UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos

Área Bromatologia

Efeitos da interação selênio, enxofre e cobre na dieta de cordeiros

Arlindo Saran Netto

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Prof. Titular Marcus Antonio Zanetti

SÃO PAULO
2002

FICHA CATALOGRÁFICA
preparada pela
Biblioteca da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo

S243e Saran Netto, Arlindo
 Efeitos da interação selênio, enxofre e cobre na dieta
de cordeiros / Arlindo Saran Netto – São Paulo, 2002.
90 p.
Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Ciências
Farmacêuticas - Universidade de São Paulo. Departamento de
Alimentos e Nutrição Experimental.
Área de concentração: Bromatologia.
Orientador: Prof. Dr. Marcus Antonio Zanetti

Unitermos: 1. Ovinos, minerais 2. Nutrição animal 3.
Ruminantes I. Título.

Arlindo Saran Netto

Efeitos da interação selênio, enxofre e cobre na dieta de cordeiros

Comissão Julgadora

**Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE**

Prof. Dr. Marcus Antonio Zanetti
Orientador/Presidente

Profa. Dra. Célia Colli
1ª examinadora

Prof. Dr. Raul Franzolin Neto
2º examinador

São Paulo, 17 de janeiro de 2003

Dedicatória:

Aos meus pais Arlindo José Saran e Ida Maria Genaro Saran pela educação e por todo carinho e apoio para que eu pudesse alcançar meus objetivos.

Aos meus irmãos Júnior, Carolina e Camila pelo amor, amizade e apoio em todos os momentos.

Ao Campus de Pirassununga da
Universidade de São Paulo e a todos que
fazem parte dele, local que me identifiquei
e hoje faz parte da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Marcus Antonio Zanetti, pela orientação na execução deste trabalho

A Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo pela oportunidade da realização do mestrado

À FAPESP pelo suporte financeiro dado a esta pesquisa

Ao chefe de Departamento de Zootecnia Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral e ao chefe de Departamento de Ciências Básicas Prof. Dr. Antônio Joaquim Rossini

Aos secretários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas Jorge, Elaine, Isabel, Mônica e Ângela

Ao Médico Veterinário Pacheco e aos funcionários Paulão e Piovato pela assistência veterinária e contribuição na execução do experimento

Aos técnicos Cunha, Raphael e Rose pelo auxílio nas análises laboratoriais

Às amigas Márcia Saladini e Nívea pela orientação estatística e técnicas gráficas

Ao amigo Gustavo (Chorão) pelo seu apoio no experimento e pela sua amizade

À Fernanda Alves de Paiva pelo seu amor, companhia, amizade, e ajuda na execução deste trabalho

Aos amigos Saulo, Soraia, Angélica, Juliana, Maurício, José Henrique, Aya, Ana Paula, Ivan, Raquel, Gina, Maria Lúcia e Vanessa, pela amizade e todos momentos que vivenciamos durante a pós-graduação

À minha tia Maria Regina Saran e ao meu primo Alberto Eduardo Saran Nogueira e todos familiares por todo apoio para conclusão deste trabalho

Aos funcionários da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos e da prefeitura do Campus de Pirassununga

Aos professores da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos e da Faculdade de Ciências Farmacêuticas pelo empenho ao ensino

Ao professor de Educação Física Margutti, pelas atividades físicas, que além do lazer, promovem integração entre alunos, professores e funcionários

A todos que direta ou indiretamente apoiaram este trabalho

Sumário

ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
ÍNDICE DE TABELAS.....	ii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	iii
RESUMO.....	v
1- JUSTIFICATIVA.....	1
2- INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1- HISTÓRICO DO SELÊNIO	2
2.1.1 – <i>Metabolismo do selênio</i>	3
2.1.2- <i>Funções do selênio</i>	5
2.1.3- <i>Suplementação de selênio</i>	9
2.1.4 – <i>Toxicidade do selênio</i>	10
2.2- ENXOFRE E SUA IMPORTÂNCIA.....	11
2.2.1 – <i>Requerimento de enxofre na dieta</i>	13
2.2.2 – <i>Disponibilidade do enxofre nas diferentes fontes</i>	14
2.2.3 – <i>Deficiência de enxofre</i>	14
2.2.4 – <i>Relação do enxofre com outros elementos</i>	15
2.2.5 – <i>Toxicidade do enxofre</i>	16
2.3- COBRE E SUA IMPORTÂNCIA.....	16
2.3.1- <i>Metabolismo do cobre</i>	19
2.3.2 – <i>Interação do cobre com molibdênio e enxofre</i>	20
2.3.3 – <i>Funções fisiológicas do cobre</i>	21
2.3.4 – <i>Necessidade de cobre</i>	22
2.3.5 – <i>Deficiência de cobre</i>	22
2.3.6 – <i>Toxicidade do cobre</i>	23
2.4- INTERAÇÃO ENTRE OS MINERAIS SELÊNIO X ENXOFRE X COBRE	24
3- OBJETIVO	27
4 – MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4.1 – LOCAL	28
4.2 – ANIMAIS	28
4.3 – INSTALAÇÕES	29
4.4 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	30

4.4.1 – <i>Tratamentos</i>	35
4.4.2 – <i>Balanço metabólico</i>	37
4.4.3 – <i>Análises</i>	38
4.4.4 – <i>Delineamento experimental e análise estatística</i>	39
5- RESULTADOS E DISCUSSÕES	40
5.1- CONCENTRAÇÃO DE SELÊNIO NO SORO	41
5.2 CONCENTRAÇÃO DE SELÊNIO NO FÍGADO	43
5.3 BALANÇO DE SELÊNIO	47
5.4- CONCENTRAÇÃO DE COBRE NO FIGADO	57
5.5- CONCENTRAÇÃO DE COBRE NO SORO SANGUÍNEO	60
5.6- QUANTIDADE DE COBRE ABSORVIDO	63
5.7- DESEMPENHO DOS ANIMAIS	66
5.8- HEMATÓCRITO TOTAL	68
6 – CONCLUSÕES	71
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Animais experimentais	28
Figura 2. Instalações	29
Figura 3. Biópsia do fígado.....	30
Figura 4. Animais nas gaiolas metabólicas	31
Figura 5. Pesagem individual dos animais em balança eletrônica	32
Figura 6. Colheita de sangue	33
Figura 7. Carcaça dos animais após o abate	34
Figura 8: Animais nas gaiolas com bolsa para colheita de fezes e urina	37
Figura 9. Fotografia mostrando um rim normal na parte inferior da foto, e o rim de um cordeiro intoxicado por cobre na parte superior.	70

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos utilizados no experimento	35
Tabela 2. Composição da ração experimental na matéria original	36
Tabela 3. Análise bromatológica das rações experimentais	40
Tabela 4. Concentração de selênio no soro sanguíneo.....	41
Tabela 5. Concentração de cobre no soro sanguíneo	60
Tabela 6. Quantidade de Cu ingerido e absorvido em mg durante os cinco dias de coleta.....	63
Tabela 7. Ganho de peso diário.....	66
Tabela 8. Valores do hematócrito	68

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Concentração de selênio no soro de cordeiros nas quatro colheitas durante o período experimental.....	41
Gráfico 2: Concentração de selênio no fígado em função dos níveis de selênio e cobre na dieta.....	43
Gráfico 3: Concentração de selênio no fígado em função dos níveis de selênio e enxofre na dieta.....	44
Gráfico 4: Concentração de selênio no fígado em função dos níveis de cobre e enxofre na dieta.....	44
Gráfico 5: Concentração de selênio nas fezes em porcentagem do ingerido em função dos níveis de selênio e cobre na dieta.....	47
Gráfico 6: Concentração de selênio nas fezes em porcentagem do ingerido em função dos níveis de selênio e enxofre na dieta.....	48
Gráfico 7: Concentração de selênio na urina em porcentagem do ingerido em função dos níveis de selênio e cobre na dieta.....	50
Gráfico 8: Concentração de selênio na urina em porcentagem do ingerido em função dos níveis de enxofre e cobre na dieta.....	50
Gráfico 9: Efeito da interação entre os minerais Se x Cu sobre a porcentagem de selênio absorvido.	52
Gráfico 10: Efeito da interação entre os minerais Se x S sobre a porcentagem de selênio absorvido.	52
Gráfico 11: Efeito da interação entre os minerais S x Cu sobre a porcentagem de selênio absorvido.	53
Gráfico 12: Efeito da interação entre os minerais Se x S sobre a porcentagem de selênio retido.....	54
Gráfico 13: Efeito da interação entre os minerais Se x Cu sobre a porcentagem de selênio retido	54
Gráfico 14: Efeito da interação entre os minerais Cu x S sobre a porcentagem de selênio retido.....	55
Gráfico 15: Efeito da interação entre os minerais Cu x S sobre o nível de cobre no fígado.	57

Gráfico 16: Efeito da interação entre os minerais Se x CU sobre o nível de cobre no fígado.	58
Gráfico 17: Níveis de cobre no soro de cordeiros nas quatro colheitas durante o período experimental.....	61
Gráfico 18: Porcentagem de Cu absorvido	64
Gráfico 19: Ganho de peso em gramas/animal/dia.....	66
Gráfico 20: Valores de hematócrito (%)	68

RESUMO

O experimento foi realizado na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos no Campus de Pirassununga. Foram utilizados trinta e dois cordeiros não castrados, com 3 meses de idade e peso vivo inicial de 23 kg, sendo estes colocados em gaiolas metabólicas individuais de plástico e após 14 dias de adaptação, passaram a receber um dos tratamentos por um período de 90 dias: Controle (0,2 ppm Se; 8 ppm Cu; 0,2 5%S), Tratamento1(5 ppm Se; 8 ppm Cu; 0,25 %S), Tratamento 2 (0,2 ppm Se; 8 ppm Cu; 0,37 %S), Tratamento 3 (5 ppm Se; 8 ppm Cu; 0,37 %S), Tratamento 4 (0,2 ppm Se; 25 ppm Cu; 0,25 %S), Tratamento 5 (0,2 ppm Se; 25 ppm Cu; 0,37 %S), Tratamento 6 (5 ppm Se; 25 ppm Cu; 0,25 %S), Tratamento 7 (5 ppm Se; 25 ppm Cu; 0,37 %S). O delineamento foi em blocos casualizados por peso, estudou-se a interação entre o selênio x enxofre x cobre, através da análise dos teores de selênio e cobre no soro, nas fezes, na urina e no fígado, hematócrito total e ganho de peso. Foi verificado que existe a interação tríplice , altas concentrações de enxofre e cobre na dieta dos cordeiros recebendo 5ppm Se, reduziram a concentração de selênio, no soro e no fígado e aumentaram a excreção de selênio pelas fezes e a eliminação pela urina. O selênio e o enxofre suplementar reduziram a quantidade de cobre absorvido e a concentração de cobre no fígado e no soro. Todos os tratamentos apresentaram um bom ganho de peso, acima de 209g/cabeça/dia, mas com alta concentração de enxofre e cobre em nível de selênio normal, o ganho de peso foi significativamente superior, chegando a 236g/cabeça/dia. O hematócrito total não foi afetado.

1- JUSTIFICATIVA

O estudo acurado dos minerais na nutrição animal torna-se cada vez mais necessário, pois se somam vários fatores tendentes a diminuir o teor nos alimentos e a aumentar as necessidades: de um lado o empobrecimento dos solos em face das sucessivas colheitas, quer de espécimes plantadas e colhidas pelo homem, quer de espécimes colhidas no ato de pastar; de outro lado, o sucessivo melhoramento genético que sofrem os animais fazendo-os crescer mais rapidamente, ou produzir mais em período mais curto, aumentando suas necessidades nutricionais (ANDRIGUETTO, 1981).

Os minerais participam de várias funções biológicas, interagindo com outros nutrientes e também entre si, o que torna seu estudo complexo, porém essencial para compreensão e solução de problemas que envolvem a nutrição, tanto animal como humana (BRISOLA, 2000).

Com a globalização e a estabilização da moeda nacional, a atividade pecuária tornou-se mais competitiva, as margens de lucro diminuíram e muitos produtores foram excluídos da atividade. Neste contexto, a nutrição animal é extremamente importante, visto que é o principal custo de produção desta atividade, precisando portanto ser mais estudada, para obter-se melhores resultados técnicos e econômicos.

2- INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Já está comprovado que os seguintes elementos minerais desempenham funções essenciais no organismo e, por isso, devem estar presentes no alimento: cálcio, fósforo, sódio, potássio, selênio, molibdênio, cloro, magnésio, ferro, enxofre, iodo, manganês, cobre, cobalto, zinco, flúor, níquel, vanádio, sílica, cromo e estanho. A prova de que cada um desses elementos é essencial, reside nas experiências realizadas com uma ou mais espécies animais. Nessas experiências, os sintomas produzidos por dietas adequadas em todos os nutrientes, com exceção dos minerais em questão, foram prevenidos ou superados pelo acréscimo dos mesmos às dietas. Os elementos acima mencionados não foram testados com todas as espécies, porém é muito provável que não haja qualquer exceção quanto à indispensabilidade de todos eles a todos os vertebrados.

Na revisão feita por SPEARS (1999), foram identificadas as funções metabólicas essenciais para sete macrominerais (cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio, cloro e enxofre), e oito microminerais (cobalto, cobre, iodo, ferro, manganês, molibdênio, selênio e zinco), onde as funções principais de cada um destes minerais foram resumidas.

2.1- Histórico do selênio

Durante a década de 1930 o selênio foi primeiro identificado como elemento tóxico em algumas forragens, que causavam nos animais perda de pêlos e unhas. O papel benéfico do selênio na nutrição animal foi evidenciado em 1957, quando verificou-se que ele evitava necrose de fígado em ratos. No mesmo ano também foram relatados prevenção de diátese exsudativa em frangos e distrofia muscular em bovino e cordeiros, através de dietas com selênio (McDOWELL, 1992). Dietas purificadas, sem selênio, fornecidas para frangos causaram degeneração pancreática (O'DELL e SUNDE, 1997).

Em ratos, também foi verificado retardo no crescimento, alopecia parcial, problemas na formação de espermatozóides e cataratas (HIDROGLOU et al. 1987).

De acordo com NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1983), o selênio é um semimetal muito parecido com o enxofre em suas propriedades químicas, principalmente em relação ao fato de existir em vários estados de oxidação, o que lhe permite formar uma série de compostos. Nos alimentos de origem animal, encontra-se principalmente nas formas análogas aos aminoácidos que contém enxofre, metionina e cisteína, e na forma de selenatos, selenitos e selenetos em peixes e em alimentos de origem vegetal (SOUTHGATE et al. 1989).

Muitos solos contêm entre 0,1 e 2 ppm de selênio, mas apenas uma porção está disponível para a vegetação. Solos com alta concentração de selênio que produzem plantas tóxicas são chamados de seleníferos. Alguns solos no mundo contêm altos níveis de selênio, mas baixas quantidades solúveis em água, e conseqüentemente não produzem vegetação tóxica para os animais. Solos do Hawai contêm de 6 a 15 ppm de selênio e de Porto Rico de 1 a 10 ppm de selênio, no entanto, não produzem plantas que contenham concentrações tóxicas de selênio, pois se tratam de solos ácidos, com presença de hidróxido de ferro, que tornam o selênio indisponível para as plantas. Em contrapartida, em solos alcalinos, o selênio tende a formar selenato, sendo este muito disponível para as plantas, podendo levar a concentrações tóxicas nas forragens (McDOWELL, 1992).

2.1.1 – Metabolismo do selênio

Em ruminantes, o maior grau de absorção de Se ocorre no intestino delgado, principalmente no duodeno. Já em suínos, a maior absorção ocorre na última parte do intestino delgado (íleo), no ceco e no cólon. O selênio é menos absorvido em ruminantes do que em monogástricos, provavelmente devido à redução do selenito a compostos insolúveis no rúmen (LEVANDER, 1986).

Após absorvido, o Se é carreado no plasma associado à selenocisteína até entrar nos tecidos (DEAGEN et al. 1986).

O selênio absorvido irá acumular-se principalmente nos rins e fígado, mas também em outros tecidos como o baço e pâncreas, além da lã e pêlos. Quando a dieta oferecida tem baixa concentração de Se, ocorre maior acúmulo nos rins do que no fígado, mas quando a dieta tem alta concentração, o acúmulo no fígado é maior do que nos rins (KOENIG et al. 1997).

As principais rotas de excreção do Se são as fezes, urina e respiração, sendo que a quantidade e distribuição do selênio eliminado depende do nível de ingestão, da forma de administração, composição da dieta e presença de antagonista do selênio (NRC, 1983). Quando o Se é fornecido oralmente, a maior excreção ocorre nas fezes, principalmente devido à ação de microrganismos do rúmen que transformam o Se em formas indisponíveis, mas quando é injetado, a maior excreção ocorre através da urina.

A retenção e absorção do selênio são influenciadas pelo estado do animal e pela forma química do Se administrada; em geral é depositado em maior concentração nos tecidos quando presente na dieta na forma orgânica. Em suínos recebendo dieta com 0,45 ppm de Se, houve uma maior concentração de Se no músculo, fígado e rim, quando fornecido na forma orgânica (McDOWELL, 1992). Experimento realizado por THOMPSON et al. (1981), mostrou que a selenometionina foi mais eficiente em aumentar o nível de selênio no sangue do que o selenito de sódio, em animais que apresentavam baixos níveis de selênio no sangue.

McDOWELL et al. (1996), verificaram que selênio na dieta ou selênio injetável, aumentou significativamente a concentração de selênio no soro, colostro e leite de vacas três semanas após o parto. O mercúrio, elemento antagonista do selênio, quando fornecido em doses agudas para ratas em gestação ou lactação, prejudicou a passagem do selênio através da placenta e glândula mamária (O' DELL e SUNDE, 1997). Injeção de selênio e vitamina E em porcas aumentaram a transferência de imunoglobulinas para a progênie (GOEHRING et al. 1984).

