

Efeito da suplementação de selenometionina e vitamina C sobre a morfopatologia espermática do sêmen de coelho

Cristiane Arieta Alvarez^{1*}, Gentil Vanini de Moraes², Cláudio Scapinello², Elias Nunes Martins², Rejane Machado Cardozo², Marcela Mataveli² e Rafael Seki Kioshima²

¹Integrado Colégio e Faculdade, Av. Irmãos Pereira, 670, 87301-010, Campo Mourão, Paraná, Brasil. ²Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: krika@wnet.com.br

RESUMO. Foi avaliada a morfopatologia espermática do sêmen de coelhos alimentados com rações contendo diferentes níveis de selenometionina (SeM) e vitamina C (VC). Utilizaram-se 125 coelhos, alojados individualmente, e distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com vinte e cinco tratamentos e cinco repetições. Avaliaram-se a normalidade espermática (NO), patologias totais (PT), patologias primárias (PP) e patologias secundárias (PS). Observou-se influência dos tratamentos com SeM e VC ($P < 0,05$) sobre: PT, PP, PS, cauda dobrada (CD), cauda abaxial (CAB), capuchão solto (CAPS), cabeça raquetiforme (CARE), cauda solta (CAUSO), cauda enrolada na porção final (CENF), gota citoplasmática distal (GODI), gota citoplasmática proximal (GOPR), microcefalia (MICRO). O SeM e VC aumentaram ($p < 0,05$) os índices de: PT, PP, CD, CAB, CARE, CAUSO, GODI até níveis intermediários e depois voltaram a decrescer. A vitamina C diminuiu o número de microcefalias à medida que houve o aumento na dieta, demonstrando o efeito de proteção antioxidante aos espermatozoides.

Palavras-chave: espermatozoides, morfopatologias, selenometionina, vitamina C.

ABSTRACT. Effect of selenomethionine and vitamin C supplementation on spermatic morphopathology in the rabbit semen. The spermatic morphopathology in the semen of rabbits, fed with rations containing different selenomethionine (SeM) and vitamin C (VC) levels, were evaluated. 125 male rabbits kept individually in cage were used. They were distributed in a completely randomized design with twenty-five treatments and five replications. The following items were evaluated: sperm normality (SN), total pathologies (TP), primary pathologies (PP) and secondary pathologies (SP). An influence of treatments with SeM and VC ($p < 0.05$) on: TP, PP, SP, bent tail (BT), abaxial tail (AT), free cap (FC), raquetiform head (RH), loose tail (LT), final coiled tail (FCT), distal droplet (DD), proximal droplet (PD), and microcephalic sperm (MS) was observed. Treatments with SeM and VC increased until an intermediate level and later it reduced the rates of: TP, PP, BT, AT, RH, LT and DD. The microcephalic sperm decreased when vitamin C level was increased, demonstrating the antioxidant protection effect on the spermatozoa.

Key words: spermatozoa, morphopathologies, selenomethionine, vitamin C.

Introdução

O efeito prejudicial das espécies reativas ao oxigênio (EROs), nos espermatozoides, foi sugerido há mais de 50 anos atrás, descrito por Halliwell e Gutteridge (1999), ao demonstrarem que a exposição do espermatozoide humano a altas concentrações de oxigênio resultava em toxicidade, com o aparecimento de anormalidades morfológicas nos espermatozoides. Espermatozoides imóveis e espermatozoides morfológicamente normais, porém funcionalmente anormais, também são fontes de EROs (Engel *et al.*, 1999). A excessiva produção de EROs, também chamada de estresse oxidativo positivo, ocorre tanto pelo excesso de EROs como pela diminuição de antioxidantes (De Lamirande e

Gagnon, 1995).

Espermatozoides normais e não funcionais parecem gerar radicais superóxidos (O_2^-) em maiores taxas que aqueles saudáveis. Geração excessiva de EROs, no sêmen, pode ser uma consequência de infertilidade (Aitken e Fishel, 1994).

O espermatozoide possui um sistema intracelular de defesa antioxidante contra as EROs, que consiste, principalmente, de enzimas como: superóxido dismutase (SDO), catalase, glutathione peroxidase (GPx) e a redutase, bem como, antioxidante não enzimáticos como: ácido ascórbico (vitamina C) e α -tocoferol ou vitamina E (Aitken, 1995).

A vitamina C ou ascorbato são hidrossolúveis, com ação antioxidante (Eichner, 1994). A vitamina C

reduz o α -tocoferol, peróxidos e EROs, como superóxidos e age também prevenindo a formação de hidroperóxido de lipídios nas lipoproteínas plasmáticas, protegendo a célula dos danos oxidativos (Nordberg e Árner, 2001). Dawson *et al.* (1992) indicaram melhora na viabilidade do espermatozóide, diminuição na percentagem de anormalidades e aumento na motilidade espermática em experimento com homens fumantes de 25 anos de idade, que ingeriram 1,0 g/dia de ácido ascórbico. Luck *et al.* (1995) descreveram que o ascorbato poderia ser considerado como essencial para o processo reprodutivo humano.

Outro elemento implicado na degradação dos peróxidos de hidrogênio é o selênio (Se) (Alvarez e Storey, 1989). Dentre as alterações produzidas pela deficiência dietética de selênio, incluem-se aquelas que afetam a esfera reprodutiva (Noguchi *et al.*, 1973). Barbosa e Souza (2005) destacaram que a deficiência dietética de Se levaria ao surgimento de espermatozóides com cauda quebrada, deformações de cabeça, deformações na peça intermediária, oligozoospermia, necrozoospermia, baixa longevidade e, por consequência, baixo índice de prenhez.

Dentre as disfunções espermáticas que podem surgir devido a falta de proteção antioxidante destacam-se as anormalidades espermáticas (De Lamirande e Gagnon, 1995). Sendo assim, a avaliação da morfologia espermática visa, basicamente, determinar a proporção de células com morfologia anormal, podendo-se classificar as anomalias de várias formas. Um sistema de classificação importante divide as anormalidades espermáticas em defeitos primários e defeitos secundários, sendo os primeiros originados durante a espermatogênese e os últimos durante a maturação no epidídimo, transporte ou contato com o meio externo (Hafez e Hafez, 2004).

No presente trabalho objetivou-se avaliar diferentes níveis de selenometionina e vitamina C sobre as morfopatologias espermáticas em sêmen de coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Material e métodos

Local e animais

O experimento foi conduzido no setor de Cunicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Estado do Paraná, de março a junho de 2004. Foram utilizados 125 coelhos machos Nova Zelândia Branco, com idade média de seis meses, alojados individualmente em gaiolas de arame galvanizado de 40 cm X 60 cm X 45 cm (comprimento, largura e altura), respectivamente, providas de bebedouro automático e comedouro semi-automático, instalados em galpão de

alvenaria com cobertura de fibroamianto. Os animais foram mantidos por um período preliminar de oito semanas em dieta base sem suplementações e, posteriormente, foi realizada uma triagem, através da análise de sêmen e do peso para a formação dos grupos de tratamentos, que constaram de cinco animais por tratamento com idade média de seis meses. Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental fatorial inteiramente casualizado, com vinte e cinco tratamentos (rações com adições de níveis diferentes de vitamina C e selenometionina) e cinco repetições. Os coelhos foram distribuídos em tratamentos conforme Tabela 1.

Tabela 1. Diferentes tratamentos com suplementações adicionais de Selenometionina (SeM)* e Vitamina C (VC)** fornecidos aos animais durante a fase experimental (mg/kg de ração).

Table 1. Different treatments with additional supplementation of Selenomethionine (SeM)* and Vitamin C (VC)** supplied to the animals during the experimental phase (mg/kg of ration).

