UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

FERNANDA ALVES DE PAIVA

Avaliação de fontes de selênio para ovinos

Pirassununga

2006

FERNANDA ALVES DE PAIVA

Avaliação de fontes de selênio para ovinos

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Marcus Antonio Zanetti

Pirassununga

2006

Aos meus pais, Khallil e Wanda, que com todo amor do mundo tornaram muito mais suaves e felizes todos os passos que dei na vida. A vocês todo meu amor, respeito e eternos agradecimentos.

“De que valeria cada conquista senão pelo sorriso em seus rostos”

DEDICO

**Aos meus irmãos Felipe e Thiago, meus maiores amigos, por
todo amor e incentivo.**

*“Não importa quando e em que circunstâncias, olhem para o lado, que eu
estarei sempre lá”*

OFEREÇO

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela bolsa e auxílio concedidos, fundamentais na realização deste projeto de pesquisa;

Ao Prof. Dr. Marcus Antonio Zanetti, pela orientação e determinação;

Ao Prof. Dr. João Alberto Negrão, pela amizade, confiança e conhecimentos transmitidos ao longo desses anos;

Ao Prof. Dr. César Gonçalves de Lima, pela amizade e todo auxílio na análise estatística dos dados deste trabalho;

A todos os professores de Zootecnia da FZEA, pela disponibilidade, dedicação e amizade, em especial aos professores Edison Schalch e Valdo Rodrigues Herling;

A todos os funcionários da PCAPS pelo apoio, disposição, pelo truque e futebol, enfim, por terem ajudado a tornar mais fácil e proveitosa minha vida neste campus, que considero minha casa, e vocês, parte da minha família. Em especial a Fernando Schalch e aos funcionários do Matadouro, Elétrica, Hidráulica, Marcenaria, Serralheria, Pintura, Fistulados, Gado de Leite e Fábrica de Ração, também pelo auxílio na realização deste experimento;

Aos funcionários da Administração da PCAPS e da FZEA por todo apoio e atenção, em especial: Nilson Chagas, Sílvia Ketelutti e Fernando Araújo;

Aos amigos da Secretaria de Pós-Graduação, em especial: Wagner Garrido dos Santos e Maria Conceição Roldão;

Aos técnicos de laboratório Cunha, Rose, Rosilda, Raphael, Ana Mônica, Mirele e Silvana pela ajuda nas análises laboratoriais e aos professores Catarina A. Gomide, Marcelo de C. César, Mariza P. de Melo, Paulo Sobral e Albino Luchiari por terem cedido seus laboratórios para realização de minhas análises e/ou material para uso no experimento;

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia Animal: Kátia Iseki, Sandra Oliveira, Marco Aurélio Porcionato, Thiago Delgado, Juliana Sá, Maíra Zaros, Márcia Santana e China, pelos ótimos anos de convivência;

A Francisco Rodrigo Martins, amigo e bolsista de iniciação científica, que me ajudou em todas as fases deste trabalho. E também, a Gustavo Del Claro, Lisia Correa,

Rodrigo Meirelles, Alessandra F. Rosa, Guilherme Palhares, Carlos Vion Júnior, Gustavo Onodi, Fernando Schalch Júnior, Sílvia Rossi, Nádia Okamoto e Thiago Morimoto pela ajuda na parte experimental;

A Arlindo Saran Netto, grande amigo, profissional competente, com quem durante todos esses anos troquei conhecimentos e apoio, meus mais sinceros agradecimentos;

Às minhas mais que amigas: Fernanda Al-behy André, Márcia M. da Silva, Andrezza Fernandes, Lisia Correa e Camila Pereira, por participarem de tudo e por tornarem mais divertidos e sossegados os meus dias...

A todos os meus amigos da graduação e da pós-graduação, que durante esses anos estiveram comigo no bandeirão, nas festas, nos esportes e afins, em especial: Thiago Delgado, Ivan Formigoni, Antonio Bandeira, Klever Vendrame e Luiz Henrique O. Silva;

A vó Nena e vô Manoel (*in memorian*), vó Maria, tia Antônia, tio Oswaldo, tia Cleide, tio Luiz, Juliana, Gustavo, Cibeli, Ana e todos os outros familiares, por todo amor e torcida;

À família Al-behy André por ter me recebido e acolhido como se eu fosse parte dela. Pessoas adoráveis, pelas quais tenho grande amor e gratidão;

Ao professor Luiz Margutti Neto, por quem tenho muito respeito e carinho, por incentivar a prática esportiva e a integração entre os alunos, além de passar experiências de vida e palavras de sabedoria;

Às minhas cachorras lindas: Vida, Bandida e Mel, pela alegria de todos os dias!!;

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho;

E a Deus, pela vida, que é linda e é agora!

RESUMO

PAIVA, F. A. **Avaliação de fontes de selênio para ovinos**. 2006. 74 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

O experimento foi conduzido na FZEA/USP com objetivo de comparar a utilização de fontes orgânicas de selênio (Se) com o selenito de sódio na dieta de cordeiros, pela análise da concentração de Se nos tecidos, da atividade da enzima glutathione peroxidase no fígado, do balanço metabólico e do cálculo da biodisponibilidade. Foram utilizados 40 cordeiros Suffolk, os quais foram submetidos a três fontes e três níveis de Se suplementar por 84 dias. Os tratamentos foram: tratamento 1: sem suplementação; tratamentos 2, 3 e 4: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio; tratamentos 5, 6 e 7: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de Se-levedura; tratamentos 8, 9 e 10: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de Se-metionina. Foram colhidas amostras de sangue para dosagem sérica de Se e ao final do experimento, os animais foram abatidos para colheita de amostras de fígado, músculo e rim, para determinação dos teores de Se e da atividade da glutathione peroxidase (fígado). Nos últimos cinco dias de experimento foi realizado um balanço metabólico de Se. A biodisponibilidade foi calculada através da técnica “slope ratio”, utilizando como parâmetros a concentração de selênio no fígado, músculo, rim e a atividade da glutathione peroxidase. Não houve efeito da fonte de Se utilizada na ingestão, absorção aparente e retenção de Se, atividade da glutathione peroxidase e nas concentrações de selênio no fígado, rim e soro; porém, as concentrações de selênio no músculo foram maiores nos animais suplementados com fontes orgânicas do que nos outros animais ($P < 0,0001$). A biodisponibilidade de Se no músculo foi maior quando foram utilizadas fontes orgânicas de selênio. O uso de fontes orgânicas de Se promove maior acúmulo de Se no músculo de cordeiros e promoveria maior ingestão de Se por consumidores de carne ovina.

Palavras-chave: biodisponibilidade, glutathione peroxidase, minerais orgânicos, ruminantes, selênio-metionina, selênio-levedura

ABSTRACT

PAIVA, F. A. **Evaluation of selenium sources to ovines**. 2006. 74 p. PhD.Thesis – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

This research was carried out at FZEA/USP to compare the utilization of organic selenium (Se) sources to sodium selenite in lambs' diet, through analyses of tissues Se concentrations, liver glutathione peroxidase activity, metabolic balance of Se and bioavailability assay. Forty Suffolk lambs were used and submitted to three sources and three levels of supplementary Se for 84 days. Treatments were: treatment 1: no supplement; treatments 2, 3 and 4: 0.2, 0.8 and 1.4 mg/kg of supplementary sodium selenite-selenium; treatments 5, 6 and 7: 0.2, 0.8 and 1.4 mg/kg of supplementary selenoyeast-selenium; treatments 8, 9 and 10: 0.2, 0.8 and 1.4 mg/kg of supplementary selenomethionine-selenium. Blood samples were taken to Se serum dosage and in the end of the experiment the animals were killed and samples of liver, muscle and kidney were taken to Se concentrations dosage and glutathione peroxidase activity (liver). In the last five days of the experiment, a Se metabolic balance was realized. Bioavailability was calculated by "Slope Ration Assay", using liver, muscle and kidney Se concentrations and glutathione peroxidase activity as parameters. Se sources did not affect Se intake, apparent absorption and retention, glutathione peroxidase activity and Se concentrations in liver, kidney and serum; however, selenium concentrations in muscle of animals supplied with organic sources were higher than in other animals ($P < 0.0001$). Se bioavailability in muscle was higher when organic Se sources were used. Using organic Se sources provides higher accumulation of Se in lambs' muscle which would provide higher Se intake to consumers of sheep meat.

Key-words: bioavailability, glutathione peroxidase, organic minerals, ruminants, selenomethionine, selenoyeast

1. INTRODUÇÃO

O selênio é um mineral essencial na alimentação animal, e exerce suas funções biológicas quando é incorporado às proteínas, formando as selenoproteínas, das quais a glutathione peroxidase é uma das mais importantes. Esta enzima possui quatro átomos de selênio e é responsável pela redução de hidroperóxidos nas células, plasma e trato gastrintestinal, ocupando um papel central na proteção celular contra o ataque de radicais livres.

O selênio proveniente de fontes orgânicas é absorvido por meio de transporte de aminoácidos e pode ser incorporado diretamente às proteínas corporais, ficando estocado no organismo, diminuindo sua excreção e a contaminação do meio-ambiente. Já o selênio proveniente do selenito de sódio não pode ser incorporado diretamente à proteína muscular, sendo que após formar reserva no fígado, o excesso absorvido e não utilizado na síntese de selenoproteínas, será excretado.