2.1.2- Funções do selênio

No organismo animal o selênio é incorporado a várias enzimas, das quais a mais importante é a glutathione peroxidase, possuidora de quatro átomos de selênio (ROTRUCK et al. 1973). Sua atividade está relacionada com níveis de selênio nos tecidos, em ovinos (SWORD Jr. et al. 1984), bovinos e outros ruminantes (BENGOUIMI et al. 1998) e monogástricos (GOEHRING et al. 1984). Esta enzima parece ocupar um papel central nas reações de oxidação e redução na célula, protegendo a membrana celular de danos por meio da inibição e destruição de peróxidos, levando a uma redução na quantidade de vitamina E necessária para manter a integridade das membranas (COMBS e COMBS, 1986).

De acordo com LEVANDER (1986), a concentração de selênio no sangue depende do consumo de selênio. Deficiências clínicas em ruminantes estão associadas com valores inferiores a 30 ng de Se/mL de sangue. Baseado na resistência a mastite, SMITH (1987), recomendou que o sangue deva conter pelo menos 200 ng de Se/mL de plasma. Outros pesquisadores como GERLOFF (1992), recomendou que o valor de selênio deve ser superior a 70 ng/mL.

A concentração de selênio no sangue de bezerros recém-nascidos tem alta correlação ($r = .74$, $P < .05$) com o de suas mães (KINCAID e HODGSON, 1989). Vacas em final de gestação necessitam de 5 mg de Se/dia para assegurar reserva adequada nos tecidos dos recém-nascidos (ABDELRAHMAN e KINCAID, 1995). Quantidades relativamente grandes de selênio são transferidas da mãe para o feto durante o último trimestre de gestação. A eficiência da transferência de selênio para o feto é influenciada pela forma química do Se na dieta. O selenito, mais Se da selenometionina são transferidos da mãe para o feto via placenta, e também via leite (KNOWLESS et al. 1999).

Segundo LANGLANDS et al. (1984), entre 4 e 9% do total de Se no corpo de ovelhas estão no fígado, e este tende a ter a mais alta concentração de Se entre os tecidos. Consequentemente, a concentração de Se no fígado é usada para mensurar o nível de Se, embora grande parte de Se possa ser encontrada no músculo.

É bastante conhecida a interação entre vitamina E e selênio, e a deficiência de ambos os nutrientes é a causa principal da distrofia muscular, conhecida como doença do músculo branco, observada em cordeiros e bezerros criados em áreas deficientes no mineral. O aparecimento desta doença indica não só a necessidade de suplementação das crias, mas deixa claro que há deficiência geral no rebanho, já que como demonstrado nos trabalhos de TOLEDO (1984), a concentração de selênio no sangue de bezerros logo após o nascimento está diretamente relacionada com os níveis do mineral em suas mães. A doença do músculo branco em ruminantes, consiste em uma degeneração no músculo estriado, que ocorre sem envolvimento neural, sendo o maior sinal clínico de deficiência de selênio em ruminantes recém nascidos. Bovinos e ovinos com doença do músculo branco apresentam estrias brancas, degeneração e necroses nos músculos esqueléticos e coração, além de dificuldade em permanecer em pé. O eletrocardiograma de animais com esta doença mostra anormalidade na pressão sanguínea, mostrando problemas na circulação (GODWIN, 1975). Em bezerros pode afetar a musculatura da língua, dificultando para o animal mamar (NRC, 1984).

SANTIAGO (1986), verificou em bezerros da raça Charolesa, nascidos de mães tratadas com a emulsão de selênio-tocoferol durante a gestação, uma diminuição do estresse do desmame e maior ganho de peso, quando receberam o mesmo produto na dose de 1ml/100kg. A primeira ocorrência no Brasil de miopatia nutricional (doença do músculo branco) foi registrada no Rio grande do Sul (BARROS et al. 1988), onde a evolução da doença foi de 1 a 3 dias e os sinais clínicos incluíram rigidez dos músculos dos membros e dificuldade de locomoção. Na necropsia realizada em um bezerro, havia lesões nos músculos esqueléticos e, em menor grau, no miocárdio. As lesões microscópicas eram sobretudo degenerativas, havendo acentuada calcificação das fibras. Após tratamento com vitamina E e selênio, não houve aparecimento de novos casos e alguns animais levemente afetados recuperaram-se.

De acordo com McDOWELL (1992), a deficiência de selênio pode apresentar sinais subclínicos como redução do ganho de peso e menor taxa de

concepção, com um aumento no número de serviços necessários para a concepção. Em bovinos, a suplementação com selênio é benéfica para a motilidade dos espermatozóides. Além disso, outros problemas reprodutivos podem ser incluídos como retenção de placenta e ovários císticos. JULIEN e CONRAD (1976), verificaram uma redução na retenção de placenta de 51.2 para 8.8% em vacas injetadas com uma combinação de selênio e vitamina E. HARRISON et al. (1984), relataram 17.5% casos de retenção de placenta em vacas do grupo controle contra nenhum caso no grupo tratado com vitamina E e selênio, sendo que nem selênio nem vitamina E sozinhos foram efetivos.

HIDROGLOU et al. (1987), verificaram que houve redução de 47 para 19% na incidência de ovários císticos quando houve fornecimento de selênio para vacas.

Alguns autores como GOEHRING et al. (1984) verificaram que a deficiência de selênio prejudicou a reprodução de porcas afetando a sua saúde e a progênie. Em aves, a deficiência de selênio é responsável por principalmente três doenças: diátase exsudativa, atrofia do pâncreas e distrofia muscular. A atrofia do pâncreas prejudica a produção de lipase, e tripsinogênio prejudicando a digestão dos alimentos e consequentemente o crescimento dos animais (THOMPSON et al. 1980). A distrofia muscular é caracterizada principalmente pela formação de estrias brancas no músculo peitoral. A diátase exsudativa é caracterizada por um acúmulo de líquido no corpo, principalmente embaixo da pele na região do abdômen, com pequenas hemorragias nos tecidos. Esta doença pode ser prevenida através de suplementação com selênio ou vitamina E, sendo que em dietas severamente deficientes em selênio, a vitamina E não é capaz de prevenir ou curar, sendo necessária a adição de pelo menos 0,05 ppm de selênio complementar na dieta (McDOWELL, 1992).

Segundo WICHTEL et al. (1996), estudando os efeitos da suplementação de iodo e selênio sobre a taxa de crescimento de bezerros, verificou-se que o selênio pode ter participação no metabolismo dos hormônios da tireóide, e o estudo e compreensão de suas interações com outros nutrientes é essencial para o estabelecimento de níveis adequados na dieta. MORAES e UNTERSUCHUNGEN (1986), verificaram em Mato Grosso que, de 12 bovinos

afetados por "cara inchada", 4 apresentaram baixos valores de selênio nas amostras de fígado analisadas.

O selênio está envolvido nos processos de transulfuração em aves, como observado no trabalho de HALPIN e BAKER (1984), onde a eficiência da conversão de metionina para cisteína, em pintos, foi prejudicada pela deficiência de selênio em algumas linhagens de poedeiras.

Foram relacionadas por alguns autores doenças infecciosas ou suas conseqüências em bovinos, como retenção de placenta e outros problemas reprodutivos, com a deficiência de selênio (TRINDER et al. 1973; LUCCI et al. 1984b; TOLEDO, 1984; ZANETTI et al. 1984b; LUCCI et al. 1987). As ações bioquímicas do selênio e da vitamina E são de complementação no mecanismo de defesa normal do corpo. A vitamina E aumenta a retenção de selênio e previne a auto-oxidação de lipídeos no interior das membranas celulares, evitando a formação de peróxidos, contudo somente a glutathione peroxidase pode destruir os já formados. VASCONCELOS et al. (1989), fizeram investigações durante os anos de 1984 e 1985 para avaliar os efeitos da aplicação de selênio, de vitamina E e de selênio associado a vitamina E na incidência da retenção de placenta, em rebanhos leiteiros em Barbacena e Passos (Minas Gerais), nos quais os soros sanguíneos estiveram levemente deficientes. Chegaram à conclusão que, em Barbacena, a administração de selênio foi eficaz, enquanto em Passos este efeito não se fez sentir.

Absorção, retenção e distribuição do selênio no organismo bem como quantidade, forma e rotas de excreção variam, entre outros fatores, com a forma química, a quantidade ingerida e o tempo recebendo determinado nível de selênio, tanto em monogástricos como em ruminantes (HALVERSON e MONTY, 1967; ZANETTI e CUNHA, 1997). LUCCI et al. (1985), concluíram que a suplementação de selênio em vacas leiteiras na forma inorgânica foi mais eficiente do que a suplementação na forma orgânica pelo farelo de trigo, mas que a administração de selenito de sódio diminuiu a incidência de retenção de placenta em apenas duas das quatro propriedades estudadas. Mesmo entre ruminantes há diferenças no metabolismo, como no estudo comparativo entre vacas e camelos (BENGOUMLI et al. 1998), onde ficou claro que durante a suplementação com selênio e outros minerais houve grande diferença entre os níveis séricos dos nutrientes, destacadamente para o

selênio, embora a atividade da enzima glutathiona peroxidase tenha sido a mesma para ambas as espécies.

No trabalho de ZANETTI et al. (1986), não foram detectadas diferenças nos teores de selênio nas fezes e na urina, e conseqüentemente nenhuma diferença da quantidade de selênio absorvido ou retido, mesmo com um grupo de ovinos recebendo dietas com 0,219 mg/kg de selênio, no caso suplementada com selenito de sódio, comparado a um grupo recebendo dieta sem suplementação, contendo 0,097 mg/kg do mineral. Trabalhando ainda com ovinos, ZANETTI e PETINATTI (1991), observaram que a absorção de selênio foi superior quando este provinha de fonte orgânica, no caso, o farelo de trigo, quando comparado a uma fonte inorgânica, o selenito de sódio. É bem provável que essas diferenças entre fontes de selênio estejam relacionadas com os mecanismos de absorção do mineral. Nos ruminantes, é certo que o selênio inorgânico sofre alterações no rúmen que dificultam a absorção.

Num artigo sobre biodisponibilidade de selênio, FAIRWEATHER-TAIT (1997), citou trabalhos com ratos onde foi demonstrado que a seleniometionina é absorvida por transporte ativo compartilhado com metionina, o selenito é absorvido por simples difusão, o selenato por um mecanismo envolvendo sódio compartilhado por sulfato e finalmente a selenocisteína, que pode compartilhar um mecanismo de transporte ativo com aminoácidos básicos. Conseqüentemente, estudos envolvendo minerais e suas interações têm que considerar também a forma com que estes minerais serão administrados. Além disso, ainda há a possibilidade de interações com outros nutrientes, como outros minerais, proteínas e, como citado anteriormente a vitamina E.

2.1.3- Suplementação de selênio

A concentração de selênio no soro é considerada um bom indicador em ruminantes para verificar se os animais estão com deficiência deste mineral, sendo que valores inferiores a 0,03 ppm são considerados críticos (ROCK et al. 2001). Para animais monogástricos, como aves e suínos, ou animais que recebem concentrado, como vacas em lactação, o método mais

eficiente para promover a suplementação de Se é associar a suplementação mineral com os alimentos concentrados, em uma formulação que contenha 0,1 a 0,3 ppm de Se.

Para animais em regime de pastejo, alguns métodos podem ser indicados tais como: fertilização das pastagens, injeção de selênio, peletes colocados no rúmen, sendo que a mais usada é a suplementação mineral oferecida na forma de sal mineral de livre acesso (McDOWELL, 1992). De acordo com o NRC (1983), soluções de Se usando selenito de sódio, aplicadas através de injeções intramuscular ou subcutânea, ou fornecimento oral, têm sido eficientes para prevenir doenças relacionadas com a deficiência de selênio em ruminantes em regime de pastejo.

As fontes de selênio geralmente usadas são o selenito de sódio (Na_2SeO_3) e selenato de sódio (Na_2SeO_4). O selenito de cálcio também apresentou bons resultados aumentando a concentração de Se nos tecidos de ovinos e frangos, chegando a concentrações similares às obtidas com selenato de sódio (ECHEVARRIA et al. 1988; HENRY et al. 1988). Fatores de importância primária para se determinar a suplementação incluem: saber se o concentrado e forragens disponíveis são deficientes no mineral; se os animais estão em confinamento ou em pastejo e qual o manejo nutricional adotado; se a dieta possui concentração elevada de metais pesados e aflatoxinas e qual o nível de alfa-tocoferol na dieta. Cuidados durante a estocagem também são necessários porque o selênio é um elemento volátil que pode ser perdido durante a estocagem (McDOWELL, 1992).

2.1.4 – Toxicidade do selênio

Em ruminantes, este problema pode ocorrer quando os animais estão em regime de pastejo, onde a forragem tem em torno de 5 a 40 ppm de Se e está implantada em solo alcalino. Em condições naturais, se grande quantidade de selênio for consumida, a morte ocorre em poucas horas. Em casos de selenose subaguda, os animais ingerem dosagens altas por um período de tempo longo, semanas e até meses, sendo esta condição mais observada em animais em regime de pastejo, ocorrendo dores abdominais,

salivação excessiva, paralisia, dificuldade respiratória e posterior morte. A selenose crônica pode ocorrer por um período de anos, com crescimento anormal dos cascos. Os sinais clínicos de selenose incluem: perda de apetite; atrofia e cirrose do fígado, necrose do miocárdio; perda de vitalidade, perda de pêlos e alongamento dos cascos (O'DELL e SUNDE, 1997).

A tolerância ao selênio pelos animais domésticos varia com a forma química que o elemento é ingerido, continuidade de ingestão e tipo de dieta. Dietas com alto valor protéico reduzem a toxicidade de dietas seleníferas, provavelmente devido ao sulfato endógeno através do metabolismo de aminoácidos sulfurados (DEAGEN et al. 1986). No trabalho de ESAKI et al. (1979), foi relatado que adicionando sulfato houve uma melhora no crescimento em ratos e frangos com selenose. A toxicidade do selênio também pode ser reduzida através da utilização de outros elementos como o ferro, cádmio e o enxofre, entretanto, esta prática é muito limitada.

2.2- Enxofre e sua importância

De acordo com ANDRIGUETTO (1981), o organismo animal contém cerca de 0,2% do enxofre, encontrando-se este metalóide tanto na forma mineral como naquela de compostos orgânicos. Os compostos orgânicos compreendem principalmente os aminoácidos sulfurados: cistina, cisteína e metionina; vitaminas: tiamina e biotina; e hormônios como insulina e ocitocina. Diversos estudos mostraram que o enxofre inorgânico, administrado por via oral, pode ser utilizado pelos ruminantes para a síntese de metionina e cistina. A incorporação do enxofre nas proteínas pelos ruminantes, foi demonstrada através do elemento marcado, onde o S^{35} foi transferido para os aminoácidos do leite, lã, sangue e tecidos. Pesquisas recentes com enxofre marcado têm mostrado que o enxofre mineral pode ser utilizado pelos mamíferos e pelas aves, em graus variáveis conforme a espécie animal, bem como apresenta efeito promotor de crescimento. O efeito promotor de crescimento do sulfato indica que o organismo não pode obter sulfatos dos aminoácidos sulfurados com a velocidade necessária, para um máximo rendimento.

Alguns trabalhos como de SPEARS et al. (1985) e BUTTREY et al. (1986) mostraram que a fertilização do solo com sulfato de amônia, melhorou a digestibilidade da fibra em detergente ácido e da fibra em detergente neutro das forragens cultivadas nestes solos, quando fornecidas aos ruminantes. Os microrganismos do rúmen podem incorporar enxofre inorgânico em compostos orgânicos, e esta incorporação do sulfato inorgânico dentro de aminoácidos sulfurados é uma importante função destes microrganismos (BURK e HILL, 1994).

O enxofre entra nos caminhos metabólicos como sulfato ou com nível de oxidação sulfeto. As formas de enxofre podem ser oxidadas para sulfatos ou reduzidas para sulfeto, antes elas são utilizadas pelos ruminantes, esse processo é conhecido por ciclo do enxofre, sendo que animais e plantas fazem uso deste ciclo (NRC, 1980; O' DELL e SUNDE, 1997).

BLOCK et al. (1951), citado por McDOWELL, (1992) colocaram ³⁵S no rúmen e encontraram 80% deste enxofre na proteína do leite de cabras e ovelhas. POPE et al. (1979), concluíram que o sulfato, proteínas contendo enxofre e os aminoácidos livres contendo enxofre são reduzidos para sulfeto pelos microrganismos do rúmen, e o sulfeto é incorporado aos aminoácidos microbianos. O líquido ruminal de bovinos foi incubado *in vitro* com sulfato e substratos representando dietas com concentrado ou forragem, e foi verificado que a síntese de cistina foi duas vezes mais rápida do que a formação de metionina e que a incorporação do enxofre em aminoácidos também foi mais rápida quando o substrato era concentrado (McDOWELL, 1992).

No trabalho de SPEARS et al. (1977), com digestão de celulose *in vitro*, foi encontrado que em bovinos alimentados com dietas com baixos níveis de enxofre a digestão da celulose foi inferior a 1,6%, enquanto que nos animais alimentados com a quantidade adequada a digestibilidade foi de 33,5%. RESS et al. (1978), estudaram a movimentação do sulfato no plasma e no líquido ruminal de bovinos e ovinos alimentados com gramínea (capim timóteo) ou feno de alfafa. Na dieta com feno de alfafa 98 mg do S foi reciclado diariamente via saliva para o rúmen dos ovinos, comparado com 3.9 mg de S pela dieta com gramínea (capim timóteo). Nos bovinos alimentados com feno de alfafa foram recicladas 533 mg de S comparada com 234 mg de S reciclado quando alimentados com a gramínea (capim timóteo). Eles concluíram que o sulfato

reciclado para o rúmen é um fator limitante para a síntese de proteína pelos ruminantes alimentados com dietas de forragem de baixa qualidade. LESPERANCE et al. (1985), relataram que a alfafa em dietas de bovinos melhorou o balanço de S.

