

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**Conteúdo de selênio em ovos de galinhas reprodutoras  
pesadas suplementadas com selenito de sódio ou Zn-  
L-Se-metionina**

RENATA NUERNBERG REIS  
Médica Veterinária - UDESC

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção  
do Grau de Mestre em Zootecnia

Área de Concentração Nutrição Animal

Porto Alegre (RS), Brasil  
Março de 2009

## **AGRADECIMENTOS**

A minha mãe Marlene pelo apoio, incentivo, torcida e por confiar no meu esforço. Meu modelo de força de vontade, de garra e de eficiência.

Ao meu pai Joaquim que sempre demonstrou grande orgulho por mim e tenho certeza, que de onde ele estiver agora, continua torcendo pelo meu sucesso.

A meus irmãos Karin, Jean e Karina pela ajuda durante toda minha trajetória.

Ao Professor Sérgio L. Vieira pelos ensinamentos e conselhos que foram muitos importantes para construção tanto do meu perfil profissional quanto do pessoal.

Aos colegas da pós Cibele, Jaime, Jorge, Josemar, Dimitri, Maria e aos da graduação Fúlvio, Rafael, Pedro, Jolvane, Ana e outros pela troca de experiência, pela ajuda no trabalho em grupo que funcionou tão bem e principalmente pela amizade. Foi muito bom e divertido fazer parte desse grupo!!!

# Conteúdo de selênio em ovos de galinhas reprodutoras pesadas suplementadas com selenito de sódio ou Zn-L-Se-metionina<sup>1</sup>

**Autor:** Renata Nuernberg Reis

**Orientador:** Sérgio Luiz Vieira

## Resumo

Este estudo avaliou o efeito de fontes e níveis de suplementação de selênio (Se) em dietas de aves reprodutoras pesadas sobre produção de ovo e a concentração de Se no conteúdo total do ovo. Foram utilizadas 50 reprodutoras Cobb 500 de 22 semanas, alojadas individualmente e alimentadas com dieta basal sem a suplementação de Se por três semanas. Após as aves receberam cinco tratamentos dietéticos com 10 repetições de uma ave cada, sendo compostos por selenito de sódio (inorgânico; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, 45% Se) e Zn-L-Se-metionina (orgânico; ZnSeMet, 0,1% Se), como segue: T1- 0,15% inorgânico; T2- 0,30% inorgânico; T3- 0,15% orgânico; T4- 0,30% orgânico; T5- 0,15% inorgânico e 0,15% orgânico. Avaliações foram realizadas em dois períodos de 4 semanas. A produção de ovo e o peso do ovo foram diariamente registrados e a gravidade específica foi medida duas vezes por semana até o final do estudo. No primeiro período os animais alimentados com 0,30 ppm de Se orgânico apresentaram maior percentual de produção de ovo ( $P < 0,05$ ), sendo que, no segundo período, nenhuma diferença foi observada entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ). As avaliações entre os períodos apresentaram que o peso do ovo não foi diferente ( $P > 0,05$ ), sendo que a gravidade específica foi menor no segundo período ( $P < 0,05$ ) e a concentração de Se no ovo aumentou com o tempo de suplementação ( $P < 0,05$ ), independentemente da fonte de Se suplementada. A comparação dos tratamentos que continham apenas uma única fonte de Se demonstrou que a concentração de Se no ovo foi maior com a suplementação do maior nível de ZnSeMet ( $P < 0,05$ ). Entretanto, a suplementação com a combinação das fontes (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> e ZnSeMet) produziu similares concentrações de Se no ovo. O aumento da dose de selenito de sódio de 0,15 para 0,30 ppm não foi acompanhado por um aumento da deposição de Se no ovo.

Palavra-chave: reprodutoras de frango, selênio orgânico, Zn-L-Se-metionina,

<sup>1</sup> Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Nutrição Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (59p.) Março, 2009.