Tratamentos Treatments	N N	Selenometionina Selenomethionine	Vitamina C Vitamin C
T1 - SeM ₀ VC ₀	5	0	0
T2 - SeM ₀ VC ₃₀₀	5	0	300
T3 - SeM ₀ VC ₂₂₅	5	0	225
T4 - SeM ₀ VC ₁₅₀	5	0	150
T5 - SeM ₀ VC ₇₅	5	0	75
T6 - SeM ₁₅₀ VC ₀	5	150	0
T7 - SeM ₁₅₀ VC ₃₀₀	5	150	300
T8 - SeM ₁₅₀ VC ₂₂₅	5	150	225
T9 - SeM ₁₅₀ VC ₁₅₀	5	150	150
T10 - SeM ₁₅₀ VC ₇₅	5	150	75
T11 - SeM ₃₀₀ VC ₀	5	300	0
T12 - SeM ₃₀₀ VC ₃₀₀	5	300	300
T13 - SeM ₃₀₀ VC ₂₂₅	5	300	225
T14 - SeM ₃₀₀ VC ₁₅₀	5	300	150
T15 - SeM ₃₀₀ VC ₇₅	5	300	75
T16 - SeM ₄₅₀ VC ₀	5	450	0
T17 - SeM ₄₅₀ VC ₃₀₀	5	450	300
T18 - SeM ₄₅₀ VC ₂₂₅	5	450	225
T19 - SeM ₄₅₀ VC ₁₅₀	5	450	150
T20 - SeM ₄₅₀ VC ₇₅	5	450	75
T21 - SeM ₆₀₀ VC ₀	5	600	0
T22 - SeM ₆₀₀ VC ₃₀₀	5	600	300
T23 - SeM ₆₀₀ VC ₂₂₅	5	600	225
T24 - SeM ₆₀₀ VC ₁₅₀	5	600	150
T25 - SeM ₆₀₀ VC ₇₅	5	600	75

* Selenometionina - SEL - PLEX® 50 (Alltech Inc.); ** Vitamina C - ROVIMIX® C-EC (Roche); N - número de animais por tratamentos.

N - Numbers of animals for treatments.

As rações foram formuladas com base nas exigências do AEC (1987) para coelhos em reprodução (Tabela 2), em que de acordo com as análises químicas realizadas por Andreazzi (2002) continham 89,62% de matéria seca, 16,50% de proteína bruta, 14,03% fibra bruta, 34,52% de fibra em detergente neutro (FDN), 16,93% de fibra em detergente ácido (FDA), 2,83% de extrato etéreo e 2.599 Kcal/kg de energia digestível, consistindo de uma ração base acrescida do suplemento, e seu fornecimento foi, em média, de 100 gramas/animal/dia durante 103 dias, com água à vontade.

Tabela 2. Composição percentual da ração base.
Table 2. Percentual and chemical composition of the basic ration.

Ingredientes <i>Ingredient</i>	% %	Unidade <i>Unit</i>
Milho <i>Corn</i>	25,6	Kg
Farelo de Soja <i>Soybean meal</i>	14,0	Kg
Farelo de Trigo <i>Wheat meal</i>	24,0	kg
Feno de Alfafa <i>Alfalfa hay</i>	23,4	Kg
Feno de Coast Cros <i>Coast Cros hay</i>	10,0	Kg
Sal Comum <i>Common salt</i>	0,4	Kg
Fosfato bicálcico <i>Dicalcium phosphate</i>	0,8	Kg
Calcário Calcítico <i>Limestone</i>	1,0	Kg
DL – Metionina <i>DL- Methionine</i>	0,13	Kg
Bacitracina <i>Bacitracin</i>	0,05	Kg
Cicostat Robenidina <i>Cicostat Robenidin</i>	0,083	Kg
Mist. Vit + Min. ¹ <i>Premix vit+min.¹</i>	0,5	kg
Total	100,00	

¹Nuvital, composição por kg do produto: Vit A, 600.000 UI; Vit D, 100.000 UI; Vit E, 8.000 mg; Vit K3, 200 mg; Vit B1, 400 mg; Vit B2, 600 mg; Vit B6, 200 mg; Vit B12, 2.000mcg; Ac. Pantotênico, 2.000 mg; Colina, 70.000 mg; Ferro, 8.000 mg; Cobre, 1.200 mg; Cobalto, 200 mg; Manganês, 8.600 mg; Zinco, 12.000 mg; Iodo, 64 mg; Selênio, 16 mg; Metionina, 120.000 mg; Antioxidante, 20.000 mg.

¹ Vitamin-mineral premix composition per kg: Vit A, 600.000 UI; Vit D, 100.000 UI; Vit E, 8.000 mg; Vit K3, 200 mg; Vit B1, 400 mg; Vit B2, 600 mg; Vit B6, 200 mg; Vit B12, 2.000mcg; Panthotenic acid, 2.000 mg; Choline, 70.000 mg; Iron, 8.000 mg; Copper, 1.200 mg; Cobalt, 200 mg; Manganese, 8.600 mg; Zinc, 12.000 mg; Iodine, 64 mg; Selenium, 16 mg; Methionine, 120.000 mg; Sinox, 20.000 mg.

As rações foram elaboradas para serem consumidas em um mês para evitar a perda de princípio ativo dos produtos. O selenometionina com 1,0 mg de selênio/kg (Sel-Plex® 50 - Alltech Inc.) e a vitamina C com 98% de pureza (Rovimix® C-EC – Roche) foram pesados em balanças analíticas e adicionados às rações tratamentos. As rações bases mais às adições de selenometionina e vitamina C, de acordo com cada tratamento, foram misturadas em misturador Y por 15 minutos e, posteriormente peletizadas, em que os tamanhos dos péletes foram de 0,5 cm de diâmetro e 1,0 cm de comprimento. Depois de peletizadas foram secas ao ar livre e ensacadas em sacos etiquetados de acordo com cada tratamento.

O fornecimento das dietas iniciou no dia 08 de março de 2004 e terminou no dia 19 de junho de 2004, totalizando 103 dias. Cada animal recebeu, em média, 100 gramas de ração/dia, durante 103 dias. As rações foram pesadas no dia 08 de março de 2004 (início do experimento) e no dia 19 de junho de 2004 (término) em balança analítica com capacidade de 6,0 kg para determinar a média de consumo de ração entre os cinco animais de cada tratamento, durante os 103 dias de experimento. Isto foi realizado considerando as sobras das rações de cada animal, obtendo-se assim, os resultados médios de consumo dos animais de cada tratamento.

Análise do sêmen

As colheitas de sêmen iniciaram dois meses depois dos animais estarem recebendo as dietas

contendo as suplementações. As colheitas foram realizadas uma vez por semana, de 01 de maio a 19 de junho de 2004, durante oito semanas, totalizando oito colheitas por animal. A colheita foi realizada com uma vagina artificial desenvolvida no laboratório de Reprodução Animal da Universidade Estadual de Maringá, constituída de tubo plástico com 8 cm de comprimento por 4 cm de diâmetro, revestida, internamente com membrana constituída de preservativo não lubrificado e copo coletor graduado (Scapinello *et al.*, 1997). A temperatura da vagina artificial, no momento da coleta, foi de 44°C. Para colher o sêmen utilizou-se uma coelha em estro, como manequim.

Para análise das morfologias espermáticas preparam-se dois esfregaços a partir de uma diluição de uma gota de sêmen em cinco de citrato de sódio diidratado a 3% (Sigma®) em lâminas de microscopia, que foram corados pelo método Williams (1920), modificado por Lagerlöff (1934), e depois de secos, foram levados ao microscópio de contraste de fase de 100X. Foram considerados os espermatozoides normais (NO), as patologias totais (PT), as patologias primárias (PP) e secundárias (PS), realizando a contagem de 100 espermatozoides entre as duas lâminas feitas de cada ejaculado.

Entre as patologias primárias (PP) encontraram-se: cauda degenerada (CDE), cabeça periforme (CAPE), cabeça raquetiforme (CARE), microcefalia (MICRO), macrocefalia (MACRO), cauda bifurcada (CABI), cauda quebrada na porção inicial (CQI), cauda quebrada na porção intermediária (CQIN), cauda quebrada na porção final (CQF), cauda quebrada junto à cabeça (CQJC), cauda enrolada (CEN), cauda enrolada na porção final (CENF), cauda abaxial (CAB); e entre as patologias secundárias (PS) encontraram-se: cauda dobrada (CD), cauda dobrada na porção final (CDF), cabeça solta (CASO), cauda solta (CAUSO), edema de colo (EDCO), capuchão solto (CAPS), gota citoplasmática proximal (GOPR) e gota citoplasmática distal (GODI).