Dessa forma, o oferecimento de fontes orgânicas de selênio a animais destinados à produção de carne poderia promover maior consumo de selênio pelo homem, cuja dieta é deficiente nesse mineral em diversas regiões do nosso país. Considerando o papel anti-oxidante primordial do selênio, poder-se-ia prevenir, entre outras coisas, o envelhecimento e o desenvolvimento de câncer.

Embora o assunto seja de grande importância e os ruminantes sejam potenciais fornecedores de proteína animal para o homem, poucos estudos sobre o metabolismo de fontes de selênio foram realizados nestes animais, além de haver uma série de resultados controversos.

Neste contexto, tornam-se necessários mais estudos que avaliem fontes orgânicas de selênio para ruminantes, considerando seu metabolismo, biodisponibilidade, distribuição no organismo e absorção, buscando mensurar seus benefícios para que, posteriormente, se possa analisar se é viável sua utilização em substituição ao selenito de sódio (fonte de selênio mais usada na suplementação animal).

2. OBJETIVO

Comparar a utilização de fontes orgânicas de selênio (selênio-levedura e selênio-metionina) com o selenito de sódio em dietas de cordeiros, com base na análise da concentração de selênio no soro, fígado, rim e músculo, da atividade da enzima glutathione peroxidase no fígado, do balanço metabólico e do cálculo da biodisponibilidade pela técnica “slope ratio”.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local e Período

O experimento foi conduzido nas dependências da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, no Campus de Pirassununga-SP, por um período de 98 dias (14 dias de adaptação e 84 dias de experimento).

4.2 Animais

Foram utilizados quarenta cordeiros da raça Suffolk, desmamados, castrados, com idade inicial de aproximadamente 90 dias e peso inicial de $19,8 \pm 2,1$ kg.

4.3 Instalações

Os animais foram alojados em gaiolas instaladas em galpão coberto (Figuras 1 e 2), e foram distribuídos em blocos ao acaso, em função do peso vivo, nos seguintes tratamentos:

Tratamento 1 : Dieta Basal (sem suplementação)

Tratamento 2: 0,2 mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio;

Tratamento 3: 0,8 mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio;

Tratamento 4: 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio;

Tratamento 5: 0,2 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura;

Tratamento 6: 0,8 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura;

Tratamento 7: 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura;

Tratamento 8: 0,2 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina;

Tratamento 9: 0,8 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina;

Tratamento 10: 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina.

Os níveis suplementares foram determinados com base nas recomendações do NRC para ovinos (1985), que preconiza 0,2 mg/kg de Se/dia como nível recomendado e 2,0 mg/kg de Se/dia como nível tóxico. Dessa forma, foram

escolhidos intervalos semelhantes entre os níveis dos tratamentos (0,6 mg/kg), de modo que os mesmos não fossem deficientes e nem tóxicos.

Figura 1: Galpão experimental e disposição das gaiolas.

Figura 2: Vista frontal das gaiolas com os animais experimentais.

4.4 Procedimento experimental

Os animais passaram por um período de adaptação de 14 dias, sendo alimentados com dieta basal, para se habituarem às instalações e à alimentação. Durante este período, o consumo foi ajustado para que houvesse pouca sobra, de modo que o total fornecido da dieta correspondeu a 4,5% do peso do animal em matéria seca.

Durante todo período experimental os animais receberam água *ad libitum*, e ração total formulada segundo as recomendações do NRC (1985), duas vezes ao dia. Vale ressaltar que a ração utilizada no experimento foi preparada periodicamente, de acordo com a capacidade do misturador da Fábrica de Ração da Prefeitura do Campus de Pirassununga/USP (250kg/vez), sendo que os animais de todos os tratamentos receberam sempre ração da mesma amostragem.

O sal mineral usado na composição da dieta basal foi formulado exclusivamente para o experimento, sem a adição de fonte de selênio. Com exceção do tratamento no qual não havia suplementação de selênio, as fontes de selênio testadas foram pesadas em balança de precisão, para fornecerem o nível suplementar desejado para cada dia experimental, com base na pesagem individual e quinzenal dos animais. Como a quantidade pesada era pequena, as fontes foram misturadas ao fubá de milho imediatamente após a pesagem, ainda no laboratório, para evitar perdas até a utilização.

Diariamente, esta mistura era adicionada e homogeneizada ao restante da ração daquele dia, para cada animal experimental.

A tabela 1 mostra a composição percentual da ração usada e a tabela 2 mostra a análise bromatológica da ração utilizada em cada tratamento.

Tabela 1 – Composição percentual da ração experimental (em matéria original) sem considerar a adição das fontes de selênio testadas.

Ingrediente	%
Milho moído	54,70
Soja extrusada	18,00
Casca de algodão	25,00
Calcário	1,30
Mistura vitamínica-mineral	1,00

Tabela 2 – Resultado da análise bromatológica das rações fornecidas aos cordeiros nos diferentes tratamentos.

Trat.	%MS	%PB	%FB	%EE	%MM	%ENN	%FDA	%FDN	Se (mg/kg)
1	90,39	17,65	10,66	6,43	3,94	56,51	20,72	26,72	0,050
2	91,02	17,79	11,25	8,26	4,24	58,46	19,91	25,59	0,202
3	90,44	16,93	15,86	7,53	5,36	54,32	27,81	31,65	0,800
4	91,10	19,01	11,28	7,84	3,81	58,06	20,67	25,60	1,460
5	90,59	17,87	14,76	6,93	5,03	55,41	22,77	30,15	0,205
6	90,72	16,70	15,27	7,22	4,79	56,02	22,75	29,47	0,810
7	90,42	16,93	11,41	7,55	4,35	59,76	20,71	28,92	1,417
8	91,00	15,88	15,31	6,88	5,41	57,02	26,78	31,82	0,208
9	90,43	16,83	14,92	6,85	5,61	55,79	26,07	32,11	0,797
10	90,58	17,96	13,75	7,26	4,73	56,30	21,66	30,53	1,398

Onde: Trat. 1: sem suplementação; Trat. 2, 3 e 4: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio, respectivamente; Trat. 5, 6 e 7: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura, respectivamente; Trat. 8, 9 e 10: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina, respectivamente. MS: Matéria Seca (105°C); PB: Proteína Bruta; FB: Fibra Bruta; EE: Extrato Etéreo; MM: Matéria Mineral; ENN: Extrativo Não-Nitrogenado; FDA: Fibra em Detergente Ácido; FDN: Fibra em detergente Neutro; Se: Selênio.

No início do experimento e a cada 28 dias os animais foram pesados e submetidos a colheitas de sangue para dosagem sérica de selênio (Figura 3). As amostras de sangue foram colhidas em tubos do tipo *vacutainer*, por punção na veia jugular e, após coagulação, o soro foi retirado e congelado até posterior análise.

Figura 3: Colheita de sangue de um animal experimental.

4.5 Balanço metabólico

Durante os últimos cinco dias do período experimental foi realizado um balanço metabólico de selênio, com amostragem diária de 10% do alimento fornecido, das sobras, da urina e das fezes (Figuras 4, 5 e 6).

As fezes foram colhidas com auxílio de bolsas forradas com material plástico, que foram amarradas aos animais, de modo que as fezes ficassem retidas em seu interior, sendo retiradas através da abertura de um zíper. Com isso, a urina descia sem contaminação das fezes para os baldes colocados na parte posterior das gaiolas.

Para a pesagem das fezes foi utilizada uma balança eletrônica, e para a medida do volume de urina foi usada uma proveta.

Os parâmetros avaliados foram: quantidade de selênio ingerido (mg/dia), quantidade de selênio excretado nas fezes e na urina (mg/dia), absorção e retenção

aparentes de selênio (mg/dia) e porcentagem de selênio absorvido e retido em função do selênio ingerido (%). Os cálculos utilizados para a determinação destes parâmetros foram:

- Se ingerido (mg/dia) = Concentração de selênio no alimento fornecido (mg/kg) x quantidade de alimento ingerido (kg/dia);
- Se excretado nas fezes (mg/dia) = Concentração de selênio nas fezes (mg/kg) x quantidade de fezes excretada (kg/dia);
- Se excretado na urina (mg/dia) = Concentração de selênio na urina (mg/kg) x quantidade de urina excretada (kg/dia);
- Absorção aparente de Se (mg/dia) = Se ingerido (mg/dia) – Se excretado nas fezes (mg/dia);
- Porcentagem de Se absorvido = (Se absorvido x 100)/ Se ingerido;
- Porcentagem de Se excretado nas fezes = 100 – Porcentagem de Se absorvido;
- Retenção aparente de Se (mg/dia) = Se absorvido – Se excretado na urina;
- Porcentagem de Se retido = (Se retido x 100)/ Se ingerido.

Figuras 4 e 5: Animal experimental usando uma bolsa de colheita de fezes e medida da quantidade de urina eliminada por um dos animais durante um dia do balanço metabólico.

Figura 6: Colheita de fezes durante balanço metabólico de selênio.

4.6 Abate e colheita de tecidos

Ao final do experimento, os animais foram atordoados por pistola de ar comprimido e abatidos por exaustão sangüínea, quando foram colhidas amostras de fígado, do músculo esternocleidomastóide e o rim direito, para determinação dos teores de selênio (Figuras 7, 8, 9 e 10). Para a preservação da atividade da enzima glutathiona peroxidase e sua posterior determinação, a amostra de fígado retirada foi imediatamente congelada em nitrogênio líquido (-196°C).