## Selenium Contents of Eggs from Broiler Breeders Supplemented with Sodium Selenite or Zn-L-Se-methionine<sup>1</sup>

**Author:** Renata Nuernberg Reis

**Adviser:** Sérgio Luiz Vieira

### ABSTRACT

This study evaluated effects of sources and levels of Se in broiler breeder diets on egg production and Se concentration in eggs. Fifty Cobb 500 hens 22 wks of age were individually placed in steel cages and fed a basal diet without Se supplementation for 3 wks. Birds were then provided five dietary treatments with 10 replicates of one individual hen, which had dietary selenium supplied from sodium selenite (inorganic; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, 45% Se) and/or from Zn-L-Se-methionine (organic; ZnSeMet, 0.1% Se) as follow: T1- 0.15% Se from Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>; T2- 0.30% Se from Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>; T3- 0.15% Se from ZnSeMet; T4- 0.30% Se from ZnSeMet; T5- 0.15% Se from Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> + 0.15% Se from ZnSeMet. Evaluations were conducted in two periods of 4 wks each. Experimental diets were prepared through the supplementation of corn-soybean meal diets. Egg production and egg weight were recorded daily, whereas specific gravity was measured twice a wk towards the end of the study. In the first period, the hens fed 0.30 ppm of organic Se produced more eggs ( $P < 0.05$ ) whereas no difference ( $P > 0.05$ ) in egg production was found in the second period. Period evaluations showed that egg weight was not different ( $P > 0.05$ ), whereas specific gravity decreased ( $P < 0.05$ ) and Se concentration in eggs increased ( $P < 0.05$ ) in the second period, regardless of Se source. The comparison between treatments with single Se sources demonstrated that the concentration of Se in eggs was greater with the highest level of ZnSeMet ( $P < 0.05$ ) and, the supplementation of a combination of sources (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> and ZnSeMet) produced similar concentrations of Se in the egg ( $P < 0.05$ ). However, increasing the dose of sodium selenite from 0.15 to 0.30 ppm was not accompanied by increased deposition of Se in the egg.

Key-words: broiler breeder, hatching egg, organic Se, Zn-L-Se-methionine

<sup>1</sup> Master in Science dissertation in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil, (59p.) March, 2009.

## SUMÁRIO

	Página
1. CAPÍTULO I	
1.1. INTRODUÇÃO .....	1
1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
1.2.1. Importância da transferência de nutriente ao embrião.....	3
1.2.2. Funções do Selênio.....	5
1.2.3. Radicais livres e defesa antioxidante.....	7
1.2.4. Exigências Nutricionais .....	8
1.2.5. Selênio no solo.....	10
1.2.6. Metabolismo nas Plantas .....	11
1.2.7. Metabolismo nos Animais .....	13
1.2.8. Formas de Suplementação .....	16
1.2.9. Relação Selênio vs Vitamina E .....	19
1.2.10. Relação Selênio vs Metionina .....	20
1.2.11. Relação Selênio vs Glutathiona peroxidase.....	22
1.2.12. Selênio e o tempo de suplementação.....	23
1.2.13. Deficiência de Selênio.....	24
1.3. HIPÓTESES.....	27
1.4. OBJETIVOS .....	27
1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	28
2. CAPÍTULO II EFFECT OF SUPPLEMENTING OF SELENIUM ORGANIC IN DIETS OF BREEDERS HENS ON EGG SELENIUM CONTENT	
Summary.....	34
Description of problem.....	35
Materials and methods.....	36
Results and discussion.....	39
Conclusions and applications.....	44
References and notes.....	45
3. CONCLUSÕES GERAIS.....	48
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
4. APÊNDICES.....	51

## RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Relação de selenoproteínas, locais de ação e função.....	6
Tabela 2. Consumo minerais pela população brasileira.....	10

## RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estrutura da metionina e da selenometionina.....	14
Figura 2. Estrutura da Zn-L-Se-metionina.....	19

## RELAÇÃO DE APÊNDICES

	Página
Apêndice 1. Programa de Luz.....	52
Apêndice 2. Média da gravidade específica dos ovos por período.....	52
Apêndice 3. Média do peso dos ovos por período.....	53
Apêndice 4. Média da produção de ovos por período .....	55
Apêndice 5. Gráfico da produção de ovos por período.....	56
Apêndice 6. Média do conteúdo de selênio nos ovos por período.....	57
Apêndice 7. Análise estatística da gravidade específica.....	57
Apêndice 8. Análise estatística do peso de ovos.....	58
Apêndice 9. Análise estatística da produção de ovos.....	58
Apêndice 10. Análise estatística do conteúdo de selênio no ovo.....	58
Apêndices 11. Gráfico do efeito do tempo sobre o conteúdo de Se no ovo.....	59
Apêndice 12. Provável concentração de Se nos ingredientes.....	59



## RELAÇÃO DE ABREVIATURAS

AAFCO	Association of American Feed Control Officials
BED	balanço eletrolítico da dieta
Cu	cobre
FDA	Administração de drogas e alimentos, EUA
Fe	ferro
GPX	glutathione peroxidase
GPX1	glutathione peroxidase
GPX3	glutathione peroxidase plasmática
GPX2	glutathione peroxidase gastrointestinal
GPX4	glutathione peroxidase da membrana intracelular
I	iodo
Kg	kilograma
mcg	micrograma
mg	miligrama
Mn	mangânes
MS	matéria seca
PUFA	ácido graxo polinsaturado
Se	selênio
SeCis	selenocisteína
SeMet	selenometionina
T3	3,3,5 triiodotironina
T4	tireoxina
Zn	zinco
ZnSeMet	Zn-L-Se-metionina

## 1. CAPÍTULO I

## 1.1. INTRODUÇÃO

A melhora do perfil nutricional do ovo fértil pode ser realizada através da suplementação da dieta materna com nutrientes específicos e tem como objetivo otimizar a viabilidade, eclodibilidade e o crescimento inicial das aves eclodidas. Durante todo o período de incubação e, principalmente, próximo à eclosão, onde o metabolismo é intenso, há uma produção acentuada de radicais livres. Além disso, a grande quantidade de ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) presentes no tecido embrionário aumenta a exigência dos pintinhos por antioxidantes, pois estes são mais sensíveis à rupturas provocadas pelos radicais livres.