Análise estatística

O modelo estatístico foi:

$$Y_{ijk} = b_0 + b_1 \text{SeM}_i + b_2 \text{VC}_j + b_3 \text{SeM}_i \text{VC}_j + b_4 \text{SeM}_i^2 + b_5 \text{VC}_j^2 + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = a observação no animal k, alimentado com ração contendo o nível i de selenometionina e o nível j de vitamina C;

b_0 = constante geral;

b_1 = coeficiente linear de regressão de Y em função do nível de selenometionina;

b_2 = coeficiente linear de regressão de Y em função do nível de vitamina C;

b_3 = coeficiente de regressão de Y em função da interação entre i de selenometionina e j de vitamina C;

b_4 = coeficiente quadrático de regressão de Y em função do nível i de selenometionina;

b_5 = coeficiente quadrático de regressão de Y em função do nível j de vitamina C;

e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação Y_{ijk} .

De acordo com este modelo, utilizou-se a metodologia de modelos lineares generalizados (Nelder e Wedderburn, 1972), usando-se o software GLIM 4.0, sendo as características estudadas comparadas por meio do teste F de análise de variância ($P < 0,05$). Para os gráficos foi utilizado o software STATISTICA 6.0 (Statsoft, 2003).

Resultado e discussão

Os resultados descritos no trabalho foram apresentados em tabelas separadas depois que foi constatado, pela análise estatística, que não houve interação significativa entre o selenometionina e vitamina C.

No presente estudo foi observada a melhor porcentagem de espermatozoides morfolologicamente normais (NO) no tratamento que apresentava 600 mg de SeM/kg de ração e 300 mg de VC/kg de ração (Figura 1), em que o valor aproximou-se de 60%, mas não teve diferenças ($p > 0,05$) e interações entre os tratamentos. O pior tratamento foi com o nível de 0 mg de VC/kg de ração e 450 mg de SeM/kg de ração, o que leva a inferir que a VC, além daquela recomendada para coelhos (AEC, 1987), é importante para que exista boa espermatogênese, com índices reduzidos de anormalidades primárias e secundárias.

As anormalidades morfológicas dos espermatozoides apresentam relação negativa com a fertilidade (Hafez e Hafez, 2004). De acordo com os autores, o índice de patologias totais (PT), para diferentes espécies animais, que não prejudica a fertilidade é de 20%. Bilbao (1996) reportou valores de até 25% de patologias para os coelhos, que não seriam prejudiciais à esta espécie e, ainda, Alvariño (2000) relatou que os índices de patologias variam com a raça de coelhos, sendo que, machos da raça Nova Zelândia Branco apresentam, em média, 11% de patologias totais.

Edens (2001) estudou aves machos Hubbard Ultra-Yield com 4 semanas de idade, suplementadas com 480 mg de SeM/kg de ração, tendo observado 98,7% de espermatozoides normais ($p < 0,05$), enquanto na dieta basal que continha 280 mg de selênio/kg de ração, sem suplementação, o resultado foi de 57,9% de espermatozoides normais. Isto demonstra a importância do selênio para a manutenção da integridade dos espermatozoides

normais, fato não observado nesta pesquisa, pois os suplementados adicionalmente com SeM se comportaram de forma idêntica aos controles. Possivelmente, os coelhos reagem de maneira diferentes das aves em relação ao SeM, não interferindo, no nível de consumo de 100g médio/dia de ração.

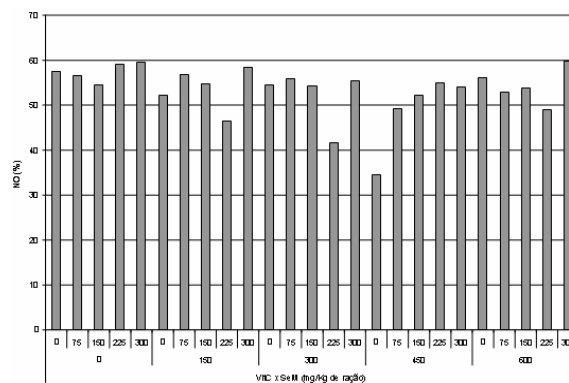


Figura 1. Diferentes níveis de Vitamina C X Selenometionina (Vit C X SeM mg/kg de ração) sobre a porcentagem de espermatozoides normais (NO) em sêmen de coelhos Nova Zelândia Branco com idade de seis meses.

Figure 1. Different Vitamin C X Selenomethionine (mg/kg of ration) levels on normal spermatozoa (NO) percentage in semen from New Zealand White rabbits with six months of age.

As patologias totais (PT), patologias primárias (PP) e patologias secundárias (PS) foram influenciadas pelos tratamentos ($p < 0,05$) (Figuras 2,3,4, respectivamente).

Avaliando as patologias totais (PT) apresentada na Figura 2, notou-se diferenças ($p < 0,05$) com relação a selenometionina em que observa-se 42% de PT no tratamento com 0 mg de SeM/kg de ração, tendo atingido o ponto máximo (pior resultado) em 374 mg de SeM/kg de ração (49%). A partir deste valor, a quantidade de patologias totais diminuiu, chegando próximo a 47%, com 600 mg de SeM/kg de ração. O mesmo comportamento foi observado com relação às patologias primárias (PP) em que o ponto máximo apresentou-se em 325 mg de SeM/kg de ração, tendo atingido o valor de 30,5%, voltando a mostrar redução até atingir os níveis de 27%, no tratamento com 600 mg de SeM/kg de ração (Figura 3). Talvez, o nível mais elevado testado neste estudo tenha sido insuficiente para combater os radicais livres, no nível de consumo dos coelhos, haja vista a visível redução das patologias primárias a partir de 300 mg SeM.

$$PT = \exp(3,741 + 0,0008426 * SeM - 0,000001125 * SeM^2)$$

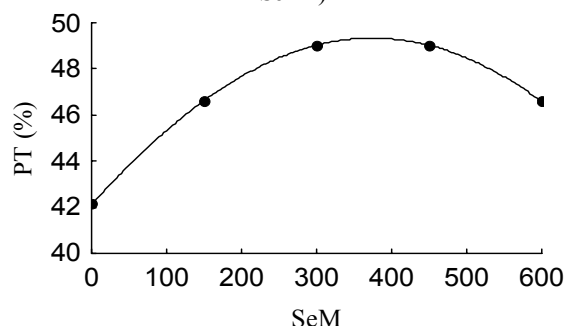


Figura 2. Diferentes níveis de selenometionina (mg de SeM/kg de ração) sobre a porcentagem de patologias totais (PT) em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Figure 2. Different selenomethionine (mg SeM/kg of ration) levels on total pathologies percentage (PT) in New Zealand White rabbits with six months of age.

As patologias secundárias (PS; 20%) aumentaram linearmente ($p < 0,05$) a medida que se aumentou os níveis de selenometionina, observando-se o ponto máximo em 600 mg de SeM/kg de ração (Figura 4).