Figuras 7 e 8: Sangria e desfolia de um animal experimental no Abatedouro Escola da Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga – USP.

Figura 9: Fígado de um dos animais experimentais com o pedaço que foi amostrado.

Figura 10: Carcaças na câmara de resfriamento.

4.7 Análises laboratoriais

A ração foi analisada para determinação da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra bruta, matéria mineral, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido (AOAC, 1990). As análises de selênio no soro, músculo, fígado, rim, fezes, urina e ração foram realizadas após a digestão úmida nítrico-perclórico e leitura fluorimétrica (Olson, Palmer e Carry, 1975).

A atividade da glutathione peroxidase foi determinada no fígado dos cordeiros segundo metodologia de Paglia e Valentine (1967).

4.8 Cálculo da biodisponibilidade

A biodisponibilidade foi calculada através de análises de “slope ratio” (Littell, Lewis e Henry, 1995), utilizando como parâmetros a concentração de selênio no

fígado, músculo, rim e a atividade da enzima glutathiona peroxidase. O selenito de sódio foi considerado a fonte de selênio padrão (100% de biodisponibilidade).

4.9 Análise estatística

Os dados de concentrações de selênio no músculo, fígado e rim, atividade da enzima glutathiona peroxidase, quantidade de selênio ingerido e excretado nas fezes e na urina, absorção aparente, retenção de selênio e porcentagem de excreção, absorção e retenção de selênio foram obtidos de um delineamento em blocos casualizados, com 4 repetições, e tratamentos em um esquema fatorial 3 x 3 + controle (3 fontes: selenito de sódio; selênio-levedura e selênio-metionina; 3 níveis suplementares: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se/dia e uma dieta basal). As análises desses dados foram realizadas através do PROC GLM do SAS (SAS, 2000), sendo que no modelo foram considerados os efeitos de bloco e tratamento (fonte, níveis e interação fonte x nível). No caso de interação entre os fatores, as médias das fontes foram comparadas para cada um dos seus níveis, através do Teste de Tukey ($\alpha=0,05$). Adicionalmente, realizou-se um estudo de regressão para avaliar o comportamento médio das respostas em função dos níveis, para cada uma das fontes. As pressuposições do modelo foram verificadas utilizando-se o programa SAS/LAB.

Para os dados de concentrações de selênio no soro foi utilizado um delineamento experimental em blocos casualizados, com 4 repetições, o mesmo esquema fatorial para os tratamentos, com quatro medidas repetidas no tempo (0, 28, 56 e 84 dias de suplementação). As análises foram realizadas através do PROC MIXED do SAS (SAS, 2000), sendo que no modelo foram considerados os efeitos de bloco e tratamento (fonte, níveis e interação fonte x nível), além do efeito de dias de suplementação e sua interação com tratamento. Foram realizados procedimentos complementares similares aos do caso anterior, para o estudo da interação entre os tratamentos e os dias de suplementação.

Os dados referentes à biodisponibilidade das fontes testadas foram analisados utilizando-se o PROC GLM do SAS (SAS, 2000), seguindo a metodologia de “slope ratio”, descrita por Littell, Lewis e Henry (1995).

5. RESULTADOS

5.1 Ingestão de matéria seca e peso vivo

Na tabela 3 estão apresentados o peso vivo (PV) dos animais ao final dos 84 dias de experimento e a ingestão de matéria seca média dos animais (IMS). Não houve diferença entre os tratamentos nos referidos parâmetros analisados.

Tabela 3 – Médias e erros padrões do peso vivo (kg) dos animais ao final do experimento e da ingestão de matéria seca diária (kg) de cordeiros suplementados com diferentes níveis e fontes de selênio.

Trat.	PV (kg)	IMS (kg)
1	37,00 $\pm$ 3,05	1,309 $\pm$ 0,04
2	37,75 $\pm$ 2,75	1,373 $\pm$ 0,16
3	39,17 $\pm$ 3,24	1,359 $\pm$ 0,16
4	38,88 $\pm$ 3,60	1,361 $\pm$ 0,11
5	39,38 $\pm$ 3,63	1,350 $\pm$ 0,14
6	38,38 $\pm$ 1,83	1,300 $\pm$ 0,04
7	39,50 $\pm$ 3,42	1,337 $\pm$ 0,12
8	38,50 $\pm$ 4,90	1,286 $\pm$ 0,20
9	38,25 $\pm$ 1,98	1,300 $\pm$ 0,07
10	39,50 $\pm$ 3,75	1,342 $\pm$ 0,09

Onde: Trat. 1: sem suplementação; Trat. 2, 3 e 4: 0,2; 0,8 e 1,4mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio, respectivamente; Trat. 5, 6 e 7: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura, respectivamente; Trat. 8, 9 e 10: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina, respectivamente. Médias com letras diferentes nas colunas diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

5.2 Atividade da enzima Glutationa Peroxidase (GSH-Px)

Não houve efeito significativo de nenhuma das fontes de variação na atividade da enzima GSH-Px no fígado dos cordeiros.

As figuras 11 a 13 mostram a atividade da enzima glutathione peroxidase no fígado dos cordeiros em função dos tratamentos, da fonte utilizada e dos níveis suplementares.

Figura 11: Atividade da enzima glutathione peroxidase (nmol de NADPH oxidado/min/mg de proteína) no fígado de cordeiros suplementados com diferentes níveis e fontes de selênio, onde Trat. 1: sem suplementação; Trat. 2, 3 e 4: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio, respectivamente; Trat. 5, 6 e 7: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura, respectivamente; Trat. 8, 9 e 10: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina, respectivamente.

Figura 12: Atividade da enzima glutatona peroxidase (nmol de NADPH oxidado/min/mg de proteína) no fígado de cordeiros suplementados com diferentes fontes de selênio.

Figura 13: Atividade da enzima glutatona peroxidase (nmol de NADPH oxidado/min/mg de proteína) no fígado de cordeiros suplementados com diferentes concentrações de selênio.

A atividade da glutathiona peroxidase no fígado dos cordeiros não foi alterada pelos tratamentos possivelmente porque todos os níveis suplementares estavam iguais ou acima dos níveis recomendados pelo NRC (1985), 0,2 mg/kg/dia, permitindo que a formação e atividade da enzima fossem semelhantes entre os tratamentos, uma vez que a ingestão continuada de selênio em excesso não resulta em aumentos adicionais na atividade da GSH-Px (Stowe e Herdt, 1992). Van Ryssen et al. (1989) suplementaram ovelhas com 1,0 mg/kg Se/dia por 112 dias, usando farelo de trigo de alto selênio e selenito de sódio com fontes, e também não encontraram diferenças na atividade da enzima GSH-Px no fígado dos animais.

Da mesma forma, trabalhos com ratos (Whanger e Butler, 1988; Lane et al., 1979) mostraram maior quantidade de selênio nos tecidos de animais suplementados com selênio-metionina do que naqueles que receberam selenito de sódio, sem, no entanto, haver alguma diferença na atividade da glutathiona peroxidase.

As diferenças na atividade da GSH-Px não foram observadas nem mesmo nos animais não-suplementados talvez porque o nível de selênio na dieta basal (0,05 mg/kg) foi suficiente para proporcionar atividade adequada da enzima durante o período experimental, uma vez que os mecanismos de defesa contra radicais livres devem ser priorizados em situação de baixo suprimento do mineral (Surgi, 2006). Além disso, como os animais mostravam-se aparentemente adaptados às gaiolas experimentais (permitiam contato humano facilmente, tiveram poucas e isoladas tentativas de fuga das gaiolas, a ingestão de alimentos e o ganho de peso foram constantes ao longo do período experimental), provavelmente não demandavam por maior atividade da enzima para combater uma maior formação de radicais livres causada por uma situação de estresse.

Além disso, essas diferenças não foram observadas pelo fato do período experimental ter sido curto (84 dias). Se tivesse sido mais longo (mais que 150 dias), provavelmente a atividade da enzima GSH-Px teria sido prejudicada nos animais não suplementados. Isso porque o selênio é incorporado às células vermelhas no momento da eritropoiese (Herdt, Rumbelha e Braselton, 2000), e como nos carneiros o tempo de vida médio das células vermelhas é de aproximadamente 150 dias (Duncan e Prasse, 1986), provavelmente, durante o período experimental, o selênio proveniente da morte dos eritrócitos favoreceu a manutenção de

concentrações de selênio no soro dos cordeiros mínimas para uma adequada atividade de enzima.

5.3 Concentração de selênio no soro

Não foi observado efeito das fontes de selênio nas concentrações séricas do mineral, porém, houve efeito dos tratamentos e dos níveis do elemento na dieta ($P < 0,0001$).

Os animais que receberam 1,4 mg/kg de selênio/dia nas fontes orgânicas (tratamentos 7 e 10) apresentaram concentrações séricas de selênio maiores do que os animais suplementados com 0,2 mg/kg de selênio/ dia em qualquer uma das fontes (tratamentos 2, 5 e 8) e daqueles não suplementados (tratamento 1) ($P < 0,0001$).

Quanto aos níveis suplementares, os cordeiros suplementados com 1,4 mg/kg de selênio apresentaram maiores concentrações de selênio no soro do que aqueles suplementados com 0,2 mg/kg ou não suplementados. E ainda, os cordeiros suplementados com 0,8 mg/kg tiveram maiores valores de selênio sérico do que os animais não suplementados.