O micromineral selênio (Se) é um nutriente essencial na nutrição animal e como componente da enzima glutathione peroxidase (GPX) atua na neutralização de radicais livres. Além desta, faz parte de outras selenoproteínas nos quais desempenha diferentes funções. Na natureza, o Se está presente nas formas orgânica e inorgânica, sendo a quantidade do mesmo nos alimentos dependente da concentração de Se e da composição química do solo. O Se está distribuído irregularmente pelo solo e a biodisponibilidade do mineral para as plantas é menor em solos com baixo pH.

Durante o metabolismo, o Se é biotransformado em selenoaminoácidos tanto nas plantas como nos animais. Devido a sua semelhança química com o enxofre, o Se pode substituir o mesmo na molécula dos aminoácidos sulfurados. Portanto, os alimentos protéicos tendem a apresentar maior concentração de Se em sua composição. Dentre os selenocomponentes

identificados no tecido vegetal a selenometionina (SeMet) é a forma predominante.

Normalmente, a suplementação das dietas para os animais é feita com a utilização de fontes inorgânicas de Se, majoritariamente a partir do selenito de sódio. Estudos mostram que o Se inorgânico apresenta menor biodisponibilidade para os animais quando comparado com algumas fontes orgânicas. As fontes orgânicas frequentemente testadas são aquelas de síntese fermentativa. Estes são compostos por uma variedade de moléculas orgânicas, sendo a selenometionina o principal componente. Por serem absorvidas pelo mesmo canal de aminoácidos neutros a biodisponibilidade das fontes de Se orgânico é maior. Com esse tipo de absorção as fontes orgânicas não competem com outros íons na luz intestinal, assim como os sulfatos competem com o Se.

Uma fonte recentemente proposta de Se orgânico é a Zn-L-Se-metionina (ZnSeMet) produzida através da síntese química. Esta fonte apresenta as mesmas vantagens que o Se orgânico de síntese fermentativa em relação às fontes inorgânicas. Entretanto, a composição do produto de síntese química não apresenta a variabilidade natural dos componentes obtidos por fermentação. Este é, portanto composto exclusivamente de ZnSeMet.

A eficiência do sistema antioxidante dos animais é determinada pela interação de muitos fatores. A deficiência de Se associada à baixa suplementação de vitamina E é responsável pelo desenvolvimento de várias doenças. A suplementação de fontes de Se de alta biodisponibilidade na dieta materna é importante para potencializar a ação do sistema antioxidante do

pintinho. O conteúdo de selênio no ovo depende de sua concentração na dieta das aves e também da forma em que ele foi usado na dieta. Consequentemente, a composição da dieta materna é o maior determinante do desenvolvimento do sistema antioxidante dos pintinhos, durante os períodos da embriogênese e dos primeiros dias do desenvolvimento pós-natal.

## **1.2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **1.2.1. Importância da transferência de nutriente ao embrião**

O sucesso do processo de incubação e do desenvolvimento corporal logo após a eclosão é dependente de inúmeros fatores relacionados com o ovo. O tamanho do ovo e o formato da casca podem ser importantes (Pappas *et al.*, 2006), sendo que o percentual de nascimento de ovos pequenos igual a 62,4%, aqueles com a casca deformada igual a 65% e com casca áspera de 18,8% (Macari & Gonzales, 2003). Além disso, a limitação na disponibilidade de nutrientes seja pela quantidade ou pela forma em que se apresentam levam ao insucesso do processo de incubação (Vieira, 2007), a uma diminuição da eclodibilidade que também está correlacionada a um aumento na mortalidade da primeira semana (Pappas *et al.*, 2006).

A composição da gema, da clara e da casca são relativamente constantes, sendo que moderadas modificações são possíveis e dependentes da composição da dieta da reprodutora. A melhora do perfil nutricional do ovo pode otimizar o desenvolvimento corporal do embrião. Deficiências de minerais específicos podem ser rapidamente induzidas em embriões quando as reprodutoras recebem quantidades insuficientes desses minerais e, como

conseqüência, produzem ovos com reduzidas quantidades dos mesmos (Richards & Steele, 1987). Em geral, a maior porção da maioria dos microminerais é depositada na gema, sendo que pequenas quantidades são depositadas na porção do albúmen (Richards, 1997). Alguns microminerais apresentam variável distribuição dependendo da forma química utilizada na dieta da ave reprodutora. O Se orgânico é depositado em maiores proporções no albúmen do que na gema (Latshaw, 1975).