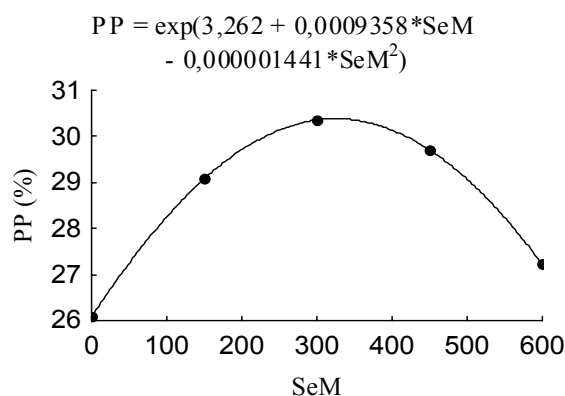


Figura 3. Diferentes níveis de selenometionina (mg de SeM/kg) sobre a porcentagem de patologias espermáticas primárias (PP) em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Figure 3. Different selenomethionine (mg SeM/kg of ration) levels on percentage of primary pathologies (PP) in New Zealand White rabbits with six months of age.

$$PS = \exp(2,8 + 0,0003182 * SeM)$$

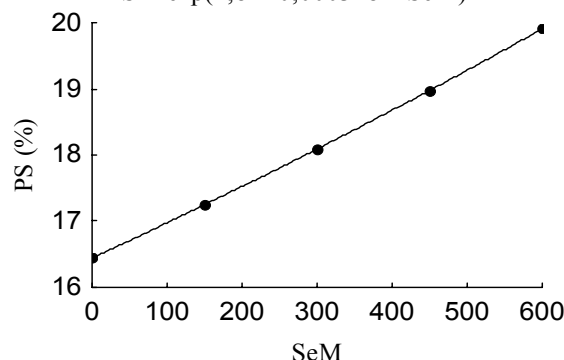


Figura 4. Diferentes níveis de selenometionina (mg de SeM/kg de ração) sobre a porcentagem de patologias espermáticas secundárias (PS) em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Figure 4. Different selenomethionine (mg SeM/kg of ration) levels on secondary pathologies percentage (PS) in New Zealand White rabbits with six months of age.

É possível que SeM não contribua para melhorar o ambiente do epidídimo, pois ao contrário do esperado, até contribuiu para elevar as patologias secundárias as quais se formam neste ambiente.

As patologias totais (PT) e patologias primárias (PP) que assumiram o comportamento de aumentarem e depois reduzirem em um nível maior de adição de selenometionina não pôde ser explicado, fisiologicamente, até o momento, pois não foi encontrada fundamentação na literatura pesquisada, mas pode-se acreditar que conforme o animal foi se adaptando ao nível de inclusão de selenometionina, o sêmen foi respondendo com uma qualidade melhor. É, possível que níveis mais elevados de SeM tenham prejudicado o ambiente epididimário, tendo permitido o aumento de patologias ou então, os níveis utilizados foram insuficientes para neutralizar os EROs (De Lamirande e Gagnon, 1995).

Yousef (2005) trabalharam com suplementações de ácido ascórbico (1,5 g/L de água), em coelhos e avaliando características do sêmen, encontraram 10% de patologias espermáticas primárias nos animais que receberam ácido ascórbico e 12,98% nos controles. Os autores relataram também a redução dos níveis de peroxidação lipídica, que seria uma das causas do aparecimento de patologias nos espermatozoides, o que está de acordo com Sonmez *et al.* (2005) ao reportarem que altas doses de ácido ascórbico reduziram patologias primárias em ratos *Wistar*, melhorando a qualidade do sêmen. No entanto, nesta pesquisa, não encontrou-se efeitos ($p > 0,05$) com relação aos tratamentos com vitamina C.

Nas Tabelas 3 e 4 estão os resultados encontrados para os diferentes tipos de patologias espermáticas analisadas em sêmen de coelhos Nova Zelândia Branco com idade média de 6 meses, tratados com níveis diferentes de selenometionina e vitamina C, respectivamente.

Tabela 3. Diferentes níveis de selenometionina sobre as patologias espermáticas em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.
Table 3. Different selenomethionine levels on spermatic pathologies in New Zealand White rabbits with six months of age.

		Selenometionina (mg/kg de ração) Selenomethionine (mg/kg of ration)									
		0		150		300		450		600	
PAT*		Média Mean	DP SD	Média Mean	DP SD	Média Mean	DP SD	Média Mean	DP SD	Média Mean	DP SD
Primárias (Primary)	NO	57,514	15,637	53,670	15,307	52,482	20,453	48,964	21,577	54,206	16,514
	PT	42,596	15,612	46,330	15,307	47,518	20,453	51,036	21,577	45,794	16,514
	PP	26,186	12,933	29,144	13,356	29,848	15,895	30,379	16,445	27,010	12,839
	PS	16,273	9,461	17,186	9,986	17,665	10,141	20,626	13,745	18,814	10,763
	CAB	0,077	0,561	0,191	0,782	0,160	0,610	0,112	0,494	0,119	0,560
	CABI	0,060	0,239	0,077	0,286	0,086	0,280	0,117	0,455	0,124	0,484
	CAPE	0,538	1,242	0,526	0,928	2,904	10,899	2,000	6,793	0,497	1,319
	CARE	0,044	0,275	0,093	0,422	0,225	1,133	0,087	0,376	0,062	0,333
	CDE	0,473	1,091	0,686	1,182	1,118	2,285	0,556	1,087	0,850	1,589
	CEN	0,841	1,878	1,155	2,520	1,139	2,848	0,893	2,601	1,114	2,497
	CENF	0,170	0,457	0,263	0,718	0,251	0,692	0,204	0,563	0,415	0,915
	CQF	0,302	0,707	0,320	0,769	0,294	0,786	0,469	1,020	0,404	0,824
	CQI	0,604	0,884	0,603	1,130	0,754	1,197	0,964	1,383	0,699	1,669
	CQIN	1,544	2,866	1,588	3,372	1,449	3,357	1,464	2,659	1,389	2,323
Secundárias (Secondary)	CQJC	2,956	3,075	3,129	3,162	3,246	3,611	2,786	2,948	3,663	3,671
	MACRO	0,429	0,823	0,387	0,675	0,422	0,977	0,306	0,693	0,332	0,657
	MICRO	3,352	2,849	3,830	2,837	5,594	7,699	9,194	16,723	3,332	2,783
	CD	13,192	11,004	14,015	11,091	10,091	9,291	9,668	8,099	12,233	10,741
	CAPS	0,027	0,305	0,000	0,000	0,016	0,163	0,015	0,159	0,031	0,202
	CASO	7,451	4,730	9,278	7,361	8,914	6,467	9,668	8,889	8,808	6,741
	CAUSO	4,643	3,646	5,397	3,942	6,449	6,172	7,980	9,364	5,544	4,194
	CDF	1,643	2,167	2,036	2,386	1,936	2,776	1,520	1,955	1,902	2,661
	EDCO	0,011	0,105	0,015	0,124	0,000	0,000	0,026	0,188	0,010	0,102
	GODI	0,385	1,144	0,531	1,775	0,396	1,292	0,321	0,957	0,699	2,737
	GOPR	3,473	6,579	2,129	3,821	2,203	4,187	2,679	5,418	3,560	5,875

*Patologias Espermáticas: NO – normais (%); PT – patologias totais (%); PP – patologias primárias (%); PS – patologias secundárias (%); CD – cauda dobrada; CAB – cauda abaxial; CABI – cauda bifurcada; CAPE – cabeça periforme; CAPS – capuchão solto; CARE – cabeça raquetiforme; CASO – cabeça solta; CAUSO – cauda solta; CDE – cauda degenerada; CDF – cauda dobrada na porção final; CEN – cauda enrolada; CENF – cauda enrolada na porção final; CQF – cauda quebrada na porção final; CQI – cauda quebrada na porção inicial; CQIN – cauda quebrada na porção intermediária; CQJC – cauda quebrada junto à cabeça; EDCO – edema de colo; GODI – gota citoplasmática distal; GOPR – gota citoplasmática proximal; MACRO – macrocefalia; MICRO – microcefalia.

*Spermatic Pathologies: NO – normal (%); PT – total pathologies (%); PP – primary pathologies (%); PS – secondary pathologies (%); CD – bent tail; CAB – abaxial tail; CABI – forked tail; CAPE – pyriform head; CAPS – free cap; CARE – raquetiform head; CASO – tailless; CAUSO – headless; CDE – degenerate tail; CDF – final bent tail; CEN – coiled tail; CENF – final coiled tail; CQF – final broken tail; CQI – initial broken tail; CQIN – mid-piece broken tail; CQJC – tail broken close head; EDCO – swollen neck; GODI – distal droplet; GOPR – proximal droplet; MACRO – macrocephalic sperm; MICRO – microcephalic sperm.

Tabela 4. Diferentes níveis de vitamina C sobre as patologias espermáticas em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Table 4. Different vitamin C levels on spermatic pathologies in New Zealand White rabbits with six months of age.