BUTTREY et al. (1986), verificaram que a fertilização do milho com 67 kg/ha de enxofre aumentou a digestibilidade da parede celular e aumentou a absorção aparente de nitrogênio na silagem, quando fornecida para novilhos. MORRIS (1984), verificou um aumento significativo no ganho de peso de novilhos, quando houve um acréscimo de enxofre na dieta de 0,05 para 0,13%.

2.2.1 – Requerimento de enxofre na dieta

A determinação da necessidade de enxofre para ruminantes envolveu a suplementação da dieta com metionina, cistina, sais sulfatados, ou elemento enxofre em estudos feitos com radioisótopos. Nos primeiros estudos feitos por LOOSLI e HARRIS (1945), citados por McDOWELL, (1992) foi verificado um aumento na taxa de crescimento de cordeiros alimentados com uma dieta contendo 6,55% de proteína bruta, quando esta dieta recebeu um acréscimo de uréia com sulfato ou uréia com metionina, passando para 10,28% de proteína bruta. A retenção de nitrogênio e a produção de lã foram aumentadas em ovelhas suplementadas com metionina e cisteína (HIDROGLOU et al. 1977).

HUME e BIRD (1970), demonstraram que o sulfato de sódio, sulfato de cálcio, DL-metionina e hidroximetionina foram equivalentes em melhorar a digestão da celulose *in vitro*, e concluíram que o nível ótimo de enxofre foi de 0,16 a 0,24% para ruminantes. GRIEVE et al. (1973), verificaram que quando o S da dieta oriundo da fonte sulfato de cálcio excedia 0,3%, as vacas em lactação reduziam a ingestão de alimentos e HIDROGLOU et al. (1977), relataram que a adição de 0,5% de sulfato de cálcio prejudicava o ganho de peso dos cordeiros. A necessidade de enxofre para ruminantes em regime de pastejo está entre 0,10 e 0,32% (McDOWELL, 1992).

2.2.2 – Disponibilidade do enxofre nas diferentes fontes

A disponibilidade biológica do enxofre em L-metionina encontrada por THOMPSON et al. (1980), e em DL-metionina por SPEARS et al. (1985), foi maior do que as outras formas de enxofre estudadas. McDOWELL (1992), relatou que Na_2SO_4 , CaSO_4 , e uma mistura de K_2SO_4 e MgSO_4 foram igualmente usadas para suplementar S para vacas em lactação e recomendado um nível de 0,17 a 0,20% de S. Foi necessário aproximadamente três vezes mais S na forma elementar do que como metionina para cordeiros (JOHNSON et al. 1971). Entretanto, O'DELL e SUNDE (1997), relataram que o enxofre elementar e o sulfato foram fontes equivalentes para bovinos.

A disponibilidade de enxofre para os microrganismos do rúmen em ovelhas foi determinada usando o enxofre radiativo (^{35}S) que era incorporado pelas bactérias (BIRD e MOIR, 1972). AMMERMAN et al. (1995), identificaram ^{35}S nos aminoácidos da lã, leite, plasma sanguíneo e tecidos, após alimentar os animais com ^{35}S oriundo de sulfato.

Dietas com proteína de alta qualidade podem ter seus valores reduzidos pelos microrganismos do rúmen, entretanto, proteínas de baixa qualidade provenientes de gramíneas ou de fontes de nitrogênio não protéico como a uréia, com adequada quantidade de enxofre, podem ter seu valor melhorado através dos microrganismos do rúmen (ANDERSON et al. 1975).

LOVETT et al. (1986), verificaram que com a adição de sulfato de sódio e metionina ou sulfato de sódio e colina, à dieta de suínos contendo milho e soja, o ganho de peso e a conversão alimentar foram melhorados. AMMERMAN et al. (1995), relataram que o ganho de peso diário de suínos dos 30 aos 90 dias foi aumentado quando estes receberam dietas contendo 0,57 e 0,47% de metionina e cistina respectivamente.

2.2.3 – Deficiência de enxofre

Os sinais de deficiência de enxofre incluem perda de apetite, redução no ganho de peso, redução no crescimento da lã em ovelhas, lacrimejamento, fraqueza e morte (McDOWELL, 1992). Uma dieta deficiente

em enxofre também pode reduzir a ingestão de matéria seca, a digestibilidade, e a produção de leite de vacas em lactação (BOUCHARD e CONRAD, 1973). Bovinos alimentados com uma dieta purificada em enxofre tiveram elevados níveis de serina, alanina, cistina e outros aminoácidos menos a glicina e a tirosina no plasma sanguíneo (HARMS e BUREST, 1987). Foi verificado um nível normal de sulfato no soro de ovelhas alimentadas com uma dieta basal contendo 0,09% de S, mostrando que talvez o sulfato pode ser de origem endógena e portanto, o seu uso como um indicador do nível de enxofre na dieta pode ser questionável. O melhor indicador da concentração de enxofre na dieta para ruminantes é a análise de enxofre na dieta e o desempenho dos animais (McDOWELL, 1992).

2.2.4 – Relação do enxofre com outros elementos

Uma interrelação entre enxofre, cobre e molibdênio foi primeiramente relatada por DICK e BULL (1945), citados por McDOWELL (1992), mostrando que dietas com alto molibdênio diminui o acúmulo de cobre no fígado, assim como os sulfatos inorgânicos têm efeito antagonista aos elementos cobre e molibdênio, SPEARS et al, (1977), também mostraram que o sulfato influencia a excreção de molibdênio pela urina e seu nível no sangue.

McFARLANE et al, (1991), estudaram o efeito de 0,4% de sulfato inorgânico na dieta , ou uma combinação de 50 ppm de Mo com 0,4% de sulfato no plasma de cordeiros recebendo uma injeção intravenosa com cobre radioativo (^{64}Cu). Quando ambos Mo e Cu estavam presentes na dieta, houve uma redução no acúmulo de cobre no fígado. A ingestão em excesso de S, Cu, Mo e Se, pode alterar a necessidade para cada um dos outros elementos (McDOWELL, 1992).

LANE et al. (1991), trabalhando com ratos, utilizaram quatro níveis de selênio (0,01, 0,06, 0,11, 0,61 ppm) e três níveis de enxofre (267, 3657 e 5267 ppm), quando os animais recebiam a alimentação com os dois níveis mais alto de enxofre, era necessário o nível de selênio mais alto para obter atividade máxima da glutathione peroxidase no intestino delgado de ratos.

Estudos verificando o efeito da deficiência de selênio na formação de metionina e cisteína em aves, mostraram que a eficiência da transulfuração pode ser prejudicada pelo baixo nível de selênio na dieta (HALPIN e BAKER, 1984).

A adição de sulfeto de ferro (500 ppm) em dietas contendo alto cobre (200 ppm) fez reduzir o acúmulo de cobre no fígado de leitões de 278 para 21 ppm (LIMA et al. 1981).

2.2.5 – Toxicidade do enxofre

Toxicidade de enxofre em ruminantes é mais provável de ocorrer quando os animais estão recebendo dietas suplementares com alto nível de enxofre, como sulfato de amônio, para fornecer nitrogênio não protéico, ou sulfato de cálcio para fornecer cálcio. É conhecido que o sulfeto de hidrogênio formado a partir do sulfato pelos microrganismo gastrointestinais pode causar envenenamento em ruminantes e monogástricos. O sulfeto reduz a motilidade do rúmen e causa alterações nervosas e dificuldades respiratórias (McDOWELL, 1992)

BOLCHARD e CONRAD (1974), administraram 15 g de S como sulfeto de sódio por vaca/dia e gradativamente aumentaram a dosagem para 50 g/vaca/dia, sendo verificada uma completa anorexia e queda na gordura do leite de 3,7 para 3,4%. De acordo com o NRC (1980), não está estabelecido claramente o limite de enxofre na dieta para ruminantes, entretanto, 0,4% de S parece ser o limite máximo tolerável para cordeiros, quando a fonte for o sulfato de sódio.

2.3- Cobre e sua importância

A presença do cobre nos tecidos animais foi verificada por BOUTIGNI (1923), sendo a sua importância na nutrição reconhecida, por Mc HARQUE (1926), ambos citados por ANDRIGUETTO (1981), quando demonstrou que o cobre era essencial para os ratos. Em 1928, HART et al. citados por ANDRIGUETTO (1981), demonstraram que o cobre e o ferro foram

necessários para a síntese de hemoglobina em ratos. A maior concentração de cobre no organismo animal verifica-se no fígado. Entretanto, a concentração nos tecidos varia com a espécie, idade, e estado nutricional do animal. Geralmente, a concentração de cobre no fígado, na maioria das espécies, diminui à medida que o animal vai envelhecendo. Por outro lado, os bovinos e os ovinos constituem exceções. Nos ovinos, esta concentração aumenta com o desenvolvimento do animal; nos bovinos, a variação na concentração de cobre no fígado, conforme a idade é muito pequena, podendo esporadicamente, o ruminante jovem apresentar teores mais elevados que o adulto.

O cobre é um elemento tanto essencial quanto tóxico ao organismo animal. A toxicidade é variável entre os ruminantes, sendo o ovino a mais sensível das espécies (SOLI, 1980). RIET-CORREA et al. (1993), relataram a ocorrência das mortes súbitas e, adicionalmente, a ocorrência da hipomielinogênese congênita em bovinos. Todos os casos de morte súbita e de ataxia neonatal, assim como a resposta positiva à suplementação com cobre, foram realizadas experimentalmente.

Diversos casos de intoxicação espontânea por cobre têm sido diagnosticados no Brasil (RIET-CORREA et al. 1989; PILATI et al. 1990; RIBEIRO et al. 1995). Os ovinos intoxicados por cobre podem apresentar dois quadros clínicos distintos. O primeiro caracteriza-se pela intoxicação aguda, na qual o animal apresenta uma severa gastroenterite logo após a uma alta ingestão de cobre. O segundo, denominado de intoxicação crônica, é o mais comum e caracteriza-se pelo acúmulo de cobre principalmente no fígado, sem manifestações de sinais clínicos; posteriormente, sob algum fator desconhecido, o cobre é liberado causando uma hemólise maciça, e que provocará icterícia e hemoglobinúria.

A concentração de cobre no fígado de ruminantes está correlacionada com a biodisponibilidade de cobre na dieta (Mc DOWEL, 1992). Em ovelhas, o fígado contém aproximadamente metade do total de cobre da carcaça (LANGLANDS et al. 1984). A biodisponibilidade de cobre na dieta e a concentração de cobre no fígado são afetadas pelas necessidades fisiológicas. Vacas em gestação alimentadas com 5 ppm de cobre, tiveram um declínio constante do nível de cobre no fígado durante um período de oito semanas

antes do parto. Entretanto, a suplementação com 10 ppm de cobre preveniu o declínio do nível de cobre no fígado (XIN et al. 1993).

De acordo com MILLS (1987), quando a ingestão de cobre pelo animal for inferior a sua necessidade fisiológica, a concentração de cobre e a atividade de ceruloplasmina no plasma não são reduzidas, até que o fígado tenha uma reserva de 40 mg/kg. ENGEL et al. (1964), encontraram uma correlação significativa ($r = .57$, $P < 0,01$) entre concentração de cobre no fígado e plasma quando houvesse menos que 33 mg de cobre/kg de fígado. CLAYPOOL et al. (1975) disseram que valores de cobre no plasma de 0,5 µg/ml ou menores são indicativos de baixas reservas de cobre no fígado.

A ingestão de zinco, ferro, molibdênio e enxofre afetam a utilização do cobre (Mc DOWEL, 1992). Alta ingestão de zinco reduziu a concentração de cobre no plasma e fígado de bovinos e ovinos (KELLOGG et al. 1989). Dietas com molibdênio podem inibir a utilização do cobre, pois no rúmen o molibdênio combina com enxofre reduzido para formar tetratiomolibdato, que se une ao cobre dificultando sua absorção. Outras combinações, como o tiomolibdato e o molibdato que são absorvidos do sangue, se unidos ao cobre endógeno, tornam-o indisponível para o processo metabólico (MASON, 1982).

No plasma, o molibdênio que está ligado à proteína remove cobre do fígado aumentando a perda por urina, embora forme algum complexo cobre – molibdênio que se acumula no rim (KINCAID e WHITE, 1988).

Em bezerros, o baixo nível de cobre tem sido associado com o desenvolvimento de úlceras abomasais, onde estes tinham de 45 a 48 µg de Cu/ g de fígado, comparado com os animais controle com 245 µg de Cu/g de fígado (LILLEY et al. 1985). As investigações sugerem que o efeito pode ser devido a baixa imunidade em bezerros Cu-deficientes ou pela fraqueza estrutural do abomaso em bezerros Cu-deficientes.

2.3.1- Metabolismo do cobre

Em muitas espécies animais o cobre é pouco absorvido, geralmente não mais que 5-10% por animais adultos e 15-30% em animais

jovens. Em ruminantes, apenas 1-3% do cobre é absorvido, sendo que os pré-ruminantes absorvem o cobre com eficiência semelhante aos monogástricos (McDOWELL, 1992).

SUTTLE (1974), trabalhando com cordeiros, verificou em fase de aleitamento uma absorção de 47%, enquanto que após o desmame a absorção foi de 10%. Dependendo da espécie estudada, o cobre pode ser absorvido em todos os segmentos do trato gastrointestinal, embora alguns locais do intestino delgado tenham um maior papel na absorção do cobre. Uma absorção considerável tem sido demonstrada no estômago de humanos e no intestino grosso de ovelhas (O'DELL e SUNDE, 1997).

Existem evidências que a absorção intestinal do cobre é regulada pela necessidade do organismo, e que a metalotionina na célula epitelial do intestino tem um papel chave nesta regulação. A absorção de cobre é alta após um período de deficiência até que o nível adequado seja atingido (McDOWELL, 1992).

Animais de idades similares, do mesmo sexo, estado fisiológico e num mesmo ambiente podem apresentar diferenças na eficiência de utilização do cobre (McDOWELL, 1992). Estudos em várias espécies também têm mostrado que a absorção intestinal do cobre pode ser influenciada pela forma química (UNDERWOOD, 1977), e por interação com outras substâncias da dieta como: cálcio, ferro, zinco, cádmio e molibdênio, que reduzem a absorção.

O cobre parece ser absorvido por dois mecanismos, um saturado e outro insaturado, sugerindo transporte ativo para uma forma e difusão simples para outra (KEGLEY e SPEARS, 1993). O cobre absorvido vai para o soro, sendo transportado até o fígado, principal órgão de estocagem. Aproximadamente 90% do cobre presente no plasma de mamíferos está na forma de Cu metaloproteína, ceruloplasmina, sendo a ceruloplasmina o carreador específico, que exporta cobre do fígado para os órgãos alvos. O fígado é o órgão central do metabolismo do cobre, e a concentração neste órgão reflete o nível de cobre que está sendo ingerido pelo organismo (McDOWELL, 1992). Em todos estudos foi verificado que alta proporção de cobre ingerido aparece nas fezes, portanto não é absorvido, mas também ocorrem excreções via bile, urina e leite e pequenas quantidades são excretadas na respiração (UNDERWOOD, 1999).

2.3.2 – Interação do cobre com molibdênio e enxofre

A interação entre esses três minerais (Cu, Mo e S) é complexa, ignorando possíveis variações animais essa interrelação pode ser resumizada:

- Molibdênio, e especialmente o molibdênio na presença do enxofre, reduz o depósito de cobre nos órgãos e a síntese de ceruloplasmina; como resultado, diminui a excreção de cobre com a bile, mas aumenta excreção pela urina;
- O aumento de cobre na dieta reduz a deposição de molibdênio no fígado;
- Quando o nível de enxofre é elevado, ocorre aumento da excreção de molibdênio pela urina, enquanto a deposição no tecido decresce (McDOWELL, 1992).

Algumas das interações entre Cu, Mo e S ocorrem no trato digestivo. DICK et al. (1975), verificaram que a redução de sulfato para sulfeto no rúmen, provoca uma reação do sulfeto com Mo formando tiomolibdato (MoS_4^{2-}), que posteriormente irá formar tiomolibdato de cobre (CuMoS_4), tornando o cobre altamente insolúvel e não utilizável. O enxofre, na ausência de molibdênio, também pode causar deficiência de cobre, pela formação de um composto insolúvel, o sulfeto de cobre, no intestino. A formação do sulfeto de cobre e do tiomolibdato de cobre reduzem muito a absorção do cobre por deixá-lo indisponível (NRC, 1984).

Os animais ruminantes são mais susceptíveis à interação Cu/Mo/S do que os não-ruminantes, porque o primeiro efeito ocorre no rúmen através do sulfeto gerado pelas bactérias e conseqüentemente a formação do composto indisponível tiomolibdato de cobre. A formação de tiomolibdato também afeta o metabolismo de enxofre por afetar sua absorção, formando complexos que se ligam fortemente, reduzindo sua solubilidade (AOYAGI et al. 1994).