As figuras 14 a 17 mostram as concentrações de selênio no soro dos cordeiros em função dos tratamentos, da fonte utilizada e dos níveis suplementares. As figuras 18 e 19 mostram as concentrações de selênio no soro dos cordeiros suplementados com diferentes fontes e níveis de selênio em função dos dias de suplementação.

Figura 14: Concentração de selênio (mg/kg) no soro de cordeiros suplementados com diferentes níveis e fontes de selênio no último dia experimental, onde Trat. 1: sem suplementação; Trat. 2, 3 e 4: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio, respectivamente; Trat. 5, 6 e 7: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura, respectivamente; Trat. 8, 9 e 10: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina, respectivamente. Médias com letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 15: Concentração de selênio (mg/kg) no soro de cordeiros suplementados com diferentes fontes de selênio no último dia experimental. Médias com letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 16: Concentração de selênio (mg/kg) no soro de cordeiros suplementados com diferentes concentrações de selênio no último dia experimental. Médias com letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 17: Concentração de selênio (mg/kg) no soro de cordeiros suplementados com diferentes fontes de selênio em função dos níveis suplementares.

Figura 18: Concentração de selênio (mg/kg) no soro de cordeiros suplementados com diferentes fontes de selênio em função dos dias de suplementação.

Figura 19: Concentração de selênio (mg/kg) no soro de cordeiros suplementados com diferentes concentrações de selênio em função dos dias de suplementação.

Como a análise da concentração de selênio no soro sanguíneo é um sensível indicador da ingestão recente de selênio pelo animal (Herdt, Rumbelha e Braselton, 2000), pode-se observar que em todos os tratamentos a suplementação com 1,4 mg/kg de Se/dia proporcionou maiores concentrações de selênio no soro do que a suplementação com 0,2 mg/kg/dia e a não-suplementação, que foram semelhantes entre si. Observa-se ainda, que já aos 28 dias de experimento, as concentrações de selênio no soro dos animais suplementados foram maiores do que aquelas observadas no início do experimento, porém não houve diferença entre as fontes utilizadas. Zanetti, Lucci e Meirelles (1984) suplementaram vacas leiteiras no final da gestação com 2,0 ou 4,0 mg de Se/dia e observaram que após 40 dias de suplementação a concentração sérica do mineral havia aumentado significativamente.

Segundo van Metre e Callan (2001), a concentração adequada de selênio no soro de cordeiros varia entre 0,08 e 0,12 mg/kg. Desta forma, apenas os animais suplementados apresentaram concentrações de selênio no soro superiores a 0,08 mg/kg, sendo que os animais que receberam 0,8 ou 1,4 mg/kg Se/dia apresentaram concentrações séricas de selênio superiores a 0,12 mg/kg.

5.4 Concentração de selênio no fígado

Não foram observadas diferenças entre as fontes de selênio utilizadas nas concentrações de selênio no fígado dos animais, porém, houve efeito do tratamento e dos níveis suplementares ($P < 0,05$), sendo que as maiores concentrações de selênio foram mensuradas no fígado dos cordeiros suplementados com 1,4 mg/kg de Se/dia, seguidas pelos valores observados nos animais suplementados com 0,8 mg/kg. Os menores valores foram encontrados nos animais suplementados com 0,2 mg/kg de Se/dia, não sendo diferentes daqueles mensurados nos cordeiros não suplementados.

As figuras 20 a 22 mostram as concentrações de selênio no fígado dos cordeiros em função dos tratamentos, da fonte utilizada e dos níveis suplementares.

Figura 20: Concentração de selênio (mg/kg) no fígado de cordeiros suplementados com diferentes níveis e fontes de selênio, onde Trat. 1: sem suplementação; Trat. 2, 3 e 4: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio, respectivamente; Trat. 5, 6 e 7: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura, respectivamente; Trat. 8, 9 e 10: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina, respectivamente. Médias com letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 21: Concentração de selênio (mg/kg) no fígado de cordeiros suplementados com diferentes fontes de selênio. Médias com letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 22: Concentração de selênio (mg/kg) no fígado de cordeiros suplementados com diferentes concentrações de selênio. Médias com letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Segundo Ullrey (1987) e Valk e Horstra (2000), a concentração de selênio no fígado também fornece uma indicação acurada da ingestão recente de selênio pelos animais domésticos. Dessa forma, pode-se observar que a suplementação com 1,4 mg/kg de Se/dia proporcionou as maiores concentrações de selênio no fígado dos cordeiros, seguidas pela suplementação de 0,8 mg/kg/dia, e depois por 0,2 mg/kg/dia e a não-suplementação, que não foram diferentes entre si.

Segundo Kaneko (1989), concentrações adequadas de selênio no fígado de carneiros variam de 0,25 a 1,5 mg/kg, sendo que valores entre 2,0 e 10,0 mg/kg são considerados altos, e maiores que 15 mg/kg, tóxicos. Mais recentemente, van Metre e Callan (2001) consideraram valores entre 1,0 e 2,5 mg/kg de selênio como adequados para cordeiros. De qualquer forma, as concentrações de selênio no fígado de todos os animais experimentais variaram entre 2,65 e 8,43 mg/kg, considerados altos, porém não tóxicos aos animais. Isso provavelmente porque os níveis suplementares não ultrapassaram 2,0 mg/kg/dia, considerado tóxico segundo o NRC (1985).

Não houve efeito das fontes de selênio utilizadas nas concentrações de selênio no fígado dos carneiros, discordando de Van Ryssen et al. (1989), que encontraram maiores valores de selênio no fígado de ovelhas suplementadas com 1,0 mg/kg Se/dia com farelo de trigo rico em selênio (fonte orgânica) comparados aos valores encontrados em ovelhas suplementadas com os selenito de sódio.

Segundo os autores, o maior acúmulo de selênio no fígado dos animais que receberam selênio de fonte orgânica ocorreu em função da maior conversão de selênio advindo do selenito de sódio a formas insolúveis pelos microrganismos do rúmen, sendo, desta forma, excretado. Como no presente estudo a absorção aparente, a excreção e a retenção de selênio não diferiram entre as fontes testadas (resultados apresentados posteriormente), as concentrações de selênio no fígado dos animais também não seriam alteradas pelas diferentes fontes utilizadas no experimento. Deve ser ressaltado também, que a fonte e o nível suplementar no referido trabalho foram diferentes dos utilizados no presente estudo.

5.5 Concentração de selênio no rim

Nenhuma das fontes de variação causou efeitos na concentração de selênio no rim dos cordeiros.

As figuras 23 a 25 mostram as concentrações de selênio no rim direito dos cordeiros em função dos tratamentos, da fonte utilizada e dos níveis suplementares.

Figura 23: Concentração de selênio (mg/kg) no rim direito de cordeiros suplementados com diferentes níveis e fontes de selênio, onde Trat. 1: sem suplementação; Trat. 2, 3 e 4: 0,2; 0,8 e 1,4mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio, respectivamente; Trat. 5, 6 e 7: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura, respectivamente; Trat. 8, 9 e 10: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina, respectivamente.

Figura 24: Concentração de selênio (mg/kg) no rim direito de cordeiros suplementados com diferentes fontes de selênio.

Figura 25: Concentração de selênio (mg/kg) no rim direito de cordeiros suplementados com diferentes concentrações de selênio.

No experimento realizado por van Ryssen et al. (1989), ovelhas foram suplementadas com 1,0 mg/kg de selênio como selenito de sódio ou como farelo de trigo rico em selênio, e, assim como no presente estudo, não foram encontradas diferenças nas concentrações de selênio nos rins dos animais. A falta de resposta à suplementação de selênio nos rins também foi observada por Parsons et al. (1985) com suínos jovens, porém nenhuma explicação foi dada pelos autores. Considerando que a fonte utilizada nos referidos trabalhos (farelo de trigo) foi diferente da fonte utilizada no presente estudo, e ainda, que um dos objetivos deste estudo foi avaliar diferenças na absorção, retenção e metabolismo do selênio de diferentes fontes, a análise de selênio nos rins se fez necessária e mostrou que diferentemente do fígado, os rins não respondem à suplementação de selênio com as fontes e níveis utilizados neste experimento.

5.6 Concentração de selênio no músculo esternoclidomastóide

Houve efeito dos tratamentos, da fonte utilizada, dos níveis suplementares de selênio e da interação fonte*nível na concentração de selênio no músculo dos cordeiros ($P<0,0001$).

As maiores concentrações de selênio foram mensuradas no músculo dos cordeiros que receberam 1,4 mg/kg de Se suplementar na fonte selênio-levedura (tratamento 7). Depois, por aqueles que receberam 0,8 mg/kg na mesma fonte (tratamento 6) e 1,4 e 0,8 mg/kg na fonte selênio-metionina (tratamentos 10 e 9) ($P<0,001$). Os menores valores foram encontrados nos animais não-suplementados (tratamento 1), nos suplementados com selenito de sódio (tratamentos 2, 3 e 4) e naqueles que ingeriram 0,2 mg/kg de Se nas fontes orgânicas (tratamentos 2, 5, e 8) ($P<0,001$).

As figuras 26 a 29 mostram as concentrações de selênio no músculo dos cordeiros em função dos tratamentos, da fonte utilizada e dos níveis suplementares.