		Vitamina C (mg/kg de ração) Vitamin C (mg/kg of ration)									
		0		75		150		225		300	
PAT*		Média Mean	DP SD	Média Mean	DP SD	Média Mean	DP SD	Média Mean	DP SD	Média Mean	DP SD
Primárias (Primary)	NO	51,021	20,123	54,043	17,650	53,853	15,494	50,250	18,797	57,349	18,273
	PT	48,979	20,123	45,957	17,650	46,147	15,494	49,750	18,797	42,754	18,252
	PP	29,128	14,955	27,585	15,290	29,084	12,220	31,181	15,468	25,785	13,693
	PS	19,846	11,839	18,319	11,028	17,147	9,950	18,590	12,051	16,790	9,943
	CAB	0,087	0,390	0,081	0,388	0,257	0,958	0,124	0,431	0,113	0,656
	CABI	0,067	0,250	0,075	0,284	0,162	0,502	0,065	0,247	0,097	0,449
	CAPE	1,944	6,817	0,441	0,863	0,707	1,679	2,362	10,474	1,015	3,527
	CARE	0,087	0,416	0,043	0,309	0,131	0,542	0,124	0,984	0,123	0,523
	CDE	0,667	1,303	0,597	1,112	1,005	1,712	0,762	2,002	0,651	1,340
	CEN	0,985	2,360	1,016	3,209	1,230	2,517	0,973	1,993	0,944	2,241
	CENF	0,272	0,720	0,183	0,529	0,288	0,621	0,335	0,876	0,231	0,668
	CQF	0,287	0,673	0,403	0,926	0,372	0,797	0,432	0,948	0,308	0,792
	CQI	0,769	1,721	0,694	1,044	0,691	1,043	0,784	1,305	0,697	1,204
	CQIN	1,554	3,000	1,269	2,660	1,382	2,560	1,805	3,570	1,426	2,801
Secundárias (Secondary)	CQJC	3,072	3,353	3,070	3,408	3,120	3,156	3,551	3,538	2,985	3,105
	MACRO	0,267	0,528	0,328	0,593	0,466	0,813	0,405	1,054	0,405	0,763
	MICRO	6,682	10,836	6,473	14,028	3,691	3,308	3,676	3,984	4,882	6,842
	CD	10,554	9,828	11,231	9,663	13,513	10,433	13,681	11,551	10,277	9,327
	CAPS	0,005	0,072	0,027	0,219	0,016	0,161	0,005	0,074	0,036	0,311
	CASO	9,349	6,876	9,296	7,522	7,586	6,440	9,249	7,739	8,749	6,413
	CAUSO	7,738	7,421	6,801	7,362	5,094	4,041	5,508	4,723	4,954	5,167
	CDF	1,774	2,475	1,591	1,969	2,110	3,009	1,995	2,439	1,574	1,976
	EDCO	0,021	0,142	0,005	0,073	0,021	0,176	0,011	0,104	0,005	0,072
	GODI	0,415	1,250	0,392	1,407	0,880	2,900	0,351	1,230	0,297	1,022
	GOPR	2,364	3,808	1,887	3,519	3,403	5,790	3,649	7,462	2,728	4,815

*Patologias Espermáticas: NO – normais (%); PT – patologias totais (%); PP – patologias primárias (%); PS – patologias secundárias (%); CD – cauda dobrada; CAB – cauda abaxial; CABI – cauda bifurcada; CAPE – cabeça periforme; CAPS – capuchão solto; CARE – cabeça raquetiforme; CASO – cabeça solta; CAUSO – cauda solta; CDE – cauda degenerada; CDF – cauda dobrada na porção final; CEN – cauda enrolada; CENF – cauda enrolada na porção final; CQF – cauda quebrada na porção final; CQI – cauda quebrada na porção inicial; CQIN – cauda quebrada na porção intermediária; CQJC – cauda quebrada junto à cabeça; EDCO – edema de colo; GODI – gota citoplasmática distal; GOPR – gota citoplasmática proximal; MACRO – macrocefalia; MICRO – microcefalia.

*Spermatic Pathologies: NO – normal (%); PT – total pathologies (%); PP – primary pathologies (%); PS – secondary pathologies (%); CD – bent tail; CAB – abaxial tail; CABI – forked tail; CAPE – pyriform head; CAPS – free cap; CARE – raquetiform head; CASO – tailless; CAUSO – headless; CDE – degenerate tail; CDF – final bent tail; CEN – coiled tail; CENF – final coiled tail; CQF – final broken tail; CQI – initial broken tail; CQIN – mid-piece broken tail; CQJC – tail broken close head; EDCO – swollen neck; GODI – distal droplet; GOPR – proximal droplet; MACRO – macrocephalic sperm; MICRO – microcephalic sperm.

Dentre as patologias, foi observado que cauda bifurcada (CABI), cabeça solta (CASO), cauda degenerada (CDE), cauda dobrada na porção final

(CDF), cauda enrolada (CEN), cauda quebrada na porção final (CQF), cauda quebrada na porção inicial (CQI), cauda quebrada na porção intermediária

(CQIN), cauda quebrada junto à cabeça (CQJC), edema de colo (EDCO) e macrocefalia (MACRO) não foram influenciadas pelos tratamentos ($p>0,05$).

Segundo Mies Filho (1987), as patologias espermáticas são classificadas em primárias e secundárias. As primeiras ocorrem durante o processo de espermatogênese e as segundas afetam o espermatozóide depois de formado. Dentre as patologias, de acordo com Mies Filho (1987), as primárias são: cabeça periforme, raquetiforme, estreita, pequena (microcefalia), grande (macrocefalia), curta e grossa, cabeça normal com cauda muito enrolada, inserção abaxial e cauda bifurcada.

Entre as secundárias estão: cabeça normal solta (CASO), gota citoplasmática proximal (GOPR), gota citoplasmática distal (GODI), cauda dobrada (CD), capuchão solto (CAPS). De acordo com Hafez e Hafez (2004), o índice de patologias totais que não prejudica a fertilidade é de 20%. Bilbao (1996) reportou valores de até 25% de patologias espermáticas para a espécie de coelhos.

Dentre as patologias espermáticas, a cauda dobrada (CD), classificada como secundária, foi a que se apresentou em maior quantidade. A vitamina C teve um efeito ($P<0,05$), apresentando o ponto máximo com 160 mg de VC/kg de ração (Figura 5).

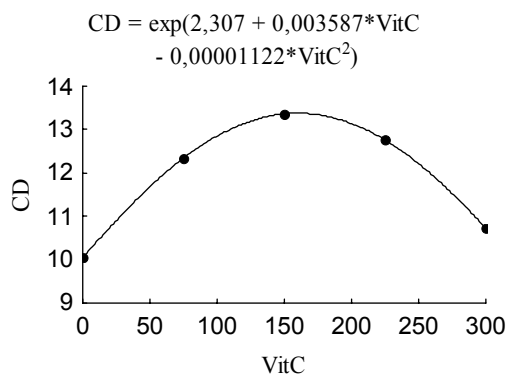


Figura 5. Diferentes níveis de vitamina C (mg de Vit C/kg de ração) sobre a cauda dobrada (CD) em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Figure 5. Different vitamin C (mg Vit C/kg of ration) levels on bent tail (CD) in New Zealand White rabbits with six months of age.

O efeito observado na Figura 5 assumiu um comportamento em que os animais do tratamento com 0 mg de VC/kg de ração apresentaram 10 células de CD, tendo aumentado conforme o aumento e inclusão de vitamina C, e depois de 150 mg de VC/kg de ração a patologia voltou a diminuir, atingindo a 10,5 células no tratamento com 300 mg de VC/kg de ração. Este comportamento não tem, ainda, fundamentação teórica, pois não foi visualizado este comportamento até o momento em nenhuma espécie animal, inclusive o homem, na literatura pesquisada. Talvez, os valores

utilizados neste estudo, no nível de consumo de 100g/animal/dia, tenha sido insuficiente para gerar ambiente epididimário bom para os espermatozoides ou tenha sido insuficiente para interferir na espermatogênese ou reduzir os radicais livres, como foi o caso de Dawson *et al.* (1992), em que houve benefício de VC sobre os espermatozoides.

