sel\\_sel\\_0232.shtm](http://www.pdrhealth.com/drug_info/nmdrugprofiles/nutsupdrugs/sel_sel_0232.shtm)>. 8 p. Acesso em: 26/12/2007.

RODRIGUEZ, C. et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J. of Pineal Res.*, v. 36, p. 1-9, 2004.

SANDHOLM, M. Biological and clinical aspects of selenium. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PRODUCTION DISEASE IN FARM ANIMALS, 4. München, Germany. *Anal.*... 1980, p. 247-253.

SANTIAGO, C. B. Estudo do efeito da emulsão de selênio-tocoferol na fecundidade de vacas de corte no Rio Grande do Sul, Brasil. *A H. Vet., Porto Alegre*, v. 6, n. 32 (Julho), p. 13-15, 1986.

SAS INSTITUTE In. *SAS/STAT software: changes and enhancements, release 6.07*. Cary, NC: SAS Institute Inc. 1992. ch. 16, p. 287 - 366. (SAS Technical Report P-229).

SCHWARTZ, K.; FOLTZ, C. M. Selenium as an integral part of factor against dietary necrotic liver degeneration. *J. of the Am. Chem. Soc.*, v. 79, p. 3292-3293, 1957.

STRYER, L. *Bioquímica*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.1000p.

UHM, S.J. et al. Embryo development: Selenium improves the developmental ability and reduces the apoptosis in porcine parthenotes. *Mol. Reprod. and Dev., South Korea*, v. 74, n. 11, p. 1386-1394. 2007.

VanNIEKERK, F. E. et al. The effect of selenium supplementation during the early post-mating period on embryonic survival in sheep. *J. of the South African Vet. Assoc.*, v. 67, n. 4, p. 209-213, 1996.

WITTEWER, F. et al. Actividad de glutatión peroxidase (GSH-Px) en sangre de bovinos a pastoreo de la IX región, Chile y su relación con la concentración de selênio en el forraje. *Arch. Méd. Vet., Valdivia, Peru*, v. 34, n. 1, p.1-10, 2002.

### **III CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Em função dos resultados obtidos, talvez mereça atenção o fato de que as cabras encontravam-se em lactação, sendo ordenhadas duas vezes ao dia, fator que pode ter interferido nos resultados, pois o esperado seria que o nível mais elevado de selênio proporcionasse resultados melhores.