Figura 26: Concentração de selênio (mg/kg) no músculo de cordeiros suplementados com diferentes níveis e fontes de selênio, onde Trat. 1: sem suplementação; Trat. 2, 3 e 4: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio, respectivamente; Trat. 5, 6 e 7: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura, respectivamente; Trat. 8, 9 e 10: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina, respectivamente. Médias com letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 27: Concentração de selênio (mg/kg) no músculo de cordeiros suplementados com diferentes fontes de selênio. Médias com letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 28: Concentração de selênio (mg/kg) no músculo de cordeiros suplementados com diferentes concentrações de selênio. Médias com letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 29: Concentração de selênio (mg/kg) no músculo de cordeiros suplementados com diferentes fontes de selênio em função dos níveis suplementares.

Pode-se observar que as fontes orgânicas proporcionaram maiores teores de selênio no músculo dos cordeiros do que a fonte iorgânica ($P < 0,0001$), resultados semelhantes àqueles encontrados em bovinos (Lawler et al, 2004), ovinos (Ehlig et al., 1967; van Ryssen et al., 1989; Taylor, 2005), ratos (Cary et al., 1973; Beilstein e

Whanger 1986; Mansin e Weaver, 1986; Whanger e Butler, 1988; Lane et al., 1979) e galinhas (Miller et al., 1972)

Isto porque a selênio-metionina, além de ser utilizada na formação de selenocisteína, também pode ser incorporada diretamente ao tecido muscular (Levander, 1986), pois uma parte significativa de selênio-metionina escapa da hidrólise no rúmen e é absorvida no intestino (Koenig et al., 1997), e incorporada a proteínas do músculo e de outros órgãos (Pavlata, Illek e Pechová, 2001). Já o selênio proveniente do selenito de sódio não pode ser incorporado diretamente à proteína muscular (Hildebrand, 1992) e o excesso de selênio inorgânico absorvido e não utilizado na síntese de selenoproteínas é excretado (Itoh e Suzuki, 1997).

Pode-se observar ainda, que os animais suplementados com 1,4 mg/kg Se/dia tiveram maior retenção muscular de selênio do que os outros animais, sendo que os menores valores de selênio foram mensurados no músculo dos animais não suplementados ou suplementados com 0,2 mg/kg Se/dia. Estes resultados são similares aos encontrados por Taylor (2005), que suplementou cordeiros com 0,2 mg/kg e 2,9 mg/kg de Se/dia com selênio orgânico e observou maiores concentrações de selênio no músculo dos animais suplementados com o maior nível de selênio.

As concentrações de selênio no músculo dos cordeiros suplementados com 1,4 mg/kg/dia com a fonte Selênio-levedura foram maiores do que aquelas observadas nos animais que receberam o mesmo nível suplementar na fonte Selênio-metionina. Possivelmente, isto aconteceu porque o uso da selênio-metionina para formação de compostos protéicos depende da necessidade de metionina, e como a fonte Selênio-levedura, além de selênio-metionina, pode ter selênio-cisteína, o selênio pode ser depositado também em função da demanda por cisteína, aumentando sua chance de ser utilizado na formação das proteínas.

Vale ressaltar que o uso de fontes orgânicas de selênio na suplementação mineral de cordeiros proporcionaria uma maior ingestão de selênio por consumidores da carne ovina, o que seria importante, pois segundo Maihara et al. (2004), a ingestão diária de selênio entre jovens universitários e idosos do Estado de São Paulo está abaixo de valores de requerimento. Consequentemente, algumas das funções biológicas do selênio no organismo humano poderiam estar sendo prejudicadas ou minimizadas (parâmetros não avaliados no referido trabalho). Além disso, diversos autores encontraram correlação negativa entre concentrações de

selênio no sangue de humanos e incidência de câncer (Schrauzer, White e Schneider, 1977; Yu et al., 1985; Clark, Cantor e Allaway, 1991) Desta forma, se os níveis de selênio da dieta humana fossem aumentados, as concentrações de selênio no sangue aumentariam e a incidência de câncer poderia diminuir, fato este de grande importância para a saúde pública.

5.7 Balanço Metabólico de Selênio

Nas tabelas 4 e 5 estão apresentados os resultados do balanço metabólico de selênio.

Tabela 4 - Quantidade de selênio ingerido (mg/dia), quantidade de selênio excretado nas fezes (mg/dia), absorção aparente de selênio (mg/dia) e porcentagem de selênio absorvido e excretado nas fezes em função do selênio ingerido (%) de cordeiros suplementados com diferentes níveis e fontes de selênio.

Trat.	Se ingerido (mg/dia)	Se fezes (mg/dia)	Absorção aparente (mg/dia)	% Se absorvido
1	0,07 ± 0,00 ^C	0,02 ± 0,00 ^C	0,05 ± 0,00 ^C	69,46 ± 3,02 ^B
2	0,25 ± 0,03 ^C	0,07 ± 0,03 ^{BC}	0,18 ± 0,05 ^C	73,48 ± 16,2 ^{AB}
3	0,99 ± 0,13 ^B	0,19 ± 0,05 ^{AB}	0,80 ± 0,14 ^B	80,00 ± 6,50 ^{AB}
4	1,99 ± 0,16 ^A	0,29 ± 0,02 ^A	1,70 ± 0,13 ^A	85,46 ± 0,84 ^{AB}
5	0,28 ± 0,03 ^C	0,07 ± 0,02 ^{BC}	0,20 ± 0,03 ^C	73,23 ± 6,48 ^{AB}
6	1,04 ± 0,04 ^B	0,21 ± 0,02 ^{AB}	0,83 ± 0,04 ^B	80,04 ± 2,19 ^{AB}
7	1,99 ± 0,18 ^A	0,22 ± 0,03 ^A	1,76 ± 0,19 ^A	88,14 ± 2,61 ^{AB}
8	0,24 ± 0,04 ^C	0,07 ± 0,02 ^{BC}	0,16 ± 0,02 ^C	70,17 ± 4,21 ^B
9	1,03 ± 0,05 ^B	0,16 ± 0,02 ^{AB}	0,87 ± 0,06 ^B	84,06 ± 2,53 ^{AB}
10	1,68 ± 0,20 ^A	0,16 ± 0,04 ^{AB}	1,53 ± 0,19 ^a	90,49 ± 2,61 ^A

Tabela 5 - Quantidade de selênio excretado na urina (mg/dia), retenção aparente de selênio (mg/dia) e porcentagem de selênio retido em função do selênio ingerido (%) de cordeiros suplementados com diferentes níveis e fontes de selênio.

Trat.	Se urina (mg)	Se retido (mg)	% Se retido
1	0,01 ± 0,00 ^C	0,03 ± 0,00 ^D	52,42 ± 5,59
2	0,04 ± 0,02 ^{CD}	0,20 ± 0,02 ^{CD}	80,79 ± 7,52
3	0,20 ± 0,03 ^B	0,60 ± 0,11 ^C	60,65 ± 7,91
4	0,37 ± 0,04 ^A	1,33 ± 0,16 ^A	66,25 ± 3,34
5	0,05 ± 0,01 ^{CD}	0,15 ± 0,02 ^{CD}	53,23 ± 4,87
6	0,21 ± 0,01 ^B	0,62 ± 0,06 ^{BC}	59,68 ± 3,87
7	0,24 ± 0,05 ^{AB}	1,46 ± 0,24 ^A	75,73 ± 4,24
8	0,05 ± 0,01 ^{CD}	0,11 ± 0,01 ^{CD}	50,32 ± 5,42
9	0,15 ± 0,04 ^{BC}	0,72 ± 0,08 ^{BC}	69,32 ± 4,69
10	0,29 ± 0,03 ^{AB}	1,23 ± 0,25 ^{AB}	74,79 ± 12,95

Onde: Trat. 1: sem suplementação; Trat. 2, 3 e 4: 0,2; 0,8 e 1,4mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio, respectivamente; Trat. 5, 6 e 7: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura, respectivamente; Trat. 8, 9 e 10: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina, respectivamente. Médias com letras diferentes nas colunas diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Não houve efeito da fonte de selênio utilizada na ingestão, absorção aparente, quantidade de selênio retida e excreção de selênio dos cordeiros, porém houve efeito do tratamento e do nível suplementar ($P < 0,0001$). Já a porcentagem de selênio retido, não foi influenciada nem mesmo pelos tratamentos e pelos níveis suplementares.

Estes resultados discordam daqueles encontrados por outros autores que também compararam fontes de selênio para ruminantes. Em carneiros, Peter et al. (1982) observaram maior absorção e retenção de selênio de uma dieta com selênio-metionina do que de uma dieta com selenito de sódio. Ehlig et al. (1967) também trabalharam com carneiros e observaram que a excreção urinária de selênio também

foi maior quando o selenito de sódio foi usado como suplemento da dieta em comparação ao selênio-metionina, embora a absorção tenha sido a mesma para ambas as fontes.

Por outro lado, Koenig et al. (1997), trabalhando com carneiros recebendo dietas com 0,27 a 0,38 mg/kg de selênio, após a injeção simultânea dos isótopos (^{82}Se)-selenito e (^{77}Se)-levedura, observaram maior excreção urinária e fecal de selênio orgânico, e maior retenção de selênio inorgânico. Zanetti e Pettinati (1989) também observaram aumento na absorção e retenção de selênio quando este foi oferecido 70% na forma orgânica (farelo de trigo) e 30 % na forma inorgânica (selenito de sódio), do que quando foi oferecido 100% na forma orgânica.