Por volta do terceiro ao quinto dia de idade, o saco vitelínico é usualmente absorvido, sendo depois disso o animal dependente dos nutrientes obtidos da alimentação exógena. Surai (2000) sugere que a absorção de Se da dieta por pintinhos recém-nascidos não é suficiente durante os primeiros dias de vida e que estes devem realmente ter reservas desse mineral acumuladas durante o período da embriogênese. Consequentemente, a composição da dieta materna é o maior determinante do desenvolvimento do sistema antioxidante da ave durante a embriogênese e o período pós-natal.

O tecido do embrião necessita de efetiva proteção antioxidativa, pois contêm grandes quantidades de ácidos graxos polinsaturados (Speake *et al.*, 1998). Atuam na proteção contra radicais livres os antioxidantes naturais como as vitamina E e C e os carotenóides, as enzimas superóxido desmutase, glutathione peroxidase, catalase e os minerais selênio, zinco e cobre (Bianchi & Antunes, 1999). Desses, a vitamina E, os minerais e os carotenóides são transferidos do alimento das matrizes para o ovo e, subsequentemente, para os tecidos embrionários, enquanto que os outros são sintetizados no organismo do animal (Surai, 2000).

Em paralelo, acredita-se que o rápido desenvolvimento das genéticas atuais de frango de corte e também fatores estressantes poderiam conduzir a uma produção acentuada de radicais livres (Surai, 2000). O aumento de radicais livres têm sido correlacionado com a redução no desempenho zootécnico dos animais (Surai & Speake *et al.*, 2001), além de ser um mecanismo patobioquímico que está envolvido no início e na progressão de várias doenças (Underwood & Suttle, 1999). Com o rápido desenvolvimento das genéticas atuais, as exigências de Se podem supostamente estar aumentadas.

#### 1.2.2. Funções do Selênio

O Se é necessário para crescimento e fertilidade dos animais, para a prevenção de uma variedade de doenças, e está relacionado com o nível de vitamina E na dieta (Underwood & Suttle, 1999). Suas funções tornam-se mais claras à medida que novas selenoproteínas vão sendo descobertas, sendo que as mais conhecidas são aquelas da família da GPX. Na Tabela 1 encontram-se algumas das mais importantes selenoproteínas já descritas, as quais são tecido-específicas (Yeh *et al.*, 1997).

A família da glutathiona peroxidase é representada por quatro membros e a GPX1 foi a primeira a ser descrita por Rotruck *et al.* em 1973. No tubo gatrointestinal foi encontrada a GPX2 (Chu *et al.*, 1993). A GPX3 foi purificada de plasma de humanos e a GPX4 foi localizada na membrana intracelular e apresentava capacidade de reduzir hidroperóxidos (Yeh *et al.*, 1997).

Tabela 1. Relação das selenoproteínas, seus locais de ação e função

<b>Nomenclatura</b>	<b>Local de Ação</b>	<b>Função</b>
GPX1	Citosol celular	Estocagem, antioxidante
GPX2	Gastrointestinal	Antioxidante
GPX3	Plasma (testículo)	Antioxidante
GPX4	Membrana celular	Antioxidante
Deiodinase Iodotironina	Fígado, rim, músculo	Conversão: T4 à T3
Tioredoxina redutase	Citosol celular	Redução, antioxidante
Seleproteína P	Plasma	Antioxidante, estoque, complexa metal pesado
Selenoproteína W	Músculo	Antioxidante

Fonte: Yeh *et al*, 1997.

As deiodinases do hormônio da tireóide estão localizadas principalmente no fígado e no rim e regulam a conversão do tiroxina (T4) para a forma ativa 3,3,5-triiodotironina (T3) (Underwood & Suttle, 1999). Os principais compostos com Se no plasma são as selenoproteínas P que tem ação de complexar metais pesados e, portanto, efeito positivo nos quadros de intoxicação por estes metais. A selenoproteína W está presente no músculo esquelético e também no coração, porém sua função ainda não está esclarecida (Whanger *et al.*, 1977). Um maior percentual de defeitos morfológicos nos espermatozóides de ratos foi visto quando estes foram submetidos a um quadro de deficiência de Se. Neste caso, foi observada diminuição de uma selenoproteína estrutural, isolada da cápsula da mitocôndria da peça intermediária do espermatozóide, diminuindo a viabilidade destes (Underwood & Suttle, 1999; Surai, 2000).



Em geral, pode ser resumido como a principal função do Se seu potencial antioxidante como um componente da enzima glutathione peroxidase, atuando na neutralização de radicais livres. A atividade da glutathione e a concentração das selenoproteínas foram menores na deficiência de Se, e muitas das manifestações de deficiência de Se são relacionadas ao aumento da destruição oxidativa (Lawrence, 2000; Behne *et al.*, 1991).