2.3.3 – Funções fisiológicas do cobre

O cobre é necessário para a respiração celular, formação de ossos, desenvolvimento de tecido conectivo, queratinização e pigmentação de tecidos. O cobre também é um componente essencial de importantes metaloenzimas, incluindo a citocromo oxidase, superóxido dismutase e

tirosinase. O cobre tem um importante papel na absorção e mobilização do ferro, onde baixos níveis de ferro são encontrados no soro na deficiência de cobre. A ceruloplasmina que é sintetizada no fígado e contém cobre, é necessária para oxidação do ferro, permitindo-o ligar com a proteína transportadora de ferro (transferrina). A anemia pode ser desenvolvida na deficiência de cobre ou ferro, sendo que na deficiência de cobre ocorre um atraso na maturação e menor tempo de vida das células vermelhas do sangue (O'DELL e SUNDE, 1997).

A deficiência de cobre afeta a enzima citocromo oxidase, que é uma enzima importante na oxidação terminal da cadeia respiratória. Ela catalisa e reduz O_2 para água, uma essencial etapa na respiração celular. A deficiência também prejudica a formação de colágeno e elastina, pois a enzima lisil oxidase depende do cobre para dar às proteínas estruturais rigidez e elasticidade (McDOWELL, 1992).

Com relação a pigmentação, ela é principalmente observada na deficiência de cobre nos pêlos e lã de mamíferos, sendo geralmente atribuída à deficiência de tirosinase, responsável pela quebra e conversão de tirosina para melanina. O cobre também é necessário para queratinização dos pêlos e da lã, pois é requerido para formação e incorporação dos grupos dissulfeto na síntese de queratina (McDOWELL, 1992).

UNDERWOOD (1999), observou falha na reprodução de mamíferos alimentados com dietas deficientes em cobre, sendo que em ratos foi observado morte fetal. Embriões de galinhas alimentadas com dieta deficiente em cobre apresentaram anemia e retardo no crescimento (McDOWELL, 1992).

Alguns estudos têm demonstrado que a deficiência de cobre afeta o metabolismo de lipídeos, sendo que a deficiência de cobre resulta em um elevado nível de triglicerídeos, fosfolipídeos e colesterol no soro de ratos. Alterações no sistema circulatório de ratos alimentados com baixo cobre na dieta estão associadas com alterações no metabolismo de lipídeos e ácidos graxos de cadeia longa (McDOWELL, 1992).

2.3.4 – Necessidade de cobre

Alguns fatores na dieta podem influenciar a necessidade de cobre incluindo: ferro, molibdênio, enxofre, zinco, chumbo cádmio e fontes de proteínas. Em geral, as recomendações não devem ser feitas para animais em regime de pastejo, sem antes ter a referência da forragem quanto a concentração de Cu, Mo e S. Para carneiros em pastagem deficiente em cobre, tem-se recomendado 8 a 10 ppm (UNDERWOOD, 1999). Quando as condições da dieta são ótimas para utilização do cobre, 4 a 5ppm de cobre para aves e suínos e 8 a 10 ppm de Cu para ruminantes parecem ser adequados (NRC, 1985).

Alguns estudos mostraram, em ovinos, que a necessidade de cobre e a tolerância ao excesso pode ser afetada pela genética, sendo o mesmo verificado em bovinos, por GOONERATNE e CHRISTENSEN (1989), relatando que a deficiência de cobre em bovinos da raça Simental no Canadá era mais freqüente do que nas outras raças. As necessidades de Cu podem aumentar em função da formação de hemoglobina, crescimento, pigmentação dos pêlos e lactação.

2.3.5 – Deficiência de cobre

A manifestação da deficiência de cobre inclui: anemia, diarreia, falhas reprodutivas, perda de pigmentação, falhas na queratinização, prejuízo do apetite e do crescimento. Em suínos com deficiência de cobre, foi verificado um aumento de 200% no tamanho do coração e rupturas de alguns vasos sanguíneos, provavelmente devido a problemas com a elastina (McDOWELL, 1992). Em aves, o principal sintoma é a anemia, mas freqüentemente ocorrem hemorragias internas, resultado de problema na formação da elastina, e o aumento do coração é uma patologia comum na deficiência de cobre (O'DELL et al. 1978).

Em ruminantes, a deficiência pode ser devido à ausência de cobre ou induzida por altos níveis de outros minerais como Mo e S. Um sinal comum em cordeiros e cabritos jovens, é a paralisia e incoordenação das pernas por

afetar a mielina do sistema nervoso central (NRC, 1985). A perda de pigmentação da lã é um sinal comum em carneiros, aparecendo bandas pigmentadas e despigmentadas em alternância (UNDERWOOD, 1999). A deficiência subclínica tem grande efeito na economia por prejudicar a produção de leite, crescimento e reprodução, sem apresentar evidências de que se trata de deficiência de cobre.

2.3.6 – Toxicidade do cobre

Variações consideráveis têm sido relatadas quanto a tolerância à toxicidade do cobre (NRC, 1980), sendo que existem algumas variações entre raças de animais; por exemplo, ovinos da raça Merino são mais tolerantes ao cobre do que outras raças de ovinos (McDOWELL, 1992). Os ruminantes são mais sensíveis do que os não-ruminantes, sendo que bovinos e ovinos toleram níveis de 25ppm e 10ppm respectivamente, enquanto suínos e aves podem receber rotineiramente de 100 a 250 ppm de Cu na forma de (CuSO_4) . Intoxicação por cobre pode levar o animal à anemia, prejudicar o crescimento e ocasionar problemas reprodutivos, em estágios mais avançados vômitos, salivação, convulsão, paralisia, podendo levar a morte (NRC, 1980).

A intoxicação aguda é geralmente observada após administração accidental de quantidades excessivas de Cu solúvel em sais, que podem estar presentes em anti-helmínticos, misturas minerais e dietas formuladas erroneamente (NRC, 1980). A toxicidade é mais encontrada em ruminantes, raramente em monogástricos e humanos, porém, em suínos recebendo dietas com nível superior a 250 ppm de cobre, outros nutrientes podem ser afetados, tais como a destruição de tocoferóis dos alimentos (DOVE e EWAN, 1990). A intoxicação crônica por cobre ocorre geralmente em animais em regime de pastejo com alta ingestão de cobre e baixa ingestão de molibdênio e enxofre (NRC, 1985). Aumentando-se o molibdênio na dieta, pode-se evitar a intoxicação por cobre, porém em novilhos recebendo 13,3 ppm de Mo, houve redução na quantidade de proteína absorvida pelo intestino (BOILA e GOLFMAN, 1991).

Algumas pesquisas também mostraram que o baixo nível de Mo pode causar redução no crescimento e infertilidade de novilhas, independente da alteração no metabolismo do cobre (PHILIPPO et al. 1987; SPEARS e KEGLEY, 1991).

2.4- Interação entre os minerais selênio x enxofre x cobre

Segundo COUZI et al. (1993), as interações entre minerais essenciais podem ser classificadas em diretas, quando há competição entre os minerais na absorção intestinal ou na utilização de tecidos; ou indiretas, quando um dos minerais está envolvido no metabolismo do outro, ou quando a deficiência ou toxicidade de um resulta em mudanças hormonais ou danos nos tecidos que por sua vez afetam o metabolismo de outro mineral. Um exemplo desta classificação pode ser observado no trabalho de DEOL et al. (1994), no qual o elevado teor de cobre teve por consequência um aumento nos níveis de selênio hepático, o que segundo os autores, ocorreu não em função de um efeito direto do cobre sobre o selênio (interação direta), mas sim de danos causados ao órgão (interação indireta).

Quando trabalha-se com níveis elevados de minerais, potencialmente tóxicos, e em consequência potencialmente lesivos aos tecidos, esta diferenciação entre os tipos de interação merece especial atenção.

HALVERSON e MONTY (1967), submeteram ratos a nível tóxico de selênio (10 mg/kg) na forma de selenito ou selenato de sódio e estudaram os efeitos de níveis crescentes de enxofre na forma de sulfato de sódio ou de potássio, sobre o crescimento e a prevenção da degeneração hepática, e encontraram resultados que, segundo os autores, tornaram evidente a possibilidade do uso do sulfato como medida preventiva contra intoxicação por selênio. Neste trabalho, os autores observaram recuperações nas taxas de crescimento superiores a 40% com o uso do enxofre, contudo o mineral não foi eficiente na prevenção de danos hepáticos causados pelo selênio.

Segundo LOVETT et al. (1986), não foi observado qualquer efeito do enxofre suplementar na forma de sulfato de sódio sobre a concentração de selênio no músculo, no fígado, nos rins e no sangue de suínos, contudo, neste

caso, não foram empregados níveis tóxicos de selênio. Todavia, é importante considerar que as principais rotas de excreção do selênio no organismo diferem entre animais monogástricos e ruminantes.

ERASMUS (1984), observou que ovinos sob pastejo com níveis sangüíneos de selênio considerados elevados não apresentaram sinais de selenose crônica. Segundo COMBS e COMBS (1986), existem evidências de que os animais possam de certa forma adaptar-se a dietas com altos níveis de selênio. Uma das explicações seria pelo aumento da produção metabólica de compostos de selênio metilado, como, por exemplo, dimetilseleneto ou o íon trimetilselênio, que são facilmente excretados pelos pulmões e rins, respectivamente, diminuindo assim a retenção do elemento, embora a importância do íon trimetilselênio nos processos de intoxicação tenha sido questionada (ZEISEL et al. 1987).

Níveis de selênio na dieta de 4 a 5 mg/kg são suficientes para inibir o crescimento normal dos animais, sendo que vários fatores podem influenciar a resistência à intoxicação crônica, como no caso das dietas pobres em proteína ou com proteína de baixa qualidade, que potencializam a selenose crônica (NRC, 1983). Em bovinos e eqüinos, os sintomas são diminuição no crescimento, letargia, perda de apetite e de peso, dificuldade de locomoção, laminite, queda de pêlos e problemas de casco e reprodutivos. Em ovinos, há perda de lã, inflamação e queda dos cascos e problemas reprodutivos (NRC, 1985). ECHEVARRIA et al. (1988), trabalhando com ovinos, analisaram os teores de selênio no fígado, nos rins, no músculo, no coração, no baço e no soro, e também o hematócrito total e consumo de ração, após os animais terem recebido dieta com 0,2 mg/kg de selênio (basal) suplementada com 3, 6, ou 9 mg de selênio por quilograma de matéria seca da ração, na forma de selenito de sódio, durante 10, 20 ou 30 dias, e não notaram qualquer efeito tóxico do mineral sobre consumo ou concentração das hemáceas, mas verificaram efeitos significativos, tanto do tempo como dos teores de selênio, sobre os teores do mineral no soro, no fígado e nos rins, que se mostraram mais sensíveis ao selênio da dieta quando comparados aos outros tecidos.

POPE et al. (1979), trabalhando com selênio marcado, encontraram que o enxofre reduziu a absorção e a retenção do mineral. Resultados a campo na região norte do Brasil (Acre), com bovinos, têm

indicado a possível influência do enxofre suplementar, adicionado ao sal, antagonizando efeitos negativos provavelmente decorrentes de excesso de selênio nas pastagens conforme informação pessoal (ZANETTI, 2002. Pirassununga, SP). Os animais com elevados níveis de selênio no fígado, apresentavam problemas reprodutivos e de casco, aparentemente solucionados com a adição do enxofre suplementar.

No Brasil, os trabalhos realizados até hoje têm indicado deficiência de selênio (ZANETTI et al. 1987; LUCCI et al. 1984a; LUCCI et al. 1984b). Entretanto, recentemente surgiram indícios de intoxicação por selênio na região norte do Brasil, segundo informação pessoal (ZANETTI, 2002. Pirassununga, SP). Uma das formas de combater este tipo de intoxicação seria o uso de elementos antagônicos ao selênio, visando diminuir sua disponibilidade nos tecidos, bem como absorção no trato digestivo (UNDERWOOD, 1981). Exemplos destes compostos são: o enxofre (BEALE et al. 1990), o arsênico (UNDERWOOD, 1981; YANCHEV et al. 1992), e o mercúrio (UNDERWOOD, 1981).

MORAES et al. (1994), analisando pastagens, revelaram níveis de cobre adequados, mas elevados níveis de molibdênio e principalmente de enxofre, sendo a deficiência de cobre nos animais atribuída à possível interação cobre-molibdênio-enxofre.

Pesquisas recentes realizadas na Austrália e Nova Zelândia por LEE et al. (1999), para uma melhor compreensão das exigências minerais, critérios de diagnósticos e estratégias de suplementação, mostraram que o uso de elementos antagônicos como o enxofre, o ferro e o molibdênio, podem prejudicar a absorção do cobre.

BRISOLA (2000), verificou que houve efeito antagônico do enxofre sobre os níveis de selênio no soro, retardando o aumento da concentração, contudo, aos 90 dias não houve efeito significativo do enxofre sobre o teor sérico de selênio. Também foi verificado que a suplementação com selênio diminuiu o cobre sérico, mas a presença de selênio e enxofre aumentou o cobre sérico possivelmente devido a uma interação tríplice.

3- OBJETIVO

Estudar a interação entre os minerais selênio, enxofre e cobre, em dietas de cordeiros, no desempenho dos animais, na concentração de cobre e selênio no fígado e no soro, e na absorção, retenção e excreção do selênio e do cobre.

4 – MATERIAL E MÉTODOS

4.1 – Local

O presente experimento foi conduzido nas dependências da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, no Campus de Pirassununga, entre janeiro de 2001 e junho de 2002.

4.2 – Animais

Foram utilizados trinta e dois cordeiros (meio-sangue Ile de France e Ideal), com idade de 3 meses e peso vivo inicial de 23 kg, os quais foram desverminados após chegarem ao campus.

Figura 1. Animais experimentais

4.3 – Instalações

Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas de plástico com comedouros e bebedouros individuais, as quais foram instaladas em barracão coberto.

Figura 2. Instalações

4.4 – Procedimento experimental

Os animais foram adquiridos de uma mesma propriedade, tentando evitar, desta maneira, variações decorrentes de manejo, dando atenção especial para raça, idade e peso. Houve um período de adaptação dos animais às instalações e à alimentação de 14 dias.

Antes do início do experimento, foi feita biópsia do fígado dos animais para posterior análise de minerais.

Figura 3. Biópsia do fígado

Os animais foram colocados aleatoriamente nas gaiolas, e já no primeiro dia do período de colheita de dados, passaram a receber as rações experimentais, distribuídas por sorteio. Durante a adaptação foi ajustado o consumo para que não ocorressem sobras, e durante o período de colheita foi registrado o total ingerido.

Figura 4. Animais nas gaiolas metabólicas

Figura 5. Pesagem individual dos animais em balança eletrônica

A cada 30 dias os animais foram pesados e eram retiradas amostras de sangue, em tubos do tipo *Vacutainer*, por punção na veia jugular, para a determinação de minerais. As amostras de sangue retiradas para determinação dos minerais foram centrifugadas para obtenção do soro, sendo este colocado em frasco de vidro identificado e imediatamente congelado (-20°C). As amostras de sangue para determinação do hematócrito, foram colhidas em tubos contendo anticoagulante, e no mesmo dia analisadas pelo método do micro-hematócrito.

Figura 6. Colheita de sangue

Figura 7. Carcaça dos animais após o abate

Ao final do experimento, os animais foram atordoados e abatidos por exaustão sangüínea, quando foram colhidas amostras de fígado, para determinação dos teores de selênio e cobre. Os tecidos colhidos foram lavados com água destilada, acondicionados em sacos plásticos identificados e armazenados a -20° C.

4.4.1 – Tratamentos

Os tratamentos foram constituídos por dois níveis de selênio, dois níveis de enxofre e dois níveis de cobre, distribuídos de acordo com a tabela 1.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos utilizados no experimento

Tratamento	Selênio (ppm)	Cobre (ppm)	Enxofre (%)
Controle	0,2	8,0	0,25
T1	5,0	8,0	0,25
T2	0,2	8,0	0,37
T3	5,0	8,0	0,37
T4	0,2	25,0	0,25
T5	0,2	25,0	0,37
T6	5,0	25,0	0,25
T7	5,0	25,0	0,37

As misturas de vitaminas e minerais foram formuladas e confeccionadas especificamente para este experimento e pesadas em balanças de precisão, visando maior controle e segurança na ingestão destes nutrientes. Durante todo período experimental os animais receberam água "ad libitum", e ração formulada segundo as recomendações do NATIONAL RESEARCH COUNCIL para ovinos (1985).

Tabela 2. Composição da ração experimental, na matéria original

Ingredientes	%
Fubá de milho	55,3
Casca de algodão	25,0
Farelo de soja	16,5
Óleo de soja	1,0
Calcáreo calcítico	1,2
Vitaminas¹	0,5
Minerais²	0,5
Total	100

¹ 0,6 g de vitamina A (palmitato), 0,08 g de vitamina D₃ cristalina e 6 g de α - tocoferol (acetato) por quilograma de mistura vitamínica

² Varia conforme o tratamento

As dietas variaram nos teores de enxofre, cobre e selênio, chegando, em alguns tratamentos, aos níveis máximos (próximos ao tóxico), segundo o NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1985). Como na literatura existem poucos dados com interação tríplice, optou-se por níveis amplos dos minerais.

O enxofre suplementar foi fornecido na forma de flor de enxofre, o selênio na forma de selenito de sódio e o cobre na forma de sulfato de cobre, adicionados a pré-mistura mineral e posteriormente misturados com os demais alimentos formando uma ração completa.

4.4.2 – Balanço metabólico

Durante cinco dias, no final do período experimental, foi realizado um balanço de minerais com amostragem diária de alimentos, urina (5% do total diário) e fezes (10% do total diário), e armazenadas em congelador para posterior análise.

Figura 8: Animais nas gaiolas com bolsa para colheita de fezes e urina

As fezes foram colhidas com o auxílio de arreios com bolsas, forradas internamente com plástico, ficando presas aos animais, permitindo a colheita diária das fezes através de uma abertura com zíper na porção posterior, evitando assim que as fezes caíssem nos baldes destinados à coleta de urina.