O fato das fontes utilizadas no presente estudo não terem influenciado a absorção e a retenção de selênio pelos cordeiros deixa clara a necessidade de mais estudos que avaliem a absorção de selênio de fontes orgânicas e inorgânicas em ruminantes com diferentes níveis e uso de radioisótopos. Desta forma, além da absorção e retenção, poderiam ser determinadas as rotas traçadas pelo mineral proveniente das diferentes fontes, onde será estocado e quando será excretado.

Uma outra hipótese a ser testada seria a pesagem dos órgãos no momento do abate, antes da colheita de amostra para dosagem de selênio. Talvez, se as concentrações de selênio determinadas nas amostras de fígado e rim fossem convertidas à quantidade de selênio no órgão (mg), poder-se-ia atrelar esses valores aos dados referentes ao balanço metabólico, e melhorar os conhecimentos sobre retenção e estocagem do mineral no organismo, considerando possíveis diferenças individuais no tamanho dos órgãos. Porém, como nesse experimento o peso dos animais não foi diferente entre os tratamentos, provavelmente os pesos dos órgãos eram semelhantes.

A figura 30 mostra a absorção aparente de selênio pelos cordeiros nos diferentes tratamentos.

Os animais suplementados com 1,4 mg/kg de selênio (tratamentos 4, 7 e 10) absorveram maior quantidade de selênio do que os outros animais. Os menores valores foram observados nos animais não suplementados (tratamento 1) e naqueles que receberam 0,2 mg/kg de selênio suplementar (tratamentos 2, 5 e 8).

Figura 30: Absorção aparente de selênio (mg/dia) em cordeiros suplementados com diferentes níveis e fontes de selênio, onde Trat. 1: sem suplementação; Trat. 2, 3 e 4: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio, respectivamente; Trat. 5, 6 e 7: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura, respectivamente; Trat. 8, 9 e 10: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina, respectivamente. Médias com letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

A figura 31 mostra a porcentagem de selênio absorvido pelos cordeiros dos diferentes tratamentos.

Os animais suplementados com 1,4 mg/kg de selênio na fonte selênio-metionina (tratamento 10) apresentaram maior porcentagem de absorção do mineral do que os animais não suplementados e aqueles suplementados com 0,2 mg/kg de selênio na mesma fonte (tratamentos 1 e 8).

Figura 31: Porcentagem de selênio absorvido por cordeiros suplementados com diferentes níveis e fontes de selênio, onde Trat. 1: sem suplementação; Trat. 2, 3 e 4: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio, respectivamente; Trat. 5, 6 e 7: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura, respectivamente; Trat. 8, 9 e 10: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina, respectivamente. Médias com letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

As figuras 32 a 34 mostram a quantidade de selênio retido pelos cordeiros em função dos tratamentos, das fontes e dos níveis suplementares. Os animais suplementados com 1,4 mg/kg de Se/dia (tratamentos 4, 7 e 10) tiveram maior retenção de selênio que os cordeiros não suplementados (tratamento 1), os suplementados com 0,2 mg/kg de Se/dia (tratamentos 2, 5 e 8) e aqueles suplementados com 0,8 mg/kg de Se/dia na fonte selenito de sódio (tratamento 3) ($P < 0,0001$).

Quanto ao efeito dos níveis suplementares, a retenção de selênio foi maior quanto maior o nível suplementar ($P < 0,0001$), não havendo diferença entre o menor nível e o tratamento controle. Este fato é interessante, pois mostra que mesmo utilizando nível próximo daquele considerado tóxico (1,4 mg Se/kg MS nos tratamentos 4, 7 e 10), os animais ainda continuam retendo selênio. Esta característica pode explicar por que a relação entre essencialidade e toxidez é muito estreita para o selênio.

Figura 32: Quantidade de selênio retido (mg/dia) em cordeiros suplementados com diferentes níveis e fontes de selênio, onde Trat. 1: sem suplementação; Trat. 2, 3 e 4: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio, respectivamente; Trat. 5, 6 e 7: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura, respectivamente; Trat. 8, 9 e 10: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina, respectivamente. Médias com letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 33: Quantidade de selênio retido (mg/dia) em cordeiros suplementados com diferentes concentrações de selênio. Médias com letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 34: Quantidade de selênio retido (mg/dia) em cordeiros suplementados com diferentes fontes de selênio em função dos níveis suplementares.

A figura 35 mostra a porcentagem de selênio retido pelos cordeiros em função dos tratamentos.

Figura 35: Porcentagem de selênio retido por cordeiros suplementados com diferentes níveis e fontes de selênio, onde Trat. 1: sem suplementação; Trat. 2, 3 e 4: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selenito de sódio, respectivamente; Trat. 5, 6 e 7: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-levedura, respectivamente; Trat. 8, 9 e 10: 0,2; 0,8 e 1,4 mg/kg de Se suplementar na forma de selênio-metionina, respectivamente.

5.8 Cálculo da biodisponibilidade

Na tabela 6 estão apresentados os valores de biodisponibilidade das fontes de selênio utilizadas no experimento (em porcentagem), considerando o selenito de sódio como fonte padrão (100% de biodisponibilidade) e utilizando diferentes parâmetros.

Tabela 6 - Valores de biodisponibilidade relativa de fontes de selênio testadas em carneiros (Selênio-levedura e Selênio-metionina), em relação à fonte padrão (Selenito de sódio), considerando como parâmetros as concentrações de selênio no músculo, fígado e rim.

Fonte	Selenito de sódio (%)	Selênio- levedura (%)	Selênio- metionina (%)
Parâmetro	RBV	RBV	RBV
Concentração de Se no músculo	100	1323	997
Concentração de Se no fígado	100	98	100
Concentração de Se no rim	100	207	302

RBV: Valor de biodisponibilidade relativo à fonte padrão

Pode ser observado que dependendo do parâmetro- resposta usado para a determinação da biodisponibilidade de fontes de selênio, os resultados variaram. Quando foi usada a concentração de selênio no músculo, ficou muito clara a diferença entre a biodisponibilidade de selênio proveniente de fontes orgânicas e inorgânicas (1323% e 997% de biodisponibilidade em relação ao selenito de sódio para a selênio-levedura e a selênio-metionina, respectivamente), além da diferença entre as duas fontes orgânicas. Como foi discutido anteriormente, o selênio proveniente de fontes orgânicas pode ser incorporado à proteína muscular, diferentemente do selênio proveniente do selenito de sódio. E a diferença observada entre as fontes orgânicas provavelmente reflete diferenças na composição das mesmas.

Quando a concentração de selênio no fígado foi utilizada nos cálculos, não houve diferença entre as fontes. E mesmo não tendo havido diferença na concentração de selênio no rim dos animais, quando a utilizamos como parâmetro-resposta, foi possível detectar diferenças na biodisponibilidade das fontes.

Neste estudo, os dados referentes à atividades da enzima glutathione peroxidase no fígado não se adequou à metodologia utilizada (Littell, Lewis e Henry, 1995) para a estimativa da biodisponibilidade das fontes de selênio testadas, provavelmente em decorrência dos níveis suplementares utilizados no experimento, já discutido anteriormente.

7. CONCLUSÃO

As fontes orgânicas de selênio, nos níveis utilizados neste experimento, promovem respostas semelhantes ao selenito de sódio quando observados os resultados da concentração de selênio no soro, fígado e rim, da atividade da glutathione peroxidase no fígado e do balanço metabólico de selênio, porém, promovem maiores concentrações de selênio no músculo dos animais, aumentando, conseqüentemente, a concentração de selênio na carne de cordeiros.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, A. R.; WHANGER, P. D.; MILLER, L. T. Bioavailability to rats of selenium in various tuna and wheat products. **Journal of Nutrition**, v.113, p.196, 1983.

ALFARO, E.; NEATHERY, M. W.; MILLER, W.J.; GENTRY, R.P.; CROWE, C.T.; FIELDING, A.S.; ETHERIDGE, R.E.; PUGH, D.G.; BLACKMON, D.M. Effects of varying the amounts of dietary calcium on selenium metabolism in dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.831, 1987.

ALLTECH (EUA) **Sel-Plex Organic Selenium: Redefining Selenium - Supplementation for Dairy and Beef Cattle**, 2001.

AMMERMAN, C. B. Methods for estimation of mineral bioavailability. In: "Bioavailability of nutrients for animals - amino acids, minerals and vitamins" (AMMERMAN, C.B.; BAKER, D. H.; LEWIS, A. J.) p.83-94, 1995.

AROVA, K. B.; GRESAKOVA, L.; FAIX, S.; LEVKUT, M.; LENG, L. Urinary selenium excretion in selenite-loaded sheep and subsequent Se dynamics in blood constituents. **Reprod. Nutr. Dev.**, v.43, p.385-393, 2003.

ASPILA, P. Metabolism of selenite, selenomethionine and feeds-incorporated selenium in lactating and cows. **Journal of Agriculture Science of Finland**, v.9, p.63-74, 1991.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**, 15. ed. Arlington: AOAC, 1990, 1298 p.

BEILSTEIN, M. A.; WHANGER, P. D. Deposition of dietary organic and inorganic selenium in rat erythrocyte proteins. **Journal of Nutrition**, v.116, p.1701, 1986a.

BEILSTEIN, M. A.; WHANGER, P. D. Chemical forms of selenium in rat tissues after administration of selenite or selenomethionine. **Journal of Nutrition**, v.116, p.1711, 1986b.