### 1.2.3. Radicais livres e a defesa antioxidante

Radical livres são moléculas ou átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados (Halliwell, 1994). São estruturas altamente instáveis, possuem meia vida curta e são muito reativos (Bianchi & Antunes, 1999). O radical superóxido é o principal radical livre produzido pelas células vivas, sendo produzido na cadeia transportadora de elétrons (Surai, 2000).

A geração de radical livre pode ter origem nutricional incluindo altos níveis de PUFA ou hipervitaminose A. Pode também estar relacionada à deficiência de vitamina E, selênio e/ou zinco ou a presença de toxinas na dieta (Surai, 2000). Condições ambientais estressantes como altas temperaturas de incubação, atraso no tempo de retirada da incubadora ou demora no tempo alojamento dos pintinhos aumentam a produção de radicais. Doenças bacterianas ou virais, respostas alérgicas e também vacinações também fazem parte do grupo de fatores relacionados à produção de radicais livres.

Existem três níveis de defesa antioxidante nas células, sendo o primeiro responsável pela prevenção de formação de radicais livres. Encontram-se, fazendo parte deste nível, as enzimas superóxido desmutase, GPX e a

catalase. Na segunda linha de defesa antioxidante estão as vitaminas A, C, E e a enzima GPX. Estes antioxidantes impedem a formação e propagação de radicais livres, mas são incapazes de prevenir a peroxidação lipídica. Neste caso, a terceira linha de defesa antioxidante a qual é composto por algumas proteases e lipases específicas atuam reparando moléculas destruídas (Surai, 2000).

O Se possui importante papel na primeira e segunda linha de defesa do sistema antioxidante, impedindo a formação e a propagação dos radicais livres. Porém, quando a capacidade do sistema antioxidante é ultrapassada, pode haver desbalanço entre pró-oxidantes e antioxidantes, com a conseqüente destruição de lipídeos polinsaturados presentes nas membranas celulares.

Surai (1999) relata que o sistema antioxidante do embrião das aves é imaturo e que existe um significativo desenvolvimento depois da eclosão, sendo que a atividade da glutathione alcança seu pico aos 10 dias de idade. A suplementação da dieta materna com Se, melhorou os efeitos adversos de altos níveis de PUFA sobre o peso corporal de pintinhos recém eclodidos (Pappas *et al.*, 2006).

#### 1.2.4. Exigências Nutricionais

A exigência dos animais de produção por Se pode ser atendida por uma dieta típica formulada a base de milho e soja (Payne *et al.*, 2005), porém a suplementação garante níveis adequados que não comprometam a produção, sabendo que a concentração de Se nos ingredientes utilizados para fabricação da ração é muito variável (Whanger, 2002). Além disso, a suplementação de

Se para aves de postura e reprodutoras pesadas garante uma melhor concentração deste elemento essencial no ovo, o que lhe fornece maior potencial como alimento nutracêutico, beneficiando diretamente o crescimento do sistema antioxidante e imunológico do pintinho e também do homem.

Tem sido demonstrado que o nível de vitamina E da dieta também influencia a exigência de Se pelos animais. Thompson e Scott (1969) encontraram exigência de Se para frangos em crescimento ao redor de 0,05 mg/kg de MS quando a dieta foi purificada para não conter vitamina E. Entretanto, valores menores do que 0,02 mg/kg de MS foram encontrados quando 10 mg/kg de MS de vitamina E e menos que 0,01 mg/kg de MS com 100 mg/kg de MS de vitamina E foi adicionada.

Segundo o NRC (1994), frangos em crescimento e aves de postura exigem 0,15 e 0,10 mg/kg de MS, respectivamente. Os trabalhos que compõem as tabelas do NRC foram realizados de 15 a 25 anos atrás, os quais utilizaram animais com potencial de crescimento inferior quando comparado com as genéticas atuais. Além disso, na grande maioria desses trabalhos não houve desafios aos animais, ou seja, foram realizados em condições experimentais ideal. Numa situação de desafio e rápido desenvolvimento corporal espera-se que a exigência por Se se torne aumentada.

Perus jovens demandam mais Se do que os pintinhos, o que foi demonstrado em um trabalho feito por Scott *et al.* (1967) que encontraram 0,17 mg/kg ser necessário para prevenir miopatias quando a dieta foi suplementada com vitamina E e 0,28 mg/kg em dietas com níveis marginais de vitamina E e aminoácidos sulfurados.

Rostagno *et al.* (2005) recomendam a suplementação de 0,30 mg/kg de Se para aves em postura, sendo este o máximo nível de suplementação permitido pela AAFCO (2003).

Recomenda-se para um homem adulto de 70 kg o consumo de selênio de 70 mcg/dia, sendo que a dose de 350 mcg/dia é considerada ter ampla margem de segurança (Schrauzer, 2001; Schrauzer, 2000). A dose de 350 mcg/dia é considerada ótima para obtenção de proteção contra doenças, principalmente o câncer (Schrauzer, 2001). No Brasil o consumo médio da população é de 5 mcg/dia, sendo o grupo que mais consome ingere 24,7 mcg/dia. A tabela abaixo apresenta o consumo e a exigência de alguns minerais pela população brasileira.