4.4.3 - Análises

A água de bebida foi analisada para determinação do teor de selênio, cobre e enxofre, e a ração, analisada para determinação da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, matéria mineral, cálcio e fósforo (AOAC, 1990). As análises de selênio foram realizadas após a digestão úmida nítrico-perclórico e leitura fluorimétrica (OLSON et al. 1975), técnica que segundo STOWE e HERDT (1992), pode fornecer dados mais adequados para comparação entre laboratórios. Para a análise, os tecidos colhidos foram descongelados, tendo um fragmento separado, retirado sempre da mesma região do órgão, lavado em água destilada deionizada, seco em papel absorvente descartável e pesado em balança de precisão. Obteve-se portanto, os resultados na matéria original. Para obtenção dos resultados na matéria seca, foi retirado um fragmento de cada tecido, limpo, pesado e colocado em estufa a 105°C por 24 horas, depois colocado em dessecador até atingir a temperatura ambiente e novamente pesado, obtendo-se por regra de três, a porcentagem de matéria seca. Dividindo-se a concentração do mineral na matéria original pela respectiva porcentagem de matéria seca, obteve-se a concentração do mineral na matéria seca do tecido.

No caso do soro, este foi descongelado, e com o uso de pipetas volumétricas foram retirados dois mililitros para cada análise. Com a urina, o procedimento foi o mesmo, mas foram utilizados cinco mililitros de amostra. As fezes, que foram armazenadas individualmente por animal e por dia de colheita, após serem descongeladas, foram homogeneizadas e colocadas em bandejas, uma para cada animal, secas em estufa a 65°C com ventilação forçada por 72 horas, e então moídas e acondicionadas em sacos plásticos previamente identificados. Para a análise, o material (fezes) já seco e moído foi novamente homogeneizado e uma alíquota então retirada. O enxofre foi determinado por turbidimetria em sistema "Flow Injection Analysis" e o cobre foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica (equipamento Perkin Elmer).

4.4.4 – Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento estatístico foi do tipo blocos casualizados através do peso dos animais, sendo o arranjo dos tratamentos fatorial $2 \times 2 \times 2$, devido aos dois níveis de cada mineral em estudo, com quatro repetições por tratamento. Os dados foram analisados pelo pacote estatístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, 1988), analisando as variáveis através de contrastes pelo PROC GLM, para o estudo da relação entre os minerais selênio x enxofre x cobre. Na análise do fígado foi utilizado o valor da biópsia como covariável. Para os gráficos de superfície de resposta foi utilizado o programa Statistical. Foi adotado um nível de 5% de significância para todos os dados analisados.

5- RESULTADOS E DISCUSSÕES

O resultado da análise bromatológica das rações experimentais estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3: Análise Bromatológica das Rações Experimentais

	MS(%)	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	EE (%)	MM (%)	S (%)	Se mg/kg	Cu mg/kg
Contr.	89,16	16,46	48,68	20,38	3,85	3,70	0,256	0,18	8,13
Trat 1	88,96	16,57	48,82	20,85	3,32	3,77	0,262	4,42	8,00
Trat 2	89,52	16,38	48,53	21,05	3,96	3,80	0,375	0,27	8,16
Trat 3	90,01	16,81	49,12	20,89	3,21	3,75	0,381	4,73	7,98
Trat 4	89,29	16,32	48,93	20,55	3,94	3,82	0,265	0,29	25,15
Trat 5	88,99	16,53	48,55	21,06	3,86	3,85	0,378	0,27	24,97
Trat 6	90,10	16,48	47,99	20,28	3,82	3,79	0,267	4,39	25,17
Trat7	89,91	16,57	48,35	20,44	3,75	3,85	0,385	4,84	25,27

Onde:

MS = Matéria Seca a 105°C

PB = Proteína Bruta

FDN = Fibra em Detergente Neutro

FDA = Fibra em Detergente Ácido

EE = Extrato Etéreo

MM = Matéria Mineral

S = Enxofre

Se = Selênio

Cu = Cobre

Os resultados da análise bromatológica estão bem próximos aos níveis desejados para os minerais em estudo.

5.1- Concentração de selênio no soro

Na tabela 4 e no gráfico 1 estão apresentadas as concentrações médias de selênio no soro dos animais, durante o período experimental.

Tabela 4: Concentração de Selênio no Soro Sanguíneo

Tratamentos	Concentração de Selênio (mg/L)			
	0	30 dias	60 dias	90 dias
Controle	0,098	0,097 ^a	0,076 ^a	0,116 ^a
Tratamento 1	0,078	0,218 ^b	0,386 ^b	0,667 ^b
Tratamento 2	0,093	0,095 ^a	0,086 ^a	0,102 ^a
Tratamento 3	0,078	0,145 ^c	0,369 ^b	0,597 ^c
Tratamento 4	0,093	0,097 ^a	0,094 ^a	0,121 ^a
Tratamento 5	0,093	0,101 ^a	0,077 ^a	0,108 ^a
Tratamento 6	0,086	0,186 ^b	0,356 ^b	0,697 ^b
Tratamento 7	0,089	0,145 ^c	0,280 ^c	0,483 ^d
Desvio Padrão	0,0106	0,0567	0,147	0,262

Letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente ($P < 0,05$)

Gráfico 1: Concentração de selênio no soro de cordeiros nas quatro colheitas durante o período experimental.

Os níveis de selênio no soro observados neste trabalho no início do período experimental podem ser considerados normais segundo STOWE e HERD (1992). Através de contrastes foi estudada a interação entre os fatores tratamentos e tempo (colheitas de sangue) e foram obtidos os seguintes resultados: não houve diferença significativa nos níveis de selênio no soro dos animais que receberam 0,2 mg Se /kg de MS, ao longo do tempo, independente do nível de enxofre e cobre da dieta. Resultado semelhante foi encontrado por BRISOLA (2000). Para os animais dos tratamentos que recebiam 5 mg de Se/kg de MS houve diferença entre os tempos. Com trinta dias após o início do experimento, os animais dos tratamentos 5 ppm Se, 8 ppm Cu, 0,25% S e 5 ppm Se, 25 ppm Cu, 0,25% S apresentaram níveis de selênio no soro significativamente superiores aos demais, entretanto o mesmo não pode ser dito aos sessenta dias de experimento, onde apenas os animais do tratamento 5 ppm Se, 25 ppm Cu 0,37% S apresentavam níveis de selênio no soro inferior aos grupos que recebiam a mesma quantidade diariamente (5 ppm). Aos 90 dias, os animais dos tratamentos 5 ppm Se, 8 ppm Cu, 0,37% S e 5 ppm Se, 25 ppm Cu e 0,37% S apresentaram níveis de selênio significativamente diferentes entre si, e também inferiores aos outros dois tratamentos, que receberam 5 ppm de selênio.

ECHEVARRIA et al. (1988), trabalhando com cordeiros, verificaram no grupo controle concentração de selênio no soro de 0,09 mg/L e no grupo suplementado com 9 mg Se/kg na matéria seca da dieta, uma concentração de Se de 0,25 mg/L, 30 dias após o início da suplementação. Foi verificado que a concentração de selênio no soro aumentou linearmente como aumento de selênio na dieta.

HENRY et al. (1988), verificaram que ao adicionar 6 mg de Se na forma de selenito de sódio por quilo da ração, na matéria seca, durante 30 dias, houve um aumento na concentração de selênio no soro passando de 0,09 mg/L para 0,22 mg/L, sendo estes valores semelhantes aos encontrados no presente experimento no mesmo período de tempo, para os animais suplementados com 5 mg Se/kg ração. VAN RYSEN et al. (1998), encontraram concentração inicial de Se no plasma de cordeiros de 0,054 mg/L e após suplementação com selenato de sódio nos níveis 0,35; 0,88 ou 1,34 mg de Se durante 74 dias,

obtiveram as seguintes concentrações respectivas aos tratamentos; 0,125, 0,150 e 0,160 mg/L, sendo que a adição de enxofre 2 g/ kg ração na base seca, não mostrou efeito significativo na concentração de selênio no plasma.

Embora existam algumas controvérsias na literatura, neste trabalho pode ser observado que de fato existe uma interação tríplice entre os minerais enxofre, cobre e selênio para níveis de selênio no soro, sendo que, com alto nível de enxofre na dieta (0,37%) o aumento no nível de selênio sérico foi menos expressivo, sendo que este aumento foi ainda menos acentuado quando a dieta possuía valores elevados de enxofre e cobre: 0,37% e 25 ppm respectivamente.

5.2 Concentração de selênio no fígado

Os gráficos 2, 3 e 4 ilustram a interação entre os minerais em estudo, com relação ao acúmulo de selênio no fígado.

Gráfico 2: Concentração de selênio no fígado em função dos níveis de selênio e cobre na dieta.

Gráfico 3: Concentração de selênio no fígado em função dos níveis de selênio e enxofre na dieta.

Gráfico 4: Concentração de selênio no fígado em função dos níveis de cobre e enxofre na dieta.

Através da análise estatística, e analisando os gráficos, é possível verificar que o aumento no nível de enxofre teve efeito antagônico ao acúmulo de selênio no fígado, enquanto que o aumento no nível de cobre contribuiu para um maior acúmulo de selênio no fígado. A interação tríplice também foi significativa ($P < 0,05$), sendo o acúmulo menos pronunciado, quando o nível de selênio era alto, porém com baixo nível de cobre e alto nível de enxofre.

Os teores médios de selênio no fígado (base seca) estão próximos a 5 mg/kg nos animais dos tratamentos que recebiam 0,2 mg/kg de selênio, resultado superior aos obtidos por ECHEVARRIA et al. (1988), que obtiveram 4,5 mg/kg utilizando os mesmos teores de selênio, mas com níveis de cobre inferiores. BRISOLA (2000), suplementando carneiros com 5 mg/kg de selênio durante 90 dias, obteve uma concentração de selênio no fígado de 40 mg/kg, sendo superior ao encontrado no presente experimento, onde a concentração máxima obtida foi de 32 mg/kg.

VAN RYSEN et al. (1998), verificaram que até mesmo os níveis de selênio em bactérias do rúmen diminuem quando há suplementação de enxofre na dieta. Baseado nestas informações é possível afirmar que há efeito do enxofre sobre o selênio, e neste mesmo trabalho, também foi verificado que o aumento na ingestão de cobre resulta em um significativo aumento no acúmulo de selênio no fígado de cordeiros. Este sinergismo entre cobre e selênio são confirmados pelos resultados de WHITE e SOMERS (1977) e HARTMANN e VAN RYSEN (1997). No trabalho de DEOL et al. (1994), assim como no presente trabalho, também foi observado que o elevado teor de cobre teve por consequência um aumento nos níveis de selênio hepático.

UNDERWOOD (1981), propôs como uma das formas de combater intoxicação por selênio o uso de elementos antagônicos, visando diminuir sua disponibilidade nos tecidos, bem como a absorção no trato digestivo. Podemos afirmar, inclusive em concordância com a maioria dos trabalhos, que de fato, o enxofre pode ser considerado um elemento antagônico ao selênio, sendo o responsável por minimizar a concentração de selênio no fígado, podendo ser utilizado como antagonista para evitar possíveis intoxicações em regiões com altas concentrações de selênio nas pastagens,

enquanto o alto nível de cobre pode causar problemas, uma vez que ele contribui para um maior acúmulo de selênio no fígado, porém o enxofre e o cobre em altas concentrações na dieta podem ser uma alternativa interessante devido a interação tríplice.

5.3 Balanço de Selênio

Os gráficos 5 e 6 são referentes ao balanço de selênio, verificando a quantidade de selênio nas fezes em porcentagem do ingerido, em função da interação dos minerais em estudo.

Gráfico 5: Concentração de selênio nas fezes em porcentagem do ingerido, em função dos níveis de selênio e cobre na dieta.

Gráfico 6: Concentração de selênio nas fezes em porcentagem do ingerido, em função dos níveis de selênio e enxofre na dieta.

Através da análise estatística e visualizando os gráficos, é possível afirmar que o aumento no nível de enxofre ou cobre provoca um aumento significativo ($P < 0,05$) na quantidade de selênio eliminado pelas fezes em porcentagem do ingerido, com níveis baixos de selênio na dieta, sendo que em níveis altos de selênio na dieta, predominou a interação tríplice que foi significativa e provocou um aumento na excreção de selênio pelas fezes. O gráfico da interação entre enxofre e o cobre não foi apresentado, porque não houve interação significativa entre esses minerais que influenciasse na quantidade de selênio nas fezes, em porcentagem do ingerido.

A quantidade de selênio nas fezes dos animais que receberam nível elevado do mineral é superior aos animais que receberam nível normal, porém, quando se faz análise em porcentagem do ingerido isso nem sempre ocorre.

BRISOLA (2000), verificou que os animais que receberam 5 ppm de Se, mas não receberam enxofre suplementar, apresentaram uma maior excreção de Se pelas fezes. No presente trabalho, quando havia nível de Se (5

ppm) na dieta, o enxofre suplementar (0,37% S) causou decréscimo na quantidade do mineral eliminado pelas fezes. É importante lembrar que as fezes são a principal forma de excreção em ruminantes, quando o selênio é fornecido na dieta (KRISHNAMURTY et al. 1997). KOENIG et al. (1997), verificaram que também existe diferença na forma de excreção, dependendo da dieta (concentrado ou forragem), mostrando que em dietas com concentrado aumenta a excreção pela urina, apesar das fezes continuarem sendo a principal via. HUDMAN e GLEN (1984, 1985), verificaram que a composição da dieta em forragem ou concentrado, influencia no ambiente ruminal, pH e população de microrganismos, existindo evidências que culturas de *Selenomonas ruminantium*, em maior concentração em dietas com concentrado, incorporam selênio em selenoaminoácidos, melhorando a taxa de absorção de selênio.

LANGLANDS et al. (1986), afirmaram que foi evidente o aumento na excreção fecal de selênio em ovinos com nível elevado do mineral na dieta, e esse aumento permaneceu por algumas semanas após a volta ao nível normal de selênio na dieta.

Podemos dizer portanto, que o alto nível de enxofre e cobre no suplemento mineral pode ser importante em pastagens que causam intoxicação por selênio, pois como visto, eles contribuíram para uma maior eliminação pelas fezes.

Os gráficos 7 e 8 são referentes ao balanço de selênio, verificando a quantidade de selênio eliminado pela urina em porcentagem do ingerido, em função da interação entre os minerais Se X S x Cu.

Gráfico 7: Concentração de selênio na urina em porcentagem do ingerido, em função dos níveis de selênio e cobre na dieta.

Gráfico 8: Concentração de selênio na urina em porcentagem do ingerido, em função dos níveis de enxofre e cobre na dieta.

A análise estatística mostrou interação significativa entre Cu x S ($P < 0,07$) e Se x Cu ($P < 0,0001$), sendo possível verificar pelo gráfico 7 que ocorreu uma maior eliminação de selênio pela urina, em porcentagem do ingerido, quando os animais receberam dietas com alto cobre e baixo selênio ou alto selênio e baixo cobre. Já a interação do enxofre com o cobre tendeu a aumentar a eliminação de selênio pela urina, como pode ser analisado no gráfico 8. Não foi verificada interação significativa entre selênio e enxofre na quantidade de selênio eliminado pela urina, por isso o gráfico não foi apresentado.

LANGLANDS et al. (1986), encontraram grandes variações nos resultados em ovinos suplementados com alto nível de selênio, atribuindo esta variabilidade à liberação de selênio dos tecidos, quando a concentração entrou em equilíbrio com a quantidade ingerida. BRISOLA (2000), afirmou que a quantidade de selênio eliminada pela urina quando o mineral foi fornecido em nível alto (5 ppm) foi significativamente superior à observada nos animais com nível normal, no entanto, neste trabalho não foi encontrada diferença na porcentagem de selênio eliminado pela urina em função do ingerido.

KOENIG et al. (1997), alimentando cordeiros com concentrado contendo 0,27 mg Se/kg (base seca) verificaram que houve eliminação de selênio pela urina de 32,8% em relação ao ingerido, valores próximos aos obtidos neste experimento, para os animais suplementados com 0,2 mg Se e 8 mg de cobre.

Podemos afirmar que neste trabalho, a urina foi uma importante via de excreção, concordando com LANGLANDS et al. (1986), que verificaram aumento na excreção urinária de selênio em animais com elevado nível sérico, e também com BRISOLA (2000), embora seus resultados tenham sido um pouco superiores. Porém, estes dados são discordantes da maioria dos observados na literatura, possivelmente porque a maioria dos trabalhos foram realizados com níveis inferiores na dieta (ZANETTI et al. 1987; ZANETTI e PETTINATI, 1991; KRISHNAMURTY et al. 1997). Com base nos resultados, podemos afirmar novamente, que o aumento de enxofre e cobre na dieta pode ser uma alternativa interessante para evitar intoxicação por selênio em regiões onde existe o problema, uma vez que eles contribuem para maior eliminação de selênio pela urina.

Os gráficos 9, 10 e 11 são referentes a interação entre Se x S x Cu, em relação ao Selênio absorvido.

Gráfico 9: Efeito da interação entre os minerais Se x Cu sobre a porcentagem de selênio absorvido.

Gráfico 10: Efeito da interação entre os minerais Se x S sobre a porcentagem de selênio absorvido.

Gráfico 11: Efeito da interação entre os minerais S x Cu sobre a porcentagem de selênio absorvido.

A interpretação dos resultados é complexa uma vez que estamos trabalhando com três minerais com possíveis interações, mas baseado na análise estatística e na visualização dos gráficos 9, 10 e 11, podemos dizer que de fato houve uma interação tríplice ($P < 0,001$) entre os minerais Se x S x Cu, sendo possível afirmar que ao elevar o nível de cobre e enxofre da dieta, ocorreu um decréscimo na porcentagem de Se absorvido, mas cabe uma importante observação, que ao elevar apenas a concentração do cobre ou do enxofre na dieta ocorreu uma maior absorção do selênio como pode ser visto nos gráficos 9 e 10 respectivamente.