BENGOUMI, M.; ESSAMADI, A.K.; TRESSO, J.C.; CHACORNAC, J.P.; FAYE, B. Comparative effects of selenium supplementation on the plasma selenium concentration and erythrocyte glutathione peroxidase activity in cattle and camels. **Journal of Animal Science**, v.67, p.461-466, 1998.

CARY, E. E.; ALLAWAY, W. H.; MILLER, M. Utilization of different forms of dietary selenium. **Journal of Animal Science**, v.36, p.285, 1973.

CHANSLER, M. W.; MUTANEAU, M.; MORRIS, V. C.; LEVANDER, O. A. Nutritional bioavailability to rats of selenium in Brazil nuts and mashrooms. **Nutr. Res.**, v.6, p.1419, 1986.

CLARK, L. C.; CANTOR, K.; ALLAWAY, W. H. Selenium in forage crops and cancer mortality in US counties. **Archives of Environmental Health**, v.46, p.37-42, 1991.

COMBS, G.F.; COMBS, S.B. The role of selenium in nutrition. **Academic Press Inc.** Orlando, 532p., 1986.

CONRAD, H. D.; MOXON, A. L. Transfer of dietary selenium to milk. **Journal of Dairy Science**, v.62, p. 404-411, 1979.

COUSIN, F. B.; CAIRNEY, I. M. Some aspects of selenium metabolism in sheeps. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.12, p.927-942, 1961.

DOUGLASS, J. S.; MORRIS, V. C.; SOARES, J. H.; LEVANDER, O. A. Nutritional availability to rats of selenium in tuna. beef kidney and wheat. **Journal of Nutrition**, v.111, p.2180, 1981.

DUNCAN, J.R.; PRASSE, K. W. **Veterinary Laboratory Medicine**, ed. 2, Ame. IA, Iowa State University Press, p.6, 1986.

ECHEVARRIA, M.G.; HENRY, P.R.; AMMERMAN, C.B; RAO, P. V. Effects of time and dietary selenium concentration as sodium selenite on tissue selenium uptake by sheep. **Journal of Animal Science**, v.66, p.2299-2305, 1988.

EHLIG, C. F. et al. Fate of selenium from selenite or selenomethionine. with or without vitamin E in lambs. **Journal of Nutrition**, v. 92, p.121-126, 1967.

FETTMAN, M. J. Comparative aspects of glutathione metabolism affecting individual susceptibility to oxidant injury. **Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.**, v.13, p.1079-1091, 1991.

FISHER, D. D.; SAXTON, S. W.; ELLIOT, R. D.; BEATTY, J.H. Effects of selenium source on Se status of lactating cows. **Veterinary Clinical Nutrition**. V.2, p.68-74, 1995.

GABRIELSEN, B. O.; OPSTVEDT, J. A biological assay for determination of availability of selenium for restoring blood plasma glutathione peroxidase activity in selenium-depleted chicks. **Journal of Nutrition**, v.110, p.1089, 1980a.

GABRIELSEN, B. O.; OPSTVEDT, J. Availability of selenium in fish meal in comparison with soybean meal. corn gluten meal and selenomethionine relative to selenium in sodium selenite for restoring glutathione peroxidase activity in selenium-depleted chicks. **Journal of Nutrition**, v.110, p.1096, 1980b.

GERLOFF, B. J. Effect of selenium supplementation on dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 70, p.3934-3940, 1992.

GOEHRING, T.B.; PALMER, I.S.; OLSON, O.E.; LIBAL, G.W.; WAHLSTROM, R.C. Effects of seleniferous grains and inorganic selenium on tissue and blood composition and growth performance of rats and swine. **Journal of Animal Science**, v.59, p.725-732, 1984.

GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. **Free Radicals Research Community**, v. 19, p.598-620, 1993.

HAKKARAINEN, J. Bioavailability of selenium. **Norw J. Agric. Sci. Suppl.**, v.11, p. 21-35, 1993.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**, Claredon Press, Oxford, p. 543, 1991.

HALVERSON, A.W; MONTY, K.J. An effect of dietary sulfate on selenium poisoning in the rat. **Journal of Nutrition**, v.70, p.100-102, 1962.

HENRY, P.R.; ECHEVARRIA, M.G.; AMMERMAN, C.B.; RAO, P.V. Estimation of the relative biological availability of inorganic selenium source for ruminants using tissue uptake of selenium. **Journal of Animal Science**, v.66, p.2306-2312, 1988.

HERDT, T.H.; RUMBEIHA, W.; BRASELTON, W. E. The use of blood analyses to evaluate mineral status in livestock. **Vet. Clin North Am Food Anim Pract**, v.16, p. 423-444, 2000.

HERMINGWAY, R. G. The influences of dietary intakes and supplementation with selenium and vitamin e on reproduction diseases and reproductive efficiency in cattle and sheep. **Veterinary Research Communications**, v.27, p.159-174, 2003.

HIDIROGLOU, M.; HEANEY, D. P.; JENKINS, K. J. Metabolism of inorganic selenium in rumen bacteria. **Can. J. Physiol. Pharmacol**, v.46, p.229, 1962.

HILDENBRAND, A. **Monograph: sodium selenite**. Federal Ministry of Health. German Federal Recorder, 1992.

HOLBEN, D. H. The diverse role of selenium within selenoproteins: A review. **J. Am. Diet Assoc.**, v.99, p.836-843, 1999.

ITOH, M.; SUZUKI, K. T. Effects of dose on the methylation of selenium to monomethylselenol and trimethylselenonium ion in rats. **Arch Toxicol.**, v.71, p.461-827, 1997.

IVANCIC Jr, J.; WEISS, W. P. Effect of dietary sulfur and selenium concentrations on selenium balance of lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.225-232, 2001.

JOHANSSON, E.; JACOBSSON, S. O.; LUTHMAN, J.; LINDH, U. The biological response of selenium in individual erythrocytes and GSH-Px in lambs fed sodium selenite or selenium yeast. **J. Vet. Med**, v.37, p.463, 1990.

KANEKO, J. J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, Academic Press, San Diego, 1989.

KOENIG, K. M.; RODE, L. M.; COHEN, R. D. H.; BUCKLEY, W. T. Effects of diet and Chemical form of selenium on selenium metabolism in sheep. **Journal of Animal Science**, v.75, p. 817-827, 1997.

KELLY, M. P.; POWER, R. F. Fractionation and identification of the major selenium compounds in selenized yeast. **Journal of Dairy Science**, v.78 (Supp. 1), p.237, 1995.

LANDGLANDS, J. P.; DONALD, G. E.; BOWLES, J. E.; SMITH, A. J. Selenium supplements for grazing sheep. 1. A comparison between soluble salts and other forms of supplement **Anim. Feed Sci. Technol.**, v.28, p.1-14, 1990.

LAWLER, T. L.; TAYLOR, J. B.; FINELY, J. W.; CATON, J. S. Effect of supranutritional and organically bound selenium on performance, carcass characteristics and selenium distribution in finishing beef steers **Journal of Animal Science**, v.82, p.1488-1493, 2004.

LEVANDER, O. A. Selenium. In: **Trace Elements in Human and Animal Nutrition**, ed. 5, v.2, Academic Press, Inc. Harcourt Bracc Jovanovich Orlando-FL, p.209-279, 1986.

LITTELL, R. C.; LEWIS, A. J.; HENRY, P. R. Statistical evaluation of bioavailability assays. In: "Bioavailability of nutrients for animals - amino acids, minerals and vitamins" (AMMERMAN, C.B.; BAKER, D. H.; LEWIS, A. J.) p.5-33, 1995.

LUCCI, C.S.; MOXON, A.L.; ZANETTI, M.A.; FRANZOLIN NETO, R.; MARCOMINI, D.G. Selênio em bovinos leiteiros do estado de São Paulo. II. Níveis de selênio nas forragens e concentrados. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Universidade de São Paulo, v.21, n.1, p.71-76, 1984a.

LUCCI, C.S.; MOXON, A.L.; ZANETTI, M.A.; FUKUSHIMA, R.S.; SCHALCH, E.; PETTINATI, R.L. Selênio em bovinos leiteiros do estado de São Paulo. I. Níveis de selênio em soros sanguíneos. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Universidade de São Paulo, v.21, n.1, p.65-70, 1984b.

LUCCI, C.S.; ZANETTI, M.A.; SCHALCH, E.; PETTINATI, R.L.; FRANZOLIN NETO, R.; OSTRONOFFI, S.; CAMPO, D.M.; SILVA, A.G.; ANDRADE, A.M.L. Suplementação de selênio para bovinos leiteiros. **Anais da XXII Reunião anual da SBZ**, Camboriú-SC, 1985.

LUCCI, C.S.; SCHALCH, E.; ZANETTI, M.A.; PETTINATI, R.L.; OSTRONOFFI, S. Selênio em bovinos de leite em Itirapina. estado de São Paulo. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.22, n.6, p.653-656, 1987.

MAIHARA, V. A.; GONZAGA, I. B.; SILVA, V. L.; FÁVARO, D. I. T.; VASCONCELLOS, M. B. A.; COZZOLINO, S. M. F. Daily dietary selenium intake of selected Brazilian population groups. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 259, n. 3 p.465-468, 2004.

MANNERVIK, B. Methods in Enzymology: Glutathione peroxidase; **Academic Press**, New York, v.113, p. 490, 1985.