Tabela 2. Consumo de minerais pela população brasileira

<b>Minerais</b>	<b>Consumo Médio Diário</b>	<b>Exigência Diária</b>
Selênio	5,6mcg	70mcg
Zinco	8,01mg	15mg
Cálcio	75mg	800-1200mg
Ferro	0,83mg	10-30mg
Magnésio	45mg	270-400mg

Fonte: [http://www.annaaslan.com.br/portoalegre/dreduardo\\_mais.htm](http://www.annaaslan.com.br/portoalegre/dreduardo_mais.htm)

#### 1.2.5. Selênio no solo

O Se está distribuído irregularmente pelo solo e em alguns países como a China e a Finlândia têm baixa concentração deste elemento em algumas regiões do seu território e, conseqüentemente, baixo consumo na dieta da população humana (Xia *et al.*, 1989; Ekholm *et al.*, 1991). Autoridades da saúde desses países determinaram a obrigatória aplicação de Se como adubo nos solos após a comprovação de baixo consumo humano e da correlação da

doença de Keshan ou cardiomiopatia endêmica (Aspila, 2005; Xia *et al.*, 1989). Na Finlândia, a adição de selênio nos insumos fertilizantes tem aumentado a concentração deste mineral nos grãos e conseqüentemente nos tecidos dos animais. A carne tornou-se a mais importante fonte de Se na dieta humana, e o consumo médio de Se passou de 0,03 mcg/dia (Varo & Koivistoinen, 1981) para 0,12 mcg/dia (Ekholm, 2005).

São considerados solos deficientes em Se aqueles que apresentam menos de 0,5 mg/kg de MS (Underwood & Suttle, 1999). A forma de selenato é preferencialmente utilizada para a fertilização do solo, pois o selenito é pouco absorvido pelas plantas (Aspila, 2005). Segundo Aspila, 2005 a utilização de selenato, juntamente com os demais minerais no solo, pode ser feita na primavera e no verão, onde a taxa de crescimento das plantas é maior, o que torna mais rápida a incorporação de Se no tecido vegetal. O selenato utilizado como fertilizante é absorvido pelas plantas e transformado em uma forma orgânica no tecido vegetal, a qual é amplamente disponível para a utilização dos animais e dos homens (Ekholm *et al.*, 1991).

O monitoramento da transferência de Se do solo, para as plantas e animais deve ser realizado a fim de prevenir alto consumo de Se pela população. Em 1984, foi definido como nível ideal de suplementação de 16 mg/kg para cereais, o qual foi diminuído em 1990 para 6 mg/kg. Em seguida foi observada uma redução do consumo de Se e em 1998 um maior nível de 10 mg/kg foi estabelecido, o qual permanece até hoje (Aspila, 2005).

No Brasil, o sistema de criação de gado através do pastejo direto é amplamente utilizado, e por este motivo não é permitida a adubação das

pastagens e lavouras de cereais com Se, devido ao seu alto risco de intoxicação. Uma alternativa para viabilizar a aplicação de Se sem risco de intoxicação para os animais que pastejam é adubar os solos apenas nos estágios de dormência das plantas, o que garante tempo suficiente para o Se ser incorporado no solo e grande parte dele ser transferido para as plantas.

#### 1.2.6. Metabolismo nas plantas

São muitos os fatores que alteram a biodisponibilidade do Se no solo e pode-se afirmar que esta aumenta significativamente com o pH (Anke *et al.*, 2002). Além disso, altos teores de argila e adubação do solo com insumos a base de sulfatos, diminuem sua disponibilidade para as plantas (Gierus, 2007), devido à competição pelos mesmos sítios de ligação que o enxofre.

O Se está presente na natureza sob as formas orgânica e inorgânica. Selenito e selenato presentes no solo são absorvidos pelas plantas e são unidos a uma molécula de serina para formar a selenocisteína (SeCis), ocupando o lugar do enxofre (Surai, 2000). O acréscimo de uma molécula de homoserina faz o composto virar selenocistationa e outras transformações ocorrem até chegar à forma final de SeMet. A SeMet é sintetizada nas plantas da mesma maneira que a metionina, e ela é convertida dentro das proteínas vegetais em substituição a metionina, porque o  $\text{tRNA}^{\text{Met}}$  não as diferencia (Schrauzer, 2000).