Os gráficos 12, 13 e 14 são referentes a interação entre Se x S x Cu, em relação ao selênio retido.

Gráfico 12: Efeito da interação entre os minerais Se x S sobre a porcentagem de selênio retido.

Gráfico 13: Efeito da interação entre os minerais Se x Cu sobre a porcentagem de selênio retido.

Gráfico 14: Efeito da interação entre os minerais Cu x S sobre a porcentagem de selênio retido.

Para selênio retido também foi verificado uma interação significativa ($P < 0,001$), mostrando que o aumento da concentração de enxofre e cobre na dieta tem efeito negativo sobre a porcentagem de selênio retido, mostrando que de fato existe a interação tríplice. O aumento no nível de cobre tende a aumentar o selênio retido, inclusive como visto na análise de fígado ocorreu aumento na concentração de selênio hepático, sendo estes resultados interessantes para regiões com baixa disponibilidade de selênio.

O selênio nas fezes ficou próximo do observado por ZANETTI et al. (1987), porém o eliminado na urina foi bem superior, mas de acordo com LANGLANDS et al. (1986), há um aumento na excreção urinária de selênio em animais com elevado selênio sérico e também em função do tempo e dos níveis aos quais o animal é submetido. BRISOLA (2000), fornecendo 5 ppm de selênio para cordeiros encontrou resultados semelhantes ao deste experimento para Se retido, nos animais que também receberam 5 ppm.

Conforme visto, alguns dados deste trabalho discordam dos encontrados na literatura, mesmo porque nenhum dos trabalhos citados utilizaram interações com níveis tão elevados de selênio, enxofre e cobre. No entanto, é interessante ressaltar que não foi verificado qualquer prejuízo no desempenho dos animais, nem mesmo sinal clínico de deficiência ou toxicidade do selênio nos diferentes tratamentos, sendo o conhecimento desta interação muito importante para técnicos que atuam em nutrição, principalmente em regiões seleníferas.

5.4 Concentração de cobre no fígado

Os gráficos 15 e 16 são referentes ao acúmulo de cobre no fígado, relacionado com a interação entre os minerais em estudo.

Gráfico 15: Efeito da interação entre os minerais Cu x S sobre o nível de cobre no fígado.

Gráfico 16: Efeito da interação entre os minerais Se x CU sobre o nível de cobre no fígado.

Através da análise estatística e observando os gráficos é possível afirmar que existe efeito antagônico do selênio e do enxofre sobre o acúmulo de cobre no fígado, inclusive ocorrendo interação tríplice ($P < 0,05$), mostrando que ao elevar o nível de selênio e enxofre na dieta ocorreu redução no nível de cobre hepático. VAN RYSEN et al. (1998), apesar de utilizarem dosagens inferiores de enxofre e cobre, quando comparadas ao presente experimento, também verificaram que ao adicionar enxofre houve redução na concentração do cobre hepático, sendo o efeito mais pronunciado quando a concentração de cobre na dieta era alto.

Trabalhos como o de SOLOMON et al. (1991), mostraram o efeito antagônico do enxofre sobre a absorção de cobre e sobre o nível de cobre hepático, concluindo que o enxofre, em doses elevadas, diminui o acúmulo de cobre no fígado.

O nível de cobre no fígado considerado normal varia de 100 a 400 ppm (base seca), de acordo com McDOWELL (1992). No presente experimento, os valores encontrados foram superiores, chegando até a 2000

ppm, no entanto, apenas um animal apresentou sinal de intoxicação (anorexia e hemoglobinúria) e no abate foi verificado que os rins estavam com sua anatomia alterada (figura 9), sendo que este animal pertencia ao tratamento com 5 ppm Se, 25 ppm Cu e 0,25% S.

Variações consideráveis têm sido relatadas com relação à tolerância ao cobre por várias espécies de ruminantes, e algumas variações existem entre animais de raças diferentes e até mesmo individuais (UNDERWOOD, 1999). O cavalo parece ser, entre os animais domésticos, o mais resistente à intoxicação por cobre. A diferença entre ruminantes e não ruminantes quanto ao alto nível de cobre é determinada principalmente pela diferença no metabolismo do enxofre (McDOWELL, 1992). Em suínos e aves tem sido rotineiramente utilizado 100 a 250 ppm Cu (CuSO_4) como agente microbiano e promotor de crescimento, entretanto, para bovinos e ovinos altas dosagens causam intoxicação.

DOVE e EWAN (1990), verificaram intoxicação crônica em cordeiros recebendo 20 ppm de cobre, porém com níveis muito baixos de molibdênio na dieta. BRISOLA (2000), embora utilizando níveis inferiores de cobre e enxofre na dieta, em relação ao presente trabalho, obteve alta concentração de cobre no fígado, chegando até a 1364 mg/kg (base seca), sem que os animais apresentassem qualquer sinal de intoxicação. Neste mesmo trabalho, utilizando alto nível de selênio (5 ppm) não foi verificado efeito significativo sobre o nível de cobre no fígado.

A maioria dos trabalhos tem mostrado que a forma mais eficiente para reduzir a concentração de cobre hepático é através da interação Cu/S/Mo, como mostra o trabalho de VAN RYSSSEN et al. (1986), onde houve uma redução de 30% na concentração de cobre hepático em cordeiros recebendo 42 mg de Mo em conjunto com 5 mg Cu e 3,9 g de S; e o de POTT et al. (1999), que concluíram que dietas com valores de molibdênio próximo a 45 mg em conjunto com 2,2 g de enxofre, podem ser usadas para reduzir a concentração de cobre hepático.

Têm sido indicadas dietas com alto nível de molibdênio ou um aumento de molibdênio e enxofre nos concentrados comerciais para cordeiros, tentando prevenir ou controlar o acúmulo de cobre hepático, dependendo da

dieta que o animal esteja recebendo (HIDROGLOU et al. 1984; NIEDERMAN et al. 1987)

Pelos resultados obtidos no presente experimento, não podemos tirar conclusões sobre a influência do molibdênio na concentração de cobre hepático, mas podemos afirmar que o enxofre e o selênio reduziram a concentração de cobre no fígado, principalmente dos animais recebendo 25 ppm de cobre, talvez sendo os responsáveis por evitar a intoxicação nos animais, uma vez que esta inclusão de cobre na dieta é considerada alta para cordeiros.

5.5- Concentração de cobre no soro sanguíneo

Tabela 5: Concentração de Cobre no Soro Sanguíneo

Tratamentos	Concentração de Cobre (mg/L)			
	0	30 dias	60 dias	90 dias
Controle	0,783	0,972 ^a	1,015 ^a	1,166 ^a
Tratamento 1	0,567	0,849 ^a	0,955 ^a	1,046 ^a
Tratamento 2	0,744	0,931 ^a	1,025 ^a	1,248 ^a
Tratamento 3	0,695	0,910 ^a	1,104 ^a	1,244 ^a
Tratamento 4	0,872	0,948 ^a	1,352 ^b	2,261 ^b
Tratamento 5	0,801	0,887 ^a	1,090 ^a	1,216 ^a
Tratamento 6	0,878	0,919 ^a	0,958 ^a	1,113 ^a
Tratamento 7	0,739	0,845 ^a	1,315 ^b	1,138 ^a
Desvio Padrão	0,1358	0,0963	0,1796	0,4138

Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente (P<0,05)

Gráfico 17: Níveis de cobre no soro de cordeiros nas quatro coletas durante o período experimental.

Através do gráfico 17, é possível verificar um aumento na concentração de cobre no soro no decorrer do tempo, sendo que no tratamento com nível normal de selênio (0,2 ppm), enxofre (0,25%) e com alto nível de cobre (25 ppm) na dieta, a concentração de cobre no soro teve um aumento mais pronunciado, principalmente aos 90 dias, diferindo significativamente ($P < 0,05$) dos demais tratamentos. Pode-se deduzir que o elevado nível de selênio e/ou enxofre evitou grandes aumentos na concentração de cobre no soro, e essas alterações no nível do cobre após suplementação com selênio já foram observadas anteriormente em outros trabalhos, causando redução na concentração, em bezerros (AMER et al. 1973). AHMAD et al. (1995), em experimento com cordeiros recebendo silagem de sorgo fertilizado ou não com enxofre, observaram que utilizando a silagem mais rica em enxofre, a absorção

e retenção aparentes foram reduzidas em mais de 50% quando comparadas às do tratamento sem fertilização com enxofre.

Neste experimento, é importante ressaltar que para todos os tratamentos, exceto 5 ppm Se, 25 ppm Cu e 0,37% S, a concentração de cobre no soro foi crescente até os 90 dias, não ocorrendo retorno a concentrações próximas às iniciais, como o observado por LEÓN et al. (2000), que verificaram um aumento na concentração de cobre hepático ao suplementar ovinos com elevados níveis de cobre, porém, abaixo do nível tóxico. Houve um aumento na concentração de cobre no soro de 0,7 ppm para 1,20 ppm, sendo que após 30 dias, esta concentração começou a declinar, e aos 180 dias retornou à concentração inicial, indicando portanto, uma possível adaptação dos animais através de uma menor absorção.

A concentração de cobre no soro no início do período experimental são semelhantes aos níveis normais encontrados na literatura, inclusive semelhante aos obtidos por BRISOLA (2000), porém, aos 90 dias, esta concentração ficou superior, o que pode ser explicado pelo fornecimento de uma maior quantidade de cobre na dieta, mas apenas o tratamento 4 apresentou valor superior ao máximo considerado normal que é de 1,5 mg/L (McDOWELL, 1992).

LAMAND (1989), encontrou efeito antagônico do enxofre e do molibdênio sobre o cobre, quando fornecidos a cordeiros, verificando que o enxofre na forma elementar gerou interação mais significativa sobre o cobre do que na forma de sulfato, provavelmente em função da maior capacidade do enxofre elementar de gerar sulfitos rapidamente no ambiente ruminal, possibilitando maior formação de tiomolibdatos, mas para que a interação ocorra é necessário um nível mínimo de molibdênio.

ARTHINGTON et al. (1995), induziram a deficiência de cobre em novilhas através de suplementação com 0,3% de enxofre, além de suplementar molibdênio, pois estes três minerais (S,Cu,Mo) interagiram formando tiomolibdato no rúmen, deixando o cobre indisponível para absorção. POTT et al. (1999), verificaram que cordeiros recebendo dietas com alto nível de enxofre, suplementados com molibdênio e recebendo níveis normais de cobre, apresentaram redução na concentração de cobre no soro.

Em experimento realizado com pôneis, STOWE (1980), forneceu doses elevadas de selênio via oral (8 mg/kg de peso vivo), e observou que os animais que receberam suplementação oral de cobre 24 horas antes de receberem a dose de selênio, não apresentaram sinais de intoxicação, porém os animais que receberam dose elevada de selênio e não foram tratados previamente com cobre morreram em 36 horas. Eles também puderam observar que o cobre suplementar não alterou a absorção de selênio, mas acelerou o desaparecimento do selênio no soro.

VAN RYSEN et al. (1998), utilizaram níveis de cobre 6,7 e 17 mg/kg e enxofre suplementar de 2,15 e 3,97 g, valores inferiores ao utilizado no presente trabalho, onde o nível de cobre utilizado foi de 8,0 e 25,0 mg/kg e enxofre de 3,0 e 4,4 g, concluíram que a adição de enxofre na dieta tende a reduzir a concentração de cobre no plasma.

A quantidade de cobre recomendada para a dieta de ovinos (8 a 10 ppm) encontrada na literatura (NRC, 1985; AFRC, 1997; UNDERWOOD, 1999) precisa ser melhor estudada, já que muitos trabalhos têm mostrado que dosagens mais elevadas podem ser necessárias, principalmente devido às interações com outros minerais.

5.6- Quantidade de cobre absorvido

Tabela 6. Quantidade de Cu ingerido e absorvido em mg durante os cinco dias de colheita

Tratamento	Cu ingerido (mg)	Cu absorvido (mg)	Desvio Padrão
Controle	43,49	2,67 ^a	0,85
Tratamento 1	42,80	2,22 ^a	0,88
Tratamento 2	43,65	0,74 ^b	0,28
Tratamento 3	42,69	0,43 ^c	0,17
Tratamento 4	134,55	3,66 ^d	1,07
Tratamento 5	133,59	1,68 ^e	0,53
Tratamento 6	134,66	2,98 ^f	0,95
Tratamento 7	135,19	1,57 ^e	0,39

Letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente (P<0,05)

Trat C: 0,2ppm Se, 8ppm Cu, 0,25% S

Trat 1: 5ppm Se, 8ppm Cu, 0,25% S

Trat 2: 0,2ppm Se, 8ppm Cu, 0,37% S

Trat 3: 5 ppm Se, 8ppm Cu, 0,37% S

Trat 4: 0,2ppm Se, 25ppm Cu, 0,25% S

Trat 5: 0,2ppm Se, 25ppm Cu, 0,37% S

Trat 6: 5ppm Se, 25ppm Cu, 0,25% S

Trat 7: 5ppm Se, 25ppm Cu, 0,37% S

Gráfico 18: Porcentagem de Cu absorvido

Pelo gráfico é possível perceber que ao elevar a quantidade de selênio na dieta houve uma tendência de decréscimo na porcentagem de Cu absorvido, porém, com aumento nos níveis de Se e S para 5 ppm e 0,37%, respectivamente, esse decréscimo foi significativo ($P < 0,05$).

Alguns trabalhos de revisão da literatura mostram que apesar do selênio e do enxofre serem capazes de diminuir a disponibilidade do cobre, a suplementação com molibdênio é necessária para evitar a intoxicação dos animais que recebem altos níveis de cobre na dieta (McDOWELL, 1992; SUTTLE, 1993). O tipo da dieta também pode interferir na absorção do cobre, já que dietas com grande quantidade de concentrado têm uma maior taxa de passagem pelo rúmen, diminuindo a formação de tiomolibdatos, não alterando, como esperado, a absorção de cobre.

QI et al. (1993), chegaram a utilizar níveis de enxofre na dieta de 0,34% e não observaram efeitos sobre os níveis de cobre sérico em cabras. A hipótese levantada foi que a partir de determinada concentração de sulfito no

líquido ruminal, não haveria mais diminuição na disponibilidade de cobre, e também um nível mínimo de molibdênio seria necessário para formação de complexos que deixasse o cobre indisponível.

POTT et al. (1999), suplementando carneiros com 11 ppm de cobre para verificar a possível interação entre Cu e Mo, encontraram uma excreção média nas fezes de 6,4 mg/dia, e na urina de 576 µg/dia, mostrando que as fezes são a principal via de excreção para o cobre. Neste experimento o molibdênio não influenciou a absorção do cobre. HIDROGLOU et al. (1984), relataram aumento na excreção fecal de cobre em cordeiros, quatro dias após o início da suplementação de um suplemento de S/Mo.

A excreção de cobre na urina de cordeiros aumentou em resposta ao aumento na suplementação de molibdênio de 5 para 25 mg/dia, mas apenas quando adicionado 1,1 g/dia de enxofre na dieta basal que já possuía 5,5 mg de Cu e 1,1 g de S (WEBER et al. 1983).

Portanto, podemos dizer que independente da concentração de Cu na dieta (8 ou 25 ppm) a absorção foi reduzida pela alta concentração de Se, sendo este declínio significativo com altas concentrações de S e Se na dieta.

Quadro 1: Resumo da interação entre os minerais selênio, enxofre e cobre na dieta de cordeiros

Minerais na dieta	Resposta Fisiológica			
	Soro	Fígado	Urina	Fezes
↑ Se	↑Se ↓Cu	↑Se ↓Cu	↑Se	↑Se
↑ Cu	↑Se ↑Cu	↑Se ↑Cu	↓Se	↓Se ↑Cu
↑ S	↓Se ↓Cu	↓Se ↓Cu	ns	↓Se ↓Cu
↑ Cu ↑ S	↓Se	↓Se	↑Se	↑Se
↑ Se ↑ S	↓Cu	↓Cu	ns	↑Cu

ns: não houve resultado significativo ($P < 0,05$)

5.7- Desempenho dos animais

Na Tabela 7 estão o peso final e a média do ganho de peso diário dos animais durante o período experimental

Tabela 7. Ganho de peso diário

Tratamento	Peso Final (kg)	Ganho de peso diário (g)
Controle	48,18	234,22
Tratamento 1	47,98	227,27
Tratamento 2	45,99	209,98
Tratamento 3	47,68	220,56
Tratamento 4	45,82	221,5
Tratamento 5	50,58	236,17
Tratamento 6	47,83	220,74
Tratamento 7	48,51	233,33

Trat C: 0,2ppm Se, 8ppm Cu, 0,25% S

Trat 1: 5ppm Se, 8ppm Cu, 0,25% S

Trat 2: 0,2ppm Se, 8ppm Cu, 0,37% S

Trat 3: 5 ppm Se, 8ppm Cu, 0,37% S

Trat 4: 0,2ppm Se, 25ppm Cu, 0,25% S

Trat 5: 0,2ppm Se, 25ppm Cu, 0,37% S

Trat 6: 5ppm Se, 25ppm Cu, 0,25% S

Trat 7: 5ppm Se, 25ppm Cu, 0,37% S

Gráfico 19: Ganho de peso em gramas/animal/dia

Em todos os tratamentos os animais tiveram um bom desempenho. Os animais do tratamento 5, que receberam concentrações elevadas de S (0,37%) e Cu (25 ppm) apresentaram o melhor desempenho, diferindo ($P < 0,05$) dos demais, em contrapartida, os animais do tratamento 2, que receberam ração com alta concentração de S, mas concentrações normais de Se e Cu tiveram o desempenho prejudicado em relação aos demais tratamentos, apesar do resultado ser bom para criação de ovinos.