Com relação a cauda abaxial (CAB), que é classificada como primária, observou-se um efeito ($p<0,05$) dos tratamentos com vitamina C (Figura 6), em que o comportamento foi o mesmo observado na CD. O ponto máximo encontrado foi em 169 mg de VC/kg de ração (0,18), tendo, a partir daí, voltado a decrescer até atingir valores próximos aos dos controles. Assim como no caso de CD observado acima, pode-se fazer inferência de que os níveis utilizados nesta pesquisa, no nível de consumo de 100g de ração/dia/animal, a vitamina C tenha sido insuficiente para melhorar o processo de espermatogênese.

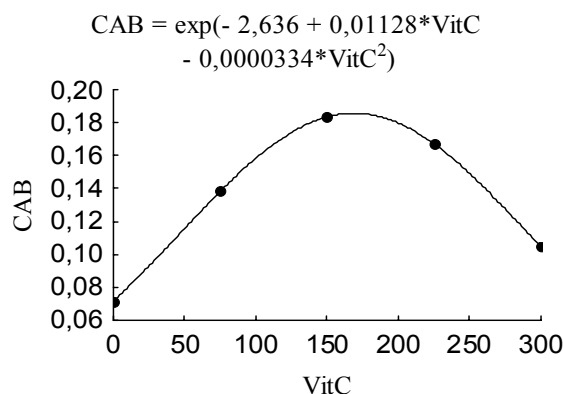


Figura 6. Diferentes níveis de vitamina C (mg de Vit C/kg de ração) sobre a cauda abaxial (CAB) em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Figure 6. Different vitamin C (mg Vit C/kg of ration) levels on abaxial tail (CAB) in New Zealand White rabbits with six months of age.

A cabeça periforme (CAPE), uma das patologias primárias, foi influenciada ($P<0,05$) pela selenometionina, em que o ponto máximo ocorreu em 337 mg de SeM/kg de ração (Figura 7). O comportamento foi idêntico às patologias CD e CAB. O número máximo de CAPE foi de 2,4 células no tratamento com 300 mg de SeM/kg de ração, tendo, a partir daí, voltado a decrescer até atingir valores próximos aos controles, não tendo sido encontrado explicação biológica para tal, pois não existe este tipo de trabalho em nenhuma espécie animal. Mas como em CD e CAB pode ser que as quantidades de SeM não tenham sido suficientes para neutralizar os efeitos negativos dos radicais livres sobre a espermatogênese.

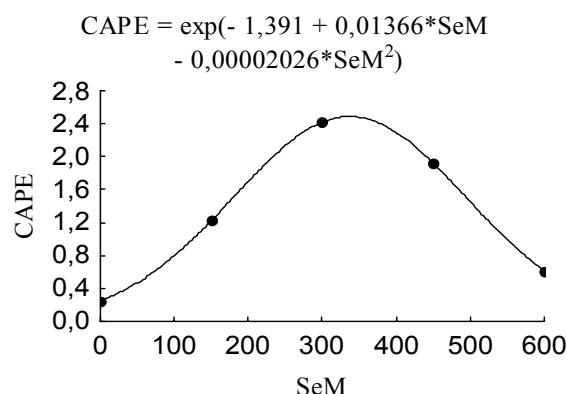


Figura 7. Diferentes níveis de selenometionina (mg de SeM/kg de ração) sobre o número de espermatozoides com cabeça periforme (CAPE) em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Figure 7. Different selenomethionine (mg SeM/kg of ration) levels on number of spermatozoa with pyriform head (CAPE) in New Zealand White rabbits with six months of age.

Na patologia secundária de capuchão solto (CAPS) foi observado efeito linear ($p < 0,05$) com relação à vitamina C, em que o tratamento 0 mg de VC/kg de ração foi o melhor, pois conforme ocorreu a adição de vitamina C, houve um aumento linear de CAPS (Figura 8), mas com relação aos tratamentos com selenometionina encontrou-se o menor valor a 273 mg de SeM/kg de ração, aproximando-se de 0 (zero), passando a se elevar a partir de 300 mg de SeM/kg de ração, provavelmente, devido os níveis elevados de selenometionina que poderiam se tornar tóxico para os espermatozoides.

A cabeça raquetiforme (CARE) foi influenciada ($p < 0,05$) pelos tratamentos contendo selenometionina (Figura 9), tendo se elevado até em 311 mg de SeM/kg de ração, onde o valor foi 0,17 células, reduzindo depois para valores próximo aos do controle. Este resultado teve o mesmo comportamento como em outras patologias acima descritas, presumindo-se, talvez, que os valores de SeM ingeridos pelos coelhos tenha sido insuficientes para combater os radicais livres que interferem negativamente no processo de espermatogênese.

$$\text{CAPS} = \exp(-4,334 - 0,006688 \cdot \text{SeM} + 0,003227 \cdot \text{VitC} + 0,00001226 \cdot \text{SeM}^2)$$

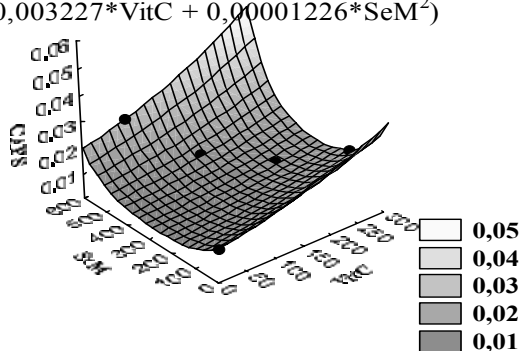


Figura 8. Diferentes níveis de selenometionina (mg de SeM/kg de ração) e vitamina C (mg de Vit C/kg de ração) sobre capuchão solto (CAPS) em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Figure 8. Different selenomethionine (mg SeM/kg of ration) and vitamin C (mg Vit C/kg of ration) levels on free cap (CAPS) in New Zealand White rabbits with six months of age.

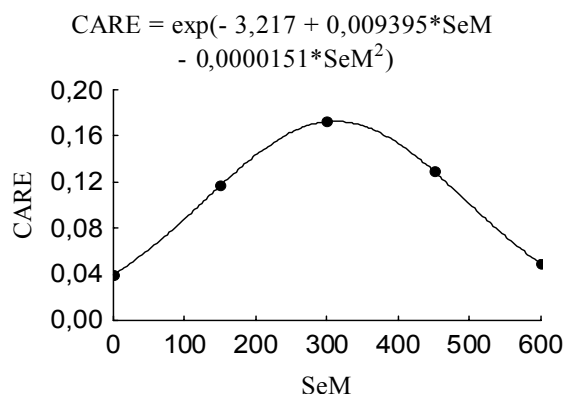


Figura 9. Diferentes níveis de selenometionina (mg de SeM/kg de ração) sobre cabeça raquetiforme (CARE) em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Figure 9. Different selenomethionine (mg SeM/kg of ration) levels on racketiform head (CARE) in New Zealand White rabbits with six months of age.

Para cauda solta (CAUSO) houve influência ($p < 0,05$) da selenometionina e da vitamina C, apesar não ter havido interações entre os tratamentos (Figura 10). O ponto de maior valor da patologia foi em 380 mg de SeM/kg de ração, havendo melhora a partir deste nível. Já, nos tratamentos com vitamina C (VC) foi observado uma diminuição linear significativa à medida que houve o aumento da VC aos tratamentos. Apesar da CAUSO ser uma patologia secundária, houve uma influência positiva da VC, melhorando esta patologia. Este efeito visualizado nesta patologia vem corroborar com os achados de outros pesquisadores (Aitken e Fishel, 1994; Halliwell e Gutteridge, 1999; Nordberg e Árner, 2001) sobre o efeito positivo da vitamina C na manutenção da integridade das membranas dos espermatozoides.

$$\text{CAUSO} = \exp(1,679 + 0,002567 \cdot \text{SeM} - 0,001518 \cdot \text{VitC} - 0,000003379 \cdot \text{SeM}^2)$$

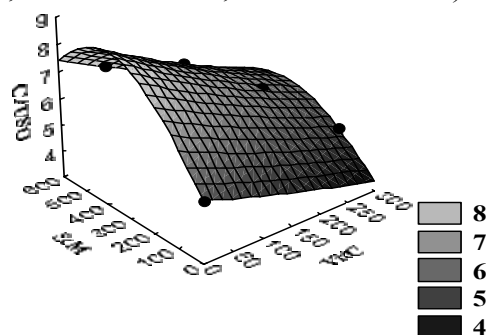


Figura 10. Diferentes níveis de selenometionina (mg de SeM/kg de ração) e vitamina C (mg de Vit C/kg de ração) sobre a patologia cauda solta (CAUSO) em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Figure 10. Different selenomethionine (mg SeM/kg of ration) and vitamin C (mg Vit C/kg of ration) levels on tailless pathology (CAUSO) in New Zealand White rabbits with six months of age.