MANSON, A. C.; WEAVER, C. M. Metabolism in rats of selenium from intrinsically and extrinsically labeled isolated soy protein. **Journal of Nutrition**, v.116, p.1883, 1986

MAYLAND, H. F. Selenium in soils and plants. **Proceeding of the Symposium on Selenium-Responsive Diseases in Food Animals**, Western States Veterinary Conference, Las Vegas, p. 5-10, 1985.

McDOWELL, L.R. **Minerals for Grazing Ruminants in Tropical Regions**, ed.3, University of Florida, Gainesville- FL, 1997.

MILLER, D.; SOARES, J. H.; BAUERSFELD, P.; CUPPETT, S. L. Comparative selenium retention by chicks fed sodium selenite. Selenomethionine, fish meal and fish solubles. **Poultry Science**, v.51, p.1669, 1972.

MOKSNES, K.; NORHEIM, G. Selenium and glutathione peroxidase levels in lambs receiving feed supplemented with sodium selenite or selenomethionine. **Acta Vet. Scand**, v.24, p.45, 1983.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL Nutrient requirements of sheep. **National Academy Press**, Washington, 1985.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL Selenium in Nutrition **National Academy Press.**, Washington, 174p., 1983.

OLDFIELD, J. E. Observations on the efficacy of various forms of selenium in livestock: A review. **Biomedical and Environmental Sciences**, v.10, p.280-291, 1997.

OLSON, O. E.; PALMER, I.S.; CARY, E.E. Modification of the official fluorimetric method for selenium in plants. **J. Assoc. Off. Agric. Chem.**, v.58, n.1, p.117-121, 1975.

OMAYE, S. T.;TAPPEL, C. Effect of dietary selenium on glutathione peroxidase in the chick. **Journal of Nutrition**, v.104, p.747, 1974.

OVERNES, G.; MOKSNES, K.; OKLAND, E. M.; FROSLIE, A. The efficacy of hay from selenized soil as a source of selenium in ruminant nutrition. **Acta Agric. Scand.**, v.36, p.332, 1986.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. **J. Lab. Clin. Med.** v.70, p.158-169, 1967.

PARSONS, M.J.; KU, P.K.; ULLREY, D.E.; STOWE, H.D.; WHETTER, P.A.; MILLER, E.R. Effects of riboflavin supplementation and selenium source on selenium metabolism in the young pig. **Journal of Animal Science**, v.60, p.451, 1985.

PAVLATA, I.; ILLEK, J.; PECHOVÁ, A. Blood and tissue selenium concentration in calves treated with inorganic or organic selenium compounds – a comparison. **Acta Vet. Brno.**, v.70, p.19-26, 2001.

PEHRSON, B.; KNUTSSON, M.; GYLLENSWARD, M. Glutathione peroxidase activity in heifers fed diets supplemented with organic and inorganic selenium compounds. **Swedish Journal of Agricultural Research**, v.19, p.53-56, 1989.

PETER, D. W.; WHANGER, P. D.; LINDSAY, J. P.; BUSCALL, D. J. Excretion of selenium, zinc and copper by sheep receiving continuous intraruminal infusions of selenite or selenomethionine. **Proc. Nutr. Soc. Aust**, v. 7, p.178, 1982.

PETERSON, P. J.; SPEDDING, D. J. The excretion by sheep of ⁷⁵selenium incorporated into red clover: the chemical nature of the excreted selenium and its uptake by three plant species. **N. Z. J. Agric. Res.**, v.6, p.13-23, 1963.

PEZÓN, B.; KNUTSSON, M.; GYLLENSWARD, M. Glutathione peroxidase activity in heifers fed diets supplemented with organic and inorganic selenium compounds. **Swed. J. Agric. Res.**, v.19, p.53-56, 1989.

PODOLL, K. L.; BERNARD, J. B.; ULLREY, D. E.; DEBAR, S. R.; KU, P. K.; MAGEE, W. Dietary selenate versus selenite for cattle, sheep and horses. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1965-1970, 1992.

RAISBECK, M. F. Selenosis. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v16, p.465-480, 2000.

ROOKE, J. A.; ROBINSON, J.J.; ARTHUR, J. R. Effects of vitamin E and selenium on the performance and immune status of ewes and lambs. **Journal of Agric. Sci.**, v.142, p.253-262, 2004.

ROVER Jr, L.; HOEHR, N. F.; VELLASCO, ^a P.; KUBOTA, L. T. Sistema Antioxidante Envolvendo o Ciclo Metabólico da Glutathione Associado a Métodos Eletroanalíticos na Avaliação do Estresse Oxidativo. **Quim. Nova**, v.24, n.1, p.112-119, 2001.

ROTRUCK, J.T.; POPE, J.A. L.; GANTHER, H.E.; SWANSON, A.B.; HAFEMAN, D.G.; HOEKSTRA, W.G. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. **Science**, v.179, p.588-590, 1973.

SAS Institute Inc. 2000 SAS Stat Guide, Version 8.2 Edition. Cary. NC: **SAS Institute Inc.**, 2000.

SCHRAUZER, G. N. Selenomethionine: A Review of Its Nutritional Significance. Metabolism and Toxicity **Journal of Nutrition**, v.130, p.1653-1656, 2000.

SCHRAUZER, G. N.; WHITE, D. A.; SCHNEIDER, C. J. Cancer mortality correlation studies – III: statistical associations with dietary selenium intakes. **Bioinorganic Chemistry**, v.7, p.23-31, 1977.

SPEARS, J. W. Trace Mineral Bioavailability in Ruminants. **American Society for Nutritional Sciences**, 2003.

STOWE, H. D.; HERDT, T. H. Clinical assessment of selenium status of livestock. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3928-3933, 1992.

SUNDE, R..A.; HOEKSTRA, W. G. Incorporation of selenium from selenite into selenocysteine into glutathione peroxidase in the isolated perfused rat liver. **Biochem. Biophys. Research Community**. v. 93, p.1181-1188, 1980.

SURAI, P. F. **Selenium in nutrition and health** Nottingham University Press, Nottingham, United Kingdom, p.973, 2006.

SWORD Jr., J.T.; ATAJA, A.M.; POPE, A.L.; HOEKSTRA, W.G. Effect of calcium phosphates and zinc in salt-mineral mixtures on ad libitum salt-mix intake and on zinc and selenium status of sheep. **Journal of Animal Science**, v.59, p.1594-1600, 1984.

TAYLOR, J. B. Time-dependent influence of supranutricional organically bound selenium on selenium accumulation in growing wether lambs **Journal of Animal Science**, v. 83, p.1186-1193, 2005.

TOLEDO, L.R.A. **Distribution of supplemental selenium in serum, hair, colostrum and fetus of dairy cows**. Ph.D. thesis. Purdue University, 1984.

TRINDER. N.; WOODHOUSE. C.D.; RENTON. C.P. 1973 The relationship between the intake of selenium and vitamin E on the incidence of retained placental in dairy cows. **Vet. Rec.** v.93. p.641-645. 1973.

ULLREY, D. E. Biochemical and physiological indicators of selenium status in animals. **Journal of Animal Science**, v. 65, p.1712-1726, 1987.

VALK, E. E.; HORSTRA, G. Relationship between vitamin E requirement and polyunsaturated fatty acid intake in man: A review. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, v.70, p. 30-41, 2000.

Van METRE, D. C.; CALLAN, R. J. Selenium and Vitamin E. **Update on Small Ruminant Medicine**, ed.17, Fort Collins, p.373-403, 2001.

Van RYSSSEN, J. B. J.; DEAGEN, J. T.; BEILSTEIN, M. A.; WHANGER, P. D. Comparative metabolism of organic and inorganic selenium by sheep **J. Agric. Food Chem.**, v.37, p.1358-1363, 1989.

WHANGER, P. D.; BUTLE, J. A. Effects of various dietary levels of selenium as selenite or selenomethionine on tissue selenium levels and glutathione peroxidase activity in rats. **Journal of Nutrition**, v.118, p. 846, 1988.

WHANGER, P. D.; WESWIG, P. H.; MUTH, O. H. Metabolism of ^{75}Se -selenite and ^{75}Se -selenomethionine by rumen microorganisms. **Fed. Proc.**, v.27, p.418, 1968.

WRIGHT, P. L.; BELL, M. C. Comparative metabolism of selenium and tellurium in sheep and swine. **Am. J. Physiol.**, v. 211, p. 6-10, 1966.

YU, S. Y.; CHU, Y. J.; GONG, X. L.; CHOPNG, H.; LI, W. G.; GONG, H. M.; XIE, J. R. Regional variation of cancer mortality incidence and its relation to selenium level in China. **Biological Trace Element Research**, v.7, p.21-29, 1985.

ZANETTI, M. A.; PETTINATI, R. L. Selenium balance in sheep **Journal of Animal Science**, v.67 (Suppl. 1)/ **Journal of Dairy Science** v. 72 (Suppl. 1). 1989.

ZANETTI, M. A.; CUNHA, J.A. Biodisponibilidade de fontes orgânicas e inorgânicas de selênio. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.26, p.623-627, 1997.

ZANETTI, M. A.; LUCCI, C.S.; MEIRELLES, G.J.R. Selênio em bovinos leiteiros do estado de São Paulo. V. Suplementação de selênio para vacas em fase final de gestação. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Universidade de São Paulo, v.21, p.141-145, 1984.

ZANETTI, M. A.; PETTINATI, R.L. Balanço de fontes orgânicas e inorgânicas de selênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, n.4, p.455-460, 1991.