BRISOLA (2000), também trabalhando com carneiros utilizando ração semelhante à do presente experimento, porém alterando apenas as concentrações de Se e S, não obteve diferença de ganho de peso entre os tratamentos e os seus resultados foram inferiores (133 g/animal/dia) aos obtidos neste trabalho (225 g /animal/dia). JENKINS e HIDIROGLOU (1986), encontraram efeitos adversos sobre o crescimento somente quando forneceram sucedâneo com 10 mg/kg de selênio, não havendo nenhum efeito prejudicial quando os animais receberam sucedâneo com 5 mg/kg de selênio.

BOILA e GOLFMAN (1991), observaram que o sulfato é um fator limitante para a síntese de proteína microbiana no rúmen, principalmente quando os animais são alimentados com forragens de baixa qualidade, podendo prejudicar o desempenho. HUME e BIRD (1970), verificaram que a síntese de proteína no rúmen aumentou de 82,1 para 86,9 g/dia, quando a quantidade de enxofre da dieta foi aumentada de 0,075 para 0,237%.

AMMERMAN et al. (1995), verificaram um aumento no ganho de peso de novilhos quando houve adição de sulfato de sódio, aumentando a concentração de enxofre de 0,05 para 0,13%. BOUCHARD e CONRAD (1973), observaram que quando o enxofre proveniente do sulfato de cálcio excedia 0,3%, vacas leiteiras reduziram a ingestão de alimentos. JOHNSON et al. (1971), relataram que a adição de 0,5% de sulfato de cálcio prejudicou o ganho de peso de cordeiros.

De acordo com McDOWELL (1992), a necessidade de enxofre para ruminantes em regime de pastejo está entre 0,10 e 0,32%.

No presente trabalho foi possível verificar que o melhor desempenho foi obtido pelos animais suplementados com 0,2 mg/kg de selênio e 0,37% S, mas com uma maior suplementação de cobre (25 mg/kg).

5.8- Hematócrito total

Os valores de hematócrito obtidos estão normais, de acordo com a literatura.

Tabela 8. Valores de Hematócrito (%)

Tratamento	Hematócrito Total (%)			
	0	30 dias	60 dias	90 dias
Controle	37	34 ^c	36 ^a	39 ^a
Tratamento 1	34	36 ^a	38 ^a	38 ^a
Tratamento 2	36	39 ^b	41 ^b	39 ^a
Tratamento 3	35	37 ^a	39 ^a	39 ^a
Tratamento 4	36	36 ^a	37 ^a	40 ^a
Tratamento 5	36	37 ^a	39 ^a	39 ^a
Tratamento 6	36	36 ^a	37 ^a	34 ^b
Tratamento 7	36	34 ^c	36 ^a	37 ^a
Desvio Padrão	1,93	2,29	2,25	4,43

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente ($P < 0,05$)

Gráfico 20: Valores de Hematócrito (%)

No tratamento 2, o hematócrito aumentou aos 30 e 60 dias, diferindo significativamente ($P < 0,05$) dos demais. Para o tratamento controle e tratamento 7, houve um declínio aos 30 dias, sendo esta diferença significativa ($P < 0,05$). Aos 90 dias, apenas o tratamento 6 diferiu significativamente dos demais, havendo diminuição no hematócrito total, inclusive em um animal onde foi detectada intoxicação por cobre decorrente do tratamento, este declínio foi mais acentuado, chegando a 19%. A figura 9 mostra os rins deste animal após o abate, revelando que de fato o animal estava intoxicado por cobre.

O nível tóxico de selênio não causou alterações significativas no hematócrito total, já a alta concentração de enxofre (0,37%), mas com níveis normais de cobre e selênio, como pode ser visualizado no gráfico 20 através do tratamento 2, apenas elevou a porcentagem de células sanguíneas aos 30 e 60 dias, porém dentro dos valores considerados normais (27 a 45%). Em caso de anemia o valor cai para menos de 25%, enquanto que em desidratação pronunciada pode elevar-se para mais de 45% (ROSEMBERG, 1987).

A alteração nas células sanguíneas é um dos primeiros sintomas da intoxicação por selênio, sendo que no presente trabalho isto não ocorreu. JENKINS e HIDIROGLOU (1986), observaram que alterações no hematócrito de bezerros na fase de aleitamento ocorreram quando os animais receberam sucedâneo com 10 mg/kg de selênio, sendo que em até 5 mg/kg de selênio no sucedâneo não existiram alterações nas células sanguíneas.

A quantidade de hemácias presente no sangue é um indicador de grande importância na avaliação clínica dos indivíduos; o hematócrito é portanto, um indicador indireto da capacidade do sangue transportar oxigênio aos tecidos (CANZIANI, 2000).

Foi possível verificar que, apesar dos diferentes tratamentos, inclusive com concentrações elevadas dos minerais em estudo, os animais apresentaram níveis de hematócrito total normais em todo período experimental, com exceção do animal onde foi detectada intoxicação por cobre aos 90 dias após o início do experimento.

Figura 9: Fotografia mostrando um rim normal na parte inferior da foto, e o rim de um cordeiro intoxicado por cobre na parte superior.

6 – CONCLUSÕES

A suplementação com níveis elevados de enxofre e cobre na dieta teve efeito antagônico sobre o nível de selênio sérico, em animais recebendo níveis considerados tóxicos desse mineral.

O aumento no nível de enxofre contribuiu para uma menor concentração de selênio no fígado, efeito contrário foi obtido ao elevar o nível de cobre, mas a interação tríplice foi significativa e reduziu selênio hepático.

A suplementação com níveis elevados de enxofre e cobre foi capaz de aumentar a excreção de selênio pelas fezes e urina, mostrando ser uma alternativa interessante para evitar intoxicação por selênio em regiões seleníferas.

O aumento nos níveis de selênio e enxofre da dieta reduziu a concentração de cobre no fígado, talvez sendo o responsável por evitar a intoxicação por cobre em animais recebendo níveis considerados tóxicos desse mineral.

Durante o período experimental não foram detectados efeitos tóxicos de 5 mg/kg de selênio na dieta.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELRAHMAN, M.M., and KINCAID, R.L., Effect of selenium supplementation of cows on maternal transfer of selenium to fetal and newborn calves. **J. dairy Sci.**, v.78, p.625-630.1995.
- AGRICULTURAL FOOD RESEARCH COUNCIL. The nutrition of goats. Technical committee on responses to nutrients. **Nutr. Abstr. Rev.**, v.67, p.806-815.1997.
- AHMAD, M.R.; ALLEN, V.G.; FONTENOT, J.P.; HAWKINS, G.W. Effect of sulfur fertilization on chemical composition, ensiling characteristics, and utilization by lambs of sorghum silage. **J. Anim. Sci.**, v.73, p.1803-1810. 1995.
- AMMERMAN, C.B.; BAKER, D.H.; LEWIS, A.J. **Bioavailability of nutrients for animals: amino acids, minerals, vitamins.** 1.ed. Califórnia: Academic Press, 1995. 431p.
- AMER, M.A.; ST-LAURENT, G.J.; BRISSON, G.J. Supplemental copper and selenium for calves; effects upon ceruloplasmin activity and liver copper concentration, **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 51(9), p. 649-653. 1973.
- ANDERSON, J.O.; WARNICK, R.E.; DALAIC, R.K. Replacing dietary methionine and cystine in sheep diet with sulfate or other sulfur compounds. **N. Z. J. Sci.**, v. 54, p. 1122-1131. 1975.
- ANDRIGUETTO, J.M. et al. **Nutrição animal.** 5ª ed. São Paulo, Nobel, 1981. v.1, p.173-255: Os minerais na nutrição animal.

- AOYAGI, S.; BAKER, H. Copper amino acid complexes are partially protected against inhibitory effects of L-cysteine and L-ascorbate. **J. Nutr.**, v. 124, p. 388-396. 1994.
- ARTHINGTON, J.D.; CORAH, L.R.; BLECHA, F.; HILL, D.A. Effect of copper depletion and repletion on lymphocyte blastogenesis and neutrophil bactericidal function in beef heifers. **J. Anim. Sci.**, v. 73, p. 2079-2085. 1995.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15 ed. Arlington: AOAC, 1990. 128p.
- BARROS, C.S.L.; BARROS, S.S.; SANTOS, M.N. e METZDORF, L.L. Miopatia nutricional em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.** v.8, p.51-55. 1988.
- BEALE, A.; FASULO, D. A.; CRAIGMILL, A. L. Effects of oral and parenteral selenium supplements on residues in meat, milk and eggs. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v.115, p.125-150. 1990.
- 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. **J. Anim. Sci.**, v.67, p.461-466.1998.
- BIRD, P.R.; MOIR, R.J. Sulphur metabolism and excretion studies in ruminants. Methionine degradation and utilization in sheep when infused into the rumen or abomasum. **Aust. J. Biol. Sci.**, v. 25, p. 835-842. 1972.
- BOILA, R.J.; GOLFMAN, L.S. Effects of molybdenum and sulfur on digestion by steers. **J. Anim. Sci.**, v.69, p. 1626-1635. 1991.

- BOUCHARD, R.; CONRAD, H.R. Sulfur requirement of lactating dairy cows. Fate of sulfur-35 from sodium and calcium sulfate. **J. Dairy Sci.**, v. 56, p. 1435-1444. 1973.
- BOUCHARD, R.; CONRAD, H.R. Sulfur metabolism and nutritional changes in lactating cows associated with supplemental sulfate and methionine hydroxy analog. **Can. J. Ani. Sci.**, v.54, p. 587-596. 1974.
- BRISOLA, M.L. Efeitos de níveis crescentes de enxofre na dieta de cordeiros submetidos a nível tóxico de selênio. São Paulo, 2000. 89p. **Tese (Doutorado)** - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- BURK, R.F.; HILL, K.E. Selenoprotein P.A selenium-rich extracellular glycoprotein. **J. Nutr.**, v. 124, p.1891-1897. 1994.
- BUTTREY, S.A.; ALLEN, V.G.; FONTENOT, J.P.; RENEAU Jr, R.B. Effect of sulfur fertilization on chemical composition, ensiling characteristics and utilization of corn silage by lambs. **J. Anim. Sci.**, v.63, p.1236-1245.1986.
- CANZIANI, M.E.F. Complicações da anemia na insuficiência renal crônica. **J. Bras. Nefrol.**, v. 22, p. 13-14. 2000.
- COMBS, G.F.; COMBS, S.B. The role of selenium in nutrition. **Academic Press Inc**, Orlando, 1986. 532p.
- CLAYPOOL, D.A.; ADAMS, F.W.; PENDELL, N.A.; HARTMANN Jr. and BONE, J.F. Relationship between the level of copper in the blood plasma and liver of cattle. **J. Anim. Sci**, v.41, p. 911-914. 1975.
- COUZY, F.; KEEN, C.; GERSHWIN, M.E.; MARESCHI, J.P.; Nutritional implications of the interactions between minerals. **Progress in food and nutrition science**, v.17, p.65-87. 1993.

- DEAGEN, J.T.; BUTLER, J.A.; BELSTEIN, M.A. Effects of dietary selenite, selenocystine and selenomethionine on selenocysteine lyase and glutathione peroxidase activities and on selenium levels in tissues. **J. Nutr.**, v.117, p. 91-98. 1986
- DEOL, H.S.; HOWEL, J.McC.; DORLING, P.R. Effect of the ingestion of heliotrope and copper on the concentration of zinc, selenium and molybdenum in the liver of sheep. **J. Comparative Pathology**, v.110(3), p.303-307. 1994. (Abstract).
- DICK, A.T.; DEWEY, D.W.; GAWTHORNE, J.M. Thiomolibdates and the copper-molybdenum-sulfur interaction in ruminant nutrition. **J. Agric. Sci.**, v. 85, p. 567-574. 1975.
- DOVE, C.R.; EWAN, R.C. Effect of excess dietary copper, iron or zinc on the tocopherol and selenium status of growing pigs. **J. Anim. Sci.**, v. 68, p. 2407-2413. 1990.
- 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. **J. Anim. Sci.**, v.66, p.2299-2305. 1988.
- ERASMUS, JA. Blood selenium levels of sheep in some districts of the Northern Orange Free State: The Bultfontein area. **Journal of the South African Veterinary Association**, v.55, n.3, p.115-116. 1984.
- ENGEL, R.W.; HARDISON, W.A.; MILLER, R.F.; PRICE, N.O. and HUBER, J.T. Effect of copper intake on concentration in body tissue and on growth, reproduction and production in dairy cattle. **J. Anim. Sci**, v.23, p. 1160-1164. 1964.

- ESAKI, N.; TANAKA, H.; UEMURA, S.; Catalitic action of L-methionine-γ-lyase on selenomethionine and selenosis. **Biochemistry**, v.18, p.407-410. 1979.
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J. Bioavailability of selenium. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.51, suppl.1, p.s20-s23. 1997.
- GERLOFF, B.F. Effect of selenium supplementation on dairy cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 70, p. 3934-3940. 1992.
- GODWIN, K.O. Trace Element in Soil-Plant-Animal Systems. **Academic Press. New York**. 1975.
- 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. **J. Anim. Sci.**, v.59, p.725-732. 1984.
- GOONERATNE, S.R.; CHRISTENSEN, D.A. A survey of maternal copper status and foetal tissue copper concentration in bovine. **Can. J. Anim. Sci.**, v.69, p.141-150. 1989.
- GRIEVE, D.G.; MERRIL, W.G.; COPPOCK, C.E. Sulfur supplementation of urea containing silages and concentrates. Ration digestibility, nitrogen, and sulfur balances. **J. Dairy Sci.**, v. 56, p. 224-232. 1973.
- HALPIN, K.M.; BAKER, D.H. Selenium deficiency and transsulfuration in the chick. **J. Nutr.**, v.114, p.606-612. 1984.
- HALVERSON, A.W; MONTY, K.J. An effect of dietary sulfate on selenium poisoning in the rat. **J. Nutr.**, v.70, p.100-102. 1967.

- HARMS, R.H.; BURESH, R.E. A comparison of diets with and without supplemented inorganic sulfate and choline for use in comparing relative potencies of various methionine supplements. **Nutr. Rep. Int.**, v. 35, p.909-920. 1987.
- HARRISON, J. H.; HANCOCK, D.D.; CONRAD, H.R. Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. **J. Dairy Sci.**, v.67, p.123-132. 1984.
- HARTMAN, F.; VAN RYSSSEN, J.B.J. Metabolism of selenium and copper in sheep with and without sodium bicarbonate supplementation. **J. Agric. Sci.**, v. 128, p. 357-364. 1997
- HENRY, P.R.; ECHEVARRIA, M.G.; AMMERMAN, C.B; RAO, P.V. Estimation of the relative biological availability of inorganic selenium sources for ruminants using tissue uptake of selenium. **J. Anim. Sci.**, v.66, p.2306-2312. 1988.
- HIDIROGLOU, M.; HO, S.K.; WILLIAMS, C.J.; IVAN, I. Effects of levels of dietary sulfur on the growth performance and blood mineral profile of sheep fed urea-supplemented corn silage. **Int. J. Vit. Nutr. Res.**, v. 47, p. 284-291.1977.
- HIDROGLOU, M.; HEANEY, D.P.; HARTIN, K.E. Copper poisoning in a flock of sheep. Copper excretion patterns after treatment with molybdenum and sulfur or penicillamine. **Can. Vet. J.**, v.25, p. 377-382. 1984.
- HIDIROGLOU, M.; McALLISTER, A.J.; WILLIAMS, C.J. Prepartum supplementation of selenium and vitamin E to dairy cows: Assesment of selenium status and reproductive performance. **J. Dairy Sci.**, v.70, p.1281-1288. 1987.

- HUDMAN, J.F.; GLENN, A.R. Selenite uptake and incorporation by *Selenomonas ruminantium*. **Arch. Microbiol.**, v. 140, p.1865-1876. 1984.
- HUDMAN, J.F.; GLENN, A.R. Selenium uptake by *Butyrvibrio fibrisolvens* and *Bacteroides ruminicola*. **FEMS. Microbiol. Lett.**, v. 27, p. 215. 1985.
- HUME, I.D.; BIRD, P.R. Synthesis of microbial protein in the rumen, the influence of the level and form of dietary sulphur. **Aust. J. Agr. Res.**, v.21, p. 315-324. 1970.
- JENKINS, K.J.; HIDIROGLOU, M. Tolerance of the preruminant calf for selenium in milk replacer. **J. Dairy Sci.**, v.69, p. 1865-1870. 1986.
- JOHNSON, W.H., GOODRICH, R.D.; MEISKE, J.C. Metabolism of radioactive sulfur from elemental sulfur, sodium sulfate and methionine by lambs. **J. Anim. Sci.**, v. 32, p. 778-785. 1971.
- JULIEN, W.E.; CONRAD, H.R.; MOXON, L.A. Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.59, p.281-288. 1960.
- JULIEN, W.E.; CONRAD, H.R. Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient cows. Prevention in commercial herds with prepartum treatment. **J. Dairy Sci.**, v.58, p.1960-1962. 1976.
- KEGLEY, E.B.; SPEARS, J.W. Bioavailability of feed grade copper sources in growing cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 71. p.27-35. 1993.
- KELLOG, D.W.; RAKES, J.M. and GIIEDT, D.W. Effect of zinc methionine supplementation on performance and selected blood parameters of lactating dairy cows. **Nutr. Rep. Int.**, v. 40, p.1049-1057. 1989

- KINCAID, R.L. and WHITE, C.L. The effects of ammonium tetrathiomolybdate intake on tissue copper and molybdenum in pregnant ewes and lambs. **J. Anim. Sci.**, v. 66, p. 3252-3258. 1988.
- KINCAID, R.L. and HODGSON, A.S. Relationship of selenium concentrations in blood of calves to blood selenium of the dam and supplemental selenium. **J. Dairy Sci.**, v. 72, p. 259-263. 1989.
- KNOWLESS, S.O.; GRACE, N.D.; WURMS, K. and LEE, J. Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk, and casein selenium concentrations in grazing cows. **J. Dairy Sci.**, v. 82, p. 429-437. 1999.
- 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. **J. Anim. Sci.**, v.75, p. 817-827. 1997.
- KRISHNAMURTY, R.C.; RAMBERG, C.F.Jr.; SHARIFF, M.A.; BOSTON, R.C. A compartmental model depicting short-term kinetic changes in selenium metabolism in ewes fed hay containing normal or inadequate levels of selenium. **J. Nutr.**, v.127, p.95-102. 1997.
- LAMAND, M. Influence of molybdenum and sulfur on copper metabolism in sheep: comparison of elemental sulfur and sulfate. **Ann. Rech. Vét.**, v.20, p.103-106. 1989
- LANGLANDS, J.P.; BOWLES, J.E.; DONALD, G.E. and SMITH, A.J. Deposition of copper, manganese, selenium and zinc in Merino sheep. **Aust. J. Agric. Res.**, v.35, p. 701-701. 1984.
- LANGLANDS, J.P.; BOWLES, J.E.; DONALD, G.E. and SMITH, A.J. Selenium excretion in sheep. **Aust. J. Agric. Res.**, v.35, p. 701-701. 1986.