Foi notado um aumento de cauda enrolada na porção final (CENF) ($p < 0,05$) nos tratamentos com selenometionina, verificando-se valores de 0,36 células com 600 mg de SeM/kg de ração (Figura 11). Para Mies Filho (1987), o total de anormalidades espermáticas pode chegar a 20%, com o máximo de 10% de anormalidades primárias ou 30%, desde que todas anormalidades sejam secundárias. O número de CENF encontrado neste estudo foi muito pequeno, não influenciando a capacidade fecundante do sêmen, se observada isoladamente. Pode-se presumir que a selenometionina apresentou toxicidade a medida que foi sendo aumentada na ração, no caso específico desta patologia, embora os animais do tratamento com o nível mais elevado não tenham manifestado nenhum sintoma clínico de intoxicação.

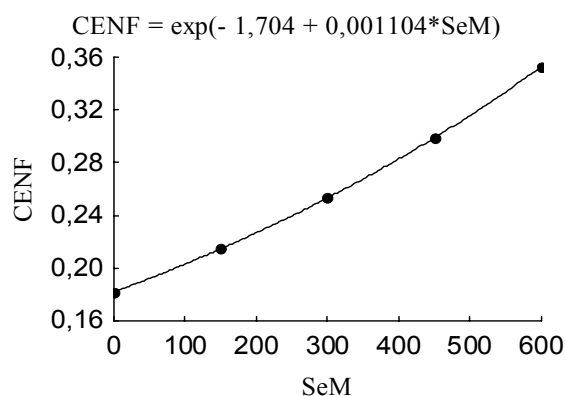


Figura 11. Diferentes níveis de selenometionina (mg de SeM/kg de ração) sobre cauda enrolada (CENF) na porção final em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Figure 11. Different selenomethionine (mg SeM/kg of ration) levels on final coiled tail (CENF) in New Zealand White rabbits with six months of age.

A maioria dos espermatozoides, ao entrarem no epidídimo, apresentam gota citoplasmática proximal. Esta gota representa a falta de maturidade do espermatozoide; à medida que o espermatozoide amadurece a gota citoplasmática move-se para a região distal da peça intermediária da cauda. No momento da ejaculação, muitos dos espermatozoides apresentam gota citoplasmática distal, mas esta não teria tanta importância, sendo classificada como uma patologia secundária (Axnér *et al.*, 1999). Neste estudo, os achados de gota citoplasmática (GODI) foram influenciados ($p < 0,05$) pelos diferentes níveis de vitamina C (Figura 12). Até os 134 mg de VC/kg de ração, onde o número de GODI atingiu 0,65, houve aumento desta patologia, mas deste ponto para

frente houve redução progressiva, atingindo o menor valor com 300 mg de VC/kg de ração (0,25 células), revelando que doses altas de vitamina C poderiam contribuir para o amadurecimento dos espermatozoides no epidídimo. Também pode-se inferir que os valores utilizados neste estudo, talvez tenham sido reduzidos para exercer um efeito completo no epidídimo e, assim, melhorar ainda mais o processo de amadurecimento dos espermatozoides.

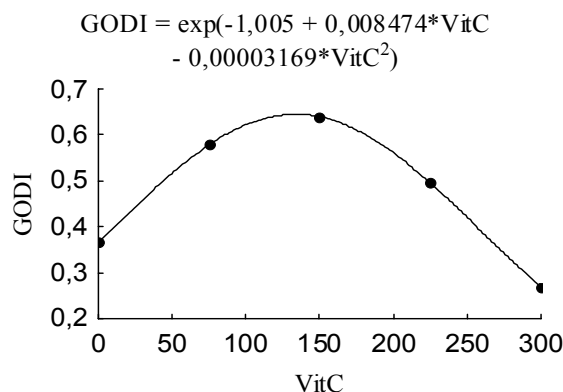


Figura 12. Diferentes níveis de vitamina C (mg de Vit C/kg de ração) sobre gota citoplasmática distal (GODI) em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Figure 12. Different vitamin C (mg Vit C/kg of ration) levels on distal droplet (GODI) in New Zealand White rabbits with six months of age.

A gota citoplasmática proximal (GOPR), segundo Axnér *et al.* (1999), pode permanecer na porção proximal da peça intermediária, mesmo depois da ejaculação, provavelmente diminuindo a capacidade fecundante deste espermatozoide. Foi observada, neste trabalho, uma diminuição ($p < 0,05$) das GOPR com relação aos tratamentos contendo diferentes níveis de selenometionina. O ponto de melhor resultado foi com 286 mg de SeM/kg de ração (Figura 13), chegando a 2,2 células com GOPR. Após este nível, provavelmente, por se tornar tóxico para os animais, elevou-se. Isto, possivelmente, demonstra que a selenometionina poderia atuar na maturação do espermatozoide até um certo nível de inclusão (286 mg de SeM/kg), melhorando a capacidade fecundante dos mesmos.

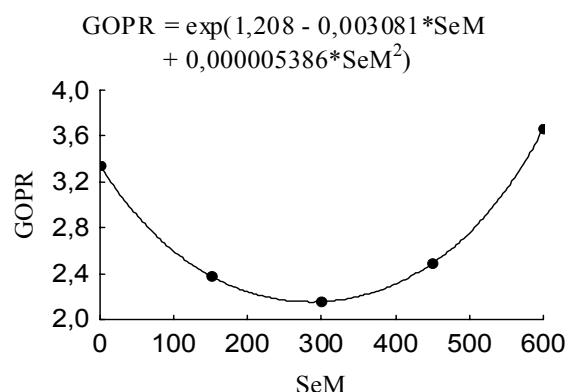


Figura 13. Diferentes níveis de selenometionina (mg de SeM/kg de ração) sobre gota citoplasmática proximal (GOPR) em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Figure 13. Different selenomethionine (mg SeM/kg of ration) levels on proximal droplet (GOPR) in New Zealand White rabbits with six months of age.

A microcefalia (MICRO) é uma patologia classificada como primária, que se forma durante a espermatogênese (Mies Filho, 1987).

Foi observado um efeito significativo com relação a selenometionina e a vitamina C, mas não foi encontrado interações entre os dois. Notou-se que a medida que foi adicionado mais SeM/kg de ração aumentaram as microcefalias espermáticas, atingindo o máximo com 360 mg de SeM/kg de ração, voltando a reduzir a partir daí até o nível de 600 mg de SeM/kg de ração. Provavelmente, a selenometionina da dieta teria sido insuficiente para proteger, de forma completa, o processo de espermatogênese ou o próprio espermatozóide. No entanto, as microcefalias reduziram-se ($p < 0,05$) à medida que houve um aumento do nível de inclusão de VC aos tratamentos (Figura 14).