Os principais selenocomponentes identificados nos vegetais incluem selenato, selenocistina, SeCis, SeMet, selenohomocisteína, Se-metilselenocisteína e glutamilselenocistationa, dentre outros. O Se orgânico na

forma de SeMet é a forma predominante de Se encontrada nos ingredientes vegetais (Tomlinson & Ward, 2004), sendo que mais de 50% destes componentes observados nos vegetais estão na forma de SeMet (Brito, 2007). Ao lado da SeMet, ocorrem em menores quantidades a SeCis e selenito (Underwood & Suttle, 1999). Segundo Whanger (2002) baixas concentrações de Se na forma inorgânica têm sido encontradas no tecido vegetal. Entretanto, eles podem variar de 5 a 95% do selênio total.

Em um estudo realizado por Anke *et al.* (2002), observou-se que os alimentos vegetais são geralmente pobres em Se, sendo os de origem animal fontes melhores desse elemento. O teor de Se nos alimentos está diretamente relacionado ao teor protéico destes, como pode ser observado no farelo de soja que possui de 0,20 a 0,40 mg/kg de MS, enquanto que o milho ou farelo de arroz podem conter níveis entre 0,01 a 0,05 mg/kg de MS (Gierus, 2007).

#### 1.2.7. Metabolismo nos animais

A absorção de Se na forma inorgânica é por via de difusão simples (Mykkanen *et al.*, 1989) e pode sofrer ação antagônica à absorção de outros ânions como sulfatos (Underwood & Suttle, 1999). Enquanto que a absorção da SeMet ocorre por meio de transporte ativo através do sistema de transporte de aminoácidos neutros, por canais sódio dependente, o que torna o processo de absorção do Se orgânico mais eficaz que o da fonte inorgânica (Whanger, 2002).

Na molécula de SeMet, o Se está substituindo o enxofre, dentro da molécula de metionina (Figura 1), ligado a dois carbonos por uma ligação

covalente e por isso não sofre dissociação no processo de absorção intestinal (Gierus, 2007). Essa característica diferencia o Se orgânico dos minerais quelatados, nos quais ocorre apenas uma complexação com grupos funcionais das proteínas (Suzuki, 2005). Os minerais quelatados são transportados até a borda dos enterócitos, sendo liberados da parte orgânica da molécula para serem absorvidos pelos canais dos minerais, sendo o metabolismo pós-absortivo destes idênticos aos dos respectivos sais.

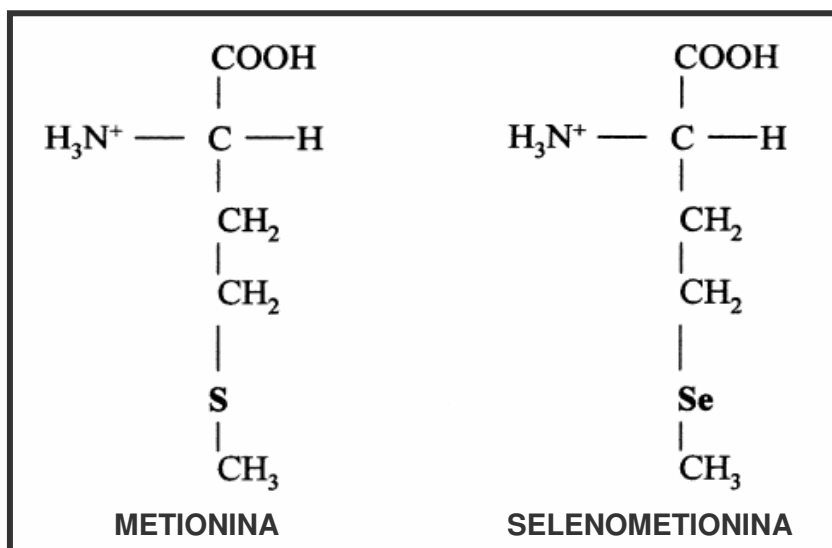


Figura 1. Estrutura da metionina e selenometionina

No metabolismo pós-absortivo, o Se orgânico comporta-se como um aminoácido, o que difere completamente do metabolismo do Se inorgânico. A SeMet pode ser retida diretamente nos tecidos pela incorporação dentro de proteína que estão sendo sintetizadas, pois o tRNA<sup>met</sup> do animal não a diferencia do aminoácido metionina (Gierus, 2007).

As selenoproteínas utilizadas para síntese protéica são conhecidas como selenoproteínas não-funcionais e aquelas utilizadas na formação das enzimas são ditas funcionais (Daniels, 1996). Formas orgânicas de Se



incorporadas em proteínas não-funcionais, como proteínas da lã, pêlos, casco são irreversivelmente perdidas (Gierus, 2007), assim como nas proteínas das penas e bico. As selenoproteínas depositadas nos músculos são consideradas não-funcionais, porém podem ser reutilizadas e transformadas em funcionais através da liberação pelo turnover protéico (Zelenka, 2005).

Para que as fontes orgânicas e inorgânicas sejam utilizadas para síntese de selenoproteínas funcionais, como a glutathiona peroxidase, é necessário que ambas as fontes de Se sejam convertidas a seleneto e este transformado em SeCis. Da mesma forma a SeCis da dieta precisa ser reduzida a seleneto para formação das selenoproteínas funcionais (Gierus, 2007).