- LANE, H.W.; STRENGTH, R.; JOHNSON, J.; WHITE, M. Effect of chemical form of selenium on tissue glutathione peroxidase activity in developing rats. **J. Nutr.**, v.12, p.80-91. 1991.
- LEE, J.; MASTERS, D.G.; WHITE, C.L.; GRACE, N.D. Research about element trace in animals. **Aust. J. Agric. Res.**, v.50, p. 1341-1364. 1999.
- LEÓN, A.; GLENN, J.S.; FARVER, T.B. Copper oxide wire particles for the treatment of copper deficiency in sheep. **Small. Rum. Res.** , v.35, p.7-12. 2000.
- LESPERANCE, A.P., BOHMAN, V.R., OLDFIELD, J.E. Interaction of molybdenum, sulfate and alfalfa in the bovine. **J. Anim. Sci.**, v.60, p.791-803. 1985.
- LEVANDER, O.A. Selenium in: Mertz, W. (Ed) Trace elements in Human and Animal Nutrition. v. 2, p. 209-279. **Academic Press. New York.** 1986.
- LILLEY, C.W.; HAMAR, D.W.; GERLACH, M. and JOHNSON, J.L. Linking copper and bacteria with abomasal ulcers in beef calves . **Vet. Med.** v.80, p.85-88. 1985.
- LIMA, F.B.; STAHLY, T.S.; CROMWELL, G.L. Effects of copper, with and without ferrous sulfide, and antibiotics on the performance of pigs. **J. Anim. Sci.**, v.52, p.241-247. 1981.
- LOVETT, T.D.; COFFEY, M.T.; MILES, R.D.; COMBS, G.E. Methionine, choline and sulfate interrelationships in the diet of weanling swine. **J. Anim. Sci.**, v.63, p.467-471. 1986.

- 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. **Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. 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 sanquíferos. **Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. 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. e ANDRADE A.M.L. 1985. Suplementação de selênio para bovinos leiteiros. **Anais da XXII Reunião anual da SBZ**, Camboriú, SC.
- 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.
- MASON, J. The putative role of thiomolybdates in the pathogenesis of Mo-induced hypocupraemia and molybdenosis: some recent developments. **Irish Vet. J.** v. 36, p. 164-168. 1982.
- MAYNARD, L.A. **Nutrição animal**. 3ªed. Rio de Janeiro, Freitas Bastos, 1984. p.260-280: Elementos inorgânicos e seu metabolismo.
- McDOWELL, L.R. **Minerals in Animal and Human Nutrition**. Academic Press. New York. 1992.
- McDOWELL, L.R.; WILLIAMS, S.N.; HIDROGLOU, N.; NJERU, C.A.; HILL, G.M.; OCHOA, L. Selenium and vitamin E supplementation for ruminant. **Animal Feed Sci. Tech**, v.60, p. 273-296, 1996.

- McFARLANE, J.D.; JUDSON, G.J.; TURNBULL, R.K. An evaluation of copper containing soluble glass pellets , copper oxide particles and injectable copper as supplements for cattle and sheep. **Aust. J. Exp. Agr.**, v. 31, p. 165-173. 1991.
- MILLS, C.F. Biochemical and physiological indicators of mineral status in animals: copper, cobalt and zinc. **J. Anim. Sci**, v. 65, p. 1702-1711. 1987.
- MORAES,S.S.; SILVA, G.N. e DOBEREINER, J. Microelementos minerais e a “cara inchada” dos bovinos. **Pesq. Vet. Bras**, v.14 p. 25-33. 1994.
- MORRIS, R.J. Sulphur in ruminant nutrition fertilization vs supplementation. **Sulphur Agr.**, v. 8, p.11. 1984.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, **Mineral tolerance of domestic animal**. National Academy Press, Washington. 1980.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, **Selenium in Nutrition**. National Academy Press, Washington. 1983. 174p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, **Nutrient requirements of beef cattle**. National Academy Press, Washington. 1984.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, **Nutrient requirements of sheep**. National Academy Press, Washington. 1985.
- NIEDERMAN, C.N.; BEEMAN, K.B.; VEATCH, J.K. Chronic copper poisoning in a flock of suffolk sheep. **Agri-practice.**, v. 8, p.39-41. 1987.
- O'DELL, B.L.; KILBURN, K.H.; McKENZIE, M.S.; THURSTON, R.J. The lung of the copper-deficient rat. **Am. J. Pathol.** , v. 91, p. 413-432. 1978.

- O'DELL, B.L.; SUNDE, R.A. **Handbook of nutritionally essential mineral elements**. New York:: Marcel Deker, 1997. 692p.
- 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.
- PHILLIPPO, M.; HUMPHRIES, W.R.; ATKINSOM, T. The effect of dietary molybdenum and iron on copper status, puberty, fertility and oestrous cycles in cattle. **J. Agric. Sci.**, v.109, p. 321-330. 1987.
- PILLATI, C.; LOMBARDO DE BARROS, S.C.; GIUDICE, J.C. Intoxicação crônica por cobre em ovinos. **A Hora Veterinária**, ano 9, n.5, p.31-34. 1990.
- POPE, A.L.; MOIR, R.J. SOMERS, M.; UNDERWOOD, E.J.; WHITE, C.L. The effect of sulphur on ⁷⁵Se absorption and retention in sheep. **J. Nutr.**, v.109, p.1448-1455. 1979.
- POTT, E.B.; HENRY, P.R.; ZANETTI, M.A.; RAO, P.V.; HINDERBERGER, E.J.; AMMERMAN, C.B. Effects of high dietary molybdenum concentration and duration of feeding time on molybdenum and copper metabolism in sheep. **Anim. Feed. Sci. and Tech.**, v. 79, p.93-105. 1999.
- QI, K.; LU, C.D.; OWENS, F.N. Sulfate supplementation of Angora goats: sulfur metabolism and interactions with zinc, copper and molybdenum. **Small. Rum. Res.**, v.11, p.209-225. 1993.
- RESS, M.C.; MINSON, D.J. Fertilizer sulfur as a factor affecting voluntary intake, digestibility and retention time of pangola grass by sheep. **J. Nutr.**, v. 39, p. 5-11. 1978.

- RIBEIRO, L.A.O.; NETO, J. A.S.P.; RODRIGUES, N.C., Intoxicação crônica por cobre em ovinos mantidos em pomar de macieiras. **Pesq. Vet. Bras**, v.9, p.51-54, 1995.
- RIET-CORREA, F.; OLIVEIRA, J.A.; GUESTA, S. Intoxicação crônica por cobre em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras**, v.9, p.51-54. 1989.
- RIET-CORREA, F.; BONDAN, E.E.; MÉNDEZ, M.C.; MORAES. S.S. e CONCÉPCION, M.R. Efeito da suplementação com cobre e doenças associadas à carência de cobre em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras**, v.13, p. 45-49. 1993.
- ROCK, M.J.; KINCAID, R.L.; CARSTENS, G.E. Effects of prenatal source and level of dietary selenium on passive immunity and thermometabolism of newborn lambs. **Small Ruminant Res**, v. 40, p. 129-138. 2001.
- ROSEMBERG, G. **Exame clínico dos bovinos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1987. 429 p.
- ROTRUCK, J.T.; POPE, .AL.; 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.
- SANTIAGO, C.M. Estudo do crescimento dos bezerros nascidos sob o efeito da aplicação da emulsão de selênio-tocoferol nas vacas gestantes. **Hora Veterinária**, Porto Alegre, v.6, p.25-27. 1986.
- SAS Institute Inc., SAS Stat Guide, Release 6.03 Edition. Cary, NC: **SAS Institute Inc.**, 1988. 1028p.
- SMITH, R.M. Trace Elements in Human and Animal Nutrition. **Academic Press. New York**. 1987.

- SOLI, N.E. Chronic copper poisoning in sheep. **Nolway veterinary medicine**, v.32, p.75-89. 1980.
- SOLOMON, R.; YOSEF, E.; MIRON, J.; DROR, Y.; BEM-GHEDALIA, D. Absorption of macro and micro-elements by sheep from barley and barley plus sulphur dioxide-treated straw rations. **Small Ruminant Research**, v.6, p.55-62. 1991.
- SOUTHGATE, D.; JOHSON, I.; FENWICH, G.R. Nutrient availability: chemical and biological aspects. Cambridge, **Royal Society of Chemistry**, p.89-96. 1989.
- SPEARS, J.W.; BUSH, L.P.; ELY, D.G. Influence of nitrate and molybdenum on sulfur utilization by rumen microorganisms. **J. Dairy Sci**, v.60, p. 1889-1996. 1977.
- SPEARS, J.W.; BURNS J.C.; HATCH, P.A. Sulfur fertilization of cool season grasses and effect on utilization of minerals, nitrogen, and fiber by steers. **J. Dairy Sci**, v.68, n.2, p.347-355. 1985.
- SPEARS, J.W.; KEGLEY, E.B. Effect of zinc and manganese on performance of beef cows and calves . **J. Anim. Sci.**, v. 69, p.59, suppl. 1. 1991.
- SPEARS, J.W. Reavaliação da essencialidade metabólica dos minerais. **Journal of Animal Science**, v.12, n.6, p.1002-1008, Setembro., 1999.
- STOWE, H.D.; Effects of copper pretreatment upon the toxicity of selenium in ponies. **Am. J. Vet. Res.**, v.41, p.1925-1928. 1980.
- STOWE, H.D.; HERDT, T.H. Clinical assesment of selenium status of livestock. **J. Anim. Sci.**, v.70, p.3928-3933. 1992.

- SUTTLE, N.F. Effects of organic and inorganic sulphur on the availability of dietary copper to sheep. **J. Nutr.**, v. 32, p. 295-302. 1974.
- SUTTLE, N.F.; SMALL, J. Evidence for delayed availability of copper in supplementation trials with lambs on molybdenum rich pastures. **Trace elements in man and animals**. Verlag Media touristik, Dresden, pp. 651-655. 1993.
- 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. **J. Anim. Sci.**, v.59, p.1594-1600. 1984.
- TOLEDO, L.R.A. Distribution of supplemental selenium in serum, hair, colostrum and fetus of dairy cows. **Ph.D. thesis**. Purdue University. 1984.
- THOMPSON, K.G.; FRASER, A.J.; HARROP, B.M. Glutathione peroxidase activity in bovine serum and erythrocytes in relation to selenium concentrations of blood, serum and liver. **Res. Vet. Sci.**, v. 28, p.321-330. 1980.
- THOMPSON, K.G.; FRASER, A.J.; HARROP, B.M. Glutathione peroxidase activity and selenium concentrations in bovine blood and liver as indicator of dietary selenium intake. **N. Z. Vet. J.**, v. 29, p.3 -9. 1981
- TRINDER, N.; WOODHOUSE, C.D.; RENTON, C.P. 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.
- UNDERWOOD, E.J. **Los minerales en la nutrición del ganado, 2 ed.** Zaragoza, Espanha. Editorial Acribia, 1981. 210p.

UNDERWOOD, E.J. **Trace elements in human and animal nutrition**, 4th. Academic Press, New York, 1977. 545p.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N. **The mineral nutrition of livestock**, 3rd edition. CABI, New York, 1999. 624p.

WEBER, K.M.; BOSTON, R.C.; LEAVER, D.D. The effect of molybdenum and sulfur on the kinetics of copper metabolism in sheep. **Aust. J. Agric. Res.**, v. 34, p. 295-306. 1983.

WITCHEL, J.J.; CRAIGIE, A.L.; FREEMAN, D.A.; VARELA-ALVAREZ, H.; WILLIAMSON, N.B. Effect of selenium and iodine supplementation on growth rate and on thyroid and somatotropic function in dairy calves at pasture. **J. Dairy Sci.**, v.79, p.1865-1872. 1996.

WHITE, C.L.; SOMERS, M. Sulphur-selenium studies in sheep. The effects of varying dietary sulphate and selenomethionine on sulphur, nitrogen and selenium metabolism in sheep. **Aust. J. Biol. Sci.**, v.30, p.47-56. 1977.

VAN RYSEN, J.B.L.; VAN MALSEN, S.; BARROWMAN, P.R. Effect of dietary molybdenum and sulphur on the copper status of hypercuprotic sheep after withdrawal of dietary copper. **J. Anim. Sci.**, v. 16. P.77-82. 1986.

VAN RYSEN, J.B.L.; VAN MALSEN, P.S.M.; HARTMANN, F. Contribution of dietary sulphur to the interaction between selenium and copper in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.130, p.107-114. 1998.

VASCONCELOS, J.L.M.; SILVA, H.M.; REIS, R.B. e RASLAM, K.G. Retenção de placenta em gado leiteiro.I. Efeito da administração de selênio sobre a incidência de retenção de placenta. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.41, p.315-322. 1989.

- XIN, Z.; WATERMAN, D.F.; HEMKEN, R.W. and HARMON, R.J. Copper status and requirement during the dry period and early lactation in multiparous Holstein cows. **J. Dairy Sci**, v.76, p.2711-2716. 1993.
- YANCHEV, I.; ANGELOW, L.; PETROVA, I.; DRAGNEV, C.; ANKE, M.; GROPPÉL, B. Relations between arsenic and selenium content of pasture grass and selected target organs of sheep in a copper contaminated area. **Mengen and Spurenelemente**, v.12, p.403-409. 1992. (Abstract).
- ZANETTI, M. A.; CUNHA, J.A. Biodisponibilidade de fontes orgânicas e inorgânicas de selênio. **Rev. da Soc. Bras. de Zootec.**, 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. **Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo**, v.21, p.141-145. 1984b.
- ZANETTI, M. A.; NUNES, F.M.G.; PIVATO, C.C.C. Balanço de selênio em ovinos com suplementação de selenito de sódio. In: **23ª Reunião Anual da Soc. Bras. de Zootec.**, Campo Grande, Ms. 1986. Anais. p.183.
- ZANETTI, M. A.; NUNES, F.M.G.; PIVATO, C.C.C. Balanço de selênio em ovinos com suplementação de selenito de sódio. **Rev. da Soc. Bras. de Zootec.**, v.16, n.4, p.331-336. 1987.
- ZANETTI, M. A.; PETTINATI, R.L. Balanço de fontes orgânicas e inorgânicas de selênio. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.26, n.4, p.455-460. 1991.

ZEISEL, S.H.; ELLIS, A.L.; SUN, X.F.; POMFRET, E.A.; TING, B.T.G.;
JANGHORBANI, M. Dose-response relations in urinary excretion of
trimethylselenium in the rat. **J. Nutr.**, v.117, p.1609-1614. 1987.

8. SUMMARY

The experiment was conducted at the Faculty of Zootechny and Food Engeneering, Campus of Pirassununga. Thirty two not castrated lambs, three months of age, average initial weight of 23 kg were housed in individual metabolic plastic cages. After 14 days of adaptation period they were allocated to one of the treatments during 90 days. Control: 0.2ppm Se; 8 ppm Cu; 0.25 % S, Treatment 1: 5 ppm Se; 8 ppm Cu; 0.25% S, Treatment 2: 0.2 ppm Se; 8 ppm Cu; 0.37 % S Treatment 3: 5 ppm Se; 8 ppm Cu; 0.37 % S Treatment 4: 0.2 ppm Se; 25 ppm Cu; 0.25 % S, Treatment 5: 0.2 ppm Se; 25 ppm Cu; 0.25 % S, Treatment 6: 5 ppm Se; 25 ppm Cu; 0.25 % S, Treatment 7: 5 ppm Se; 25 ppm Cu; 0.37% S. The experimental design was in randomized block by weight and it was studied the interaction among selenium, copper and sulfur, through analysis on the serum, feces, urine and liver, hematocrit and weight gain. It was verified a triple interaction, high concentrations of sulfur and copper on the diets of lambs receiving 5 ppm Se, reduced concentration of selenium on the serum and liver, increased the selenium excretion through feces and elimination through urine. Selenium and supplemental sulfur reduced the amount of copper absorbed and copper concentration in the liver and serum. It was a good weight gain (higher than 209g/lamb/day), but with hight concentration of sulfur and copper for the level normal selenium the weight gain was higher ($P < 0.05$), in average 236g/lamb/day. The hematocrit was not affected.