Resultados benéficos para o sêmen eram esperados, pois a vitamina C é um dos principais antioxidantes das membranas dos espermatozoides, protegendo a célula dos danos oxidativos e formação de EROs (Nordberg e Árner, 2001). Por outro lado, era esperado melhora significativa tanto com relação à SeM quanto com relação à VC, na maioria das patologias, o que não foi visualizado. Não era esperado, principalmente, aumento desta patologia ou de outras em consequência da suplementação com SeM, pois segundo os autores pesquisados (Dawson et al, 1992; Castellini et al., 2002), tanto a vitamina C como o selênio tem uma importante participação como antioxidante das membranas dos espermatozoides, reduzindo a produção de espécies reativas ao oxigênio (EROs).

$$\text{MICRO} = \exp(1,172 + 0,005582 * \text{SeM} - 0,001654 * \text{VitC} - 0,000007761 * \text{SeM}^2)$$

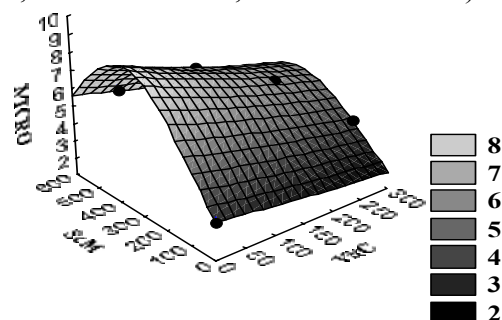


Figura 14. Diferentes níveis de selenometionina (mg de SeM/kg de ração) e vitamina C (mg de Vit C/kg de ração) sobre microcefalia (MICRO) em coelhos Nova Zelândia Branco com seis meses de idade.

Figure 14. Different selenomethionine (mg SeM/kg of ration) and vitamin C (mg Vit C/kg of ration) levels on microcephalic sperm (MICRO) in New Zealand White rabbits with six months of age.

Não foi possível encontrar, na literatura, trabalhos a respeito da influência de selenometionina e vitamina C sobre as patologias espermáticas em coelhos, o que dificultou a discussão. Na literatura são relatados apenas que a vitamina C e selênio têm uma importância para manutenção da integridade das membranas celulares, mas trabalhos específicos sobre patologias espermáticas não existem em nenhuma espécie animal, inclusive o homem. Poderia se pensar na ação destes produtos no hipotálamo, interferindo na produção de fatores liberadores de gonadotrofina ou na hipófise, interferindo na síntese dos hormônios folículo-estimulante e luteinizante ou nas glândulas relacionadas com o metabolismo como a tireóide, adrenais, fígado e pâncreas.

Conclusão

As patologias totais e primárias assumiram o comportamento fisiológico, de se elevarem com o aumento de adição de selenometionina na ração e depois de certo nível voltaram a diminuir, mas as patologias secundárias pioraram progressivamente com aumento de selenometionina.

As patologias espermáticas como: cauda dobrada, cauda abaxial, cabeça raquetiforme, cauda solta, gota citoplasmática distal assumiram um comportamento fisiologicamente fora do esperado, havendo piora de valores com níveis iniciais até intermediários de selenometionina e vitamina C, voltando a diminuir com níveis mais elevados. A gota citoplasmática proximal melhorou em tratamentos contendo níveis intermediários de selenometionina e a microcefalia melhorou à medida que se adicionou vitamina C na ração.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação Araucária pelo suporte financeiro para realização desta pesquisa.

Referências

- AEC-TABLES. *Recomendações para nutrição animal*. 5. ed. Antony Cedex: Rhône-Poulenc Animal Nutrition, 1987.
- AITKEN, R.J. Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. *Reprod. Fertil. Dev.*, Louisville, v. 7, p. 659-668, 1995.
- AITKEN, R.J.; FISHEL, H. Reactive oxygen species generation and human spermatozoa: the balance of benefit and risk. *Bioessays*, New York, v. 16, p. 259-267, 1994.
- ALVAREZ, J.G.; STOREY, B.T. Role of glutathione peroxidase in protecting mammalian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation. *Gamete Res.*, New York, v. 23, p. 77-79, 1989.
- ALVARIÑO, J.R.M. Reproductive performance of male rabbits. In: WORLD CONGRESS OF ANIMAL FEEDING, 7., 2000, Valencia. *Proceedings...* Valencia: ACAF, p. 13-35, 2000.
- ANDREAZZI, M.A. *Avaliação reprodutiva de matrizes e coelhos reprodutores alimentados com ração, contendo diferentes fontes de óleos vegetais*. 2002. Tese (Doutorado em Zootecnia)–Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2002.
- AXNÉR, E. *et al.* Morphology and motility of spermatozoa from different regions of epididymal duct in the domestic cat. *Theriogenology*, New York, v. 52, p. 767-778, 1999.
- BARBOSA, F.A.; SOUZA, G.M. Influência dos principais microminerais na reprodução de bovinos (Parte final). Seções técnicas/ Reprodução e Melhoramento Genético, 2004. Disponível em: <<http://www.rehagro.com.br/>>. Acesso em: 07 jun. 2005.
- BILBAO, M.M. Manejo en inseminación artificial: factores que afectan a la calidad seminal y al índice de fertilidad. In: SIMPOSIO CUNICULTURA, 21., 1996, Amposta. *Proceedings...* Amposta: ASESCU, p. 1-9, 1996.
- CASTELLINI, C. *et al.* Effect of supranutritional level of dietary alpha-tocopheryl acetate and selenium on rabbit semen. *Theriogenology*, New York, v. 58, p. 1723-1732, 2002.
- DAWSON, E.B. *et al.* Effect of ascorbic acid supplementation on the sperm quality smokers. *Fertil. Steril.*, New York, v. 58, p. 1034-1039, 1992.
- DE LAMIRANDE, E.; GAGNON, C. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum. Reprod.*, Oxford, v. 10, n. 1, p. 15-21, 1995.
- EDENS, F. Involvement of Sel-Plex in physiological stability and performance of broiler chickens. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY. Procc. Alltech's 17th Annual Symposium. Nottingham University Press, 2001.
- EICHNER, E.R. Physical activity and free radicals. In: BOUCHARD, C. (Ed.). *Physical activity, fitness and health*. Champaign, Illinois: Human Kinetics, p. 35-42, 1994.
- ENGEL, S. *et al.* Lipid peroxidation in human spermatozoa and maintenance of progressive sperm motility. *Andrology*, v. 31, n. 1, p. 17-22, 1999.
- HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. *Reprodução animal*. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. *Free radicals in biology and medicine*. 3. ed. New York: Oxford, 1999.
- LAGERLÖFF, N. Morphologische unterprecheegen uber veranderugon in spermabild und in deuhoclen bei bullen mit vermindeter oder aufgehobenor fertilitat. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* Uppsala, 1934.
- LUCK, M.R. *et al.* Minireview: ascorbic acid and fertility. *Biol. Reprod.*, Madison, v. 52, p. 262-266, 1995.
- MIES FILHO, A. *Reprodução dos animais e inseminação artificial*. 5. ed. Porto Alegre: Sulina, v. 2, 1987.
- NELDER, J.A.; WEDDERBURN, R.W.M. Generalized linear models. *J. Royal Stat. Soc. A*, v. 135, n. 3, p. 370-384, 1972.
- NOGUCHI, T. *et al.* Mode of action of selenium and vitamin E in prevention of exudative diathesis in chicks. *J. Nutr.*, Bethesda, v. 103, p. 1502-1511, 1973.
- NORDBERG, J.; ÅRNER, E.S.J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic. Biol. Med.*, New York, v. 31, n. 11, p. 1287-1312, 2001.
- SCAPINELLO, C. *et al.* Influência de diferentes níveis de metionina+cistina sobre a produção de sêmen de coelhos Nova Zelândia Branco. *Rev. Unimar*, Maringá, v. 19, n. 3, p. 923-931, 1997.
- SONMEZ, M. *et al.* The effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality, lipid peroxidation and testosterone levels of male Wistar rats. *Theriogenology*, New York, (Prelo), 2005.
- STATSOFT, INC. Statistica (data analysis software system), version 6. <www.statsoft.com, 2003>.
- WILLIAMS, W.W. Technique of collection semen for laboratory examination with review of several diseased bulls. *Cornel Vet.*, Ithaca, v. 10, p. 87-94, 1920.
- YOUSEF, M.I. Protective role of ascorbic acid to enhance reproductive performance of male rabbits treated with stannous chloride. *Toxicology*, Shannon, v. 207, p. 81-89, 2005.

Received on December 02, 2005.

Accepted on March 20, 2006.