A distribuição relativa de Se marcado entre os tecidos é similar depois da injeção de SeMet e selenito, ou seja, ambas as fontes depositam Se em diferentes tecidos na mesma proporção (Beilstein & Whanger, 1986). Em termos quantitativos a incorporação de Se nas proteínas corporais é maior quando a suplementação é feita com SeMet do que com selenito ou selenocistina (Deagen *et al.*, 1987), pois a SeMet pode ser depositada diretamente nas proteínas corporais, não precisando de biotransformação. Sunde *et al.* (1981) sugerem que a maior deposição de SeMet no músculo ocorre porque ela substitui a metionina que compõe proteínas de longa-vida, sendo que as proteínas do fígado são catabolizadas mais rapidamente, liberando a SeMet para síntese de GPX.

A forma química predominante de Se nos tecidos dos animais é a SeCis, que é a forma que compõe a enzima GPX (Beilstein & Whanger, 1986), pois ela pode ser sintetizada a partir do selenito e da SeMet (Schrauzer, 2000).

Ao contrário, os animais não podem sintetizar SeMet a partir do selenito e da SeCis. A habilidade de transformar a SeMet em SeCis favorece a predominância da SeCis no tecidos dos animais (Beilstein & Whanger, 1986).

A concentração de Se nos tecidos varia conforme o tecido, com a quantidade e a forma química utilizada na dieta. O tecido adiposo tem pouco conteúdo de Se, porque o Se tende a se associar com a proteína (Ullrey, 1987). A suplementação de Se inorgânico em diferentes níveis, em dietas com baixo teor de Se (0,05 ppm), apresentam um aumento linear positivo da deposição deste mineral no plasma e músculos em relação ao consumo de Se. Porém quando a dieta contém alto conteúdo de Se natural (0,40 ppm) a suplementação da fonte inorgânica não aumentou a deposição de Se nesses mesmos tecidos (Groce *et al.*, 1973). Promover grandes suplementações com Se inorgânico (0,8 ppm) aumentou a deposição de Se no fígado e rim, porém os aumentos no músculo e no sangue não foram tão significativos. Quando equivalentes quantidades de Se orgânico foram suplementados maiores deposições ocorreram no músculo e no sangue (Ullrey, 1987).

Thomson *et al.* (1975) avaliaram a retenção corporal e a excreção urinária e fecal de ratos que receberam uma dose oral de SeCis e SeMet. A retenção corporal foi medida pela concentração de Se no sangue e a SeCis apresentou em torno de 12% a menos do que a retenção que a SeMet. Conseqüentemente a excreção urinária de SeCis foi maior.

O Se pode ser excretado através das fezes, urina e da respiração. Segundo Thomson *et al.* (1975) a excreção respiratória é insignificante. A urina

é a maior rota de excreção de Se endógeno e ela representa cerca de 10% do Se em forma de selenito consumido (Ullrey, 1987).

#### 1.2.8. Formas de Suplementação

Em 1987, a Administração de Drogas e Alimentos (FDA) aprovou a adição de Se a partir do selenito de sódio e selenato de sódio para todas as dietas para animais de produção em 0,30 ppm (Ullrey, 1992). Desde as décadas de 80 e 90, o selenito tem sido amplamente utilizado como forma de suplementação de Se nas dietas dos animais de produção (Surai, 2000). As principais fontes de Se inorgânico são o selenato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) e o selenito de sódio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ), os quais fornecem 42% e 45% de Se, respectivamente (Rostagno *et al.*, 2005). No Brasil e nos demais países da América Latina, estes sais inorgânicos vêm sendo utilizados como únicas fontes inorgânicas, disponíveis e aprovadas para a suplementação de Se. Entretanto há limitações importantes na utilização do Se inorgânico, tais como: toxicidade, interações com outros minerais, baixa retenção, baixa eficiência de transferência para o leite, carne e ovos e baixa capacidade de manutenção das reservas corporais (Surai, 2000). Cantor *et al.* (1982) relatam que a biodisponibilidade para os animais é cerca de 1 a 10%, sendo importante sua suplementação na forma orgânica.

Em meados da década de 70, foi produzido o Se orgânico sintetizado por leveduras e a partir de então, as pesquisas foram direcionadas a comparar a eficácia da transferência de Se para o organismo animal da fonte orgânica de síntese fermentativa contra a inorgânica. Somente em 2000, a fonte orgânica

de Se foi aprovada para o uso como suplemento alimentar em dietas de aves (FDA, 2000).

As fontes orgânicas de suplementação de minerais podem atuar melhorando o desempenho das aves e reduzir a excreção dos minerais que potencialmente poluem o ambiente. Porém, o baixo custo de suplementação do Se inorgânico o tornou a forma mais comum de suplementação nas dietas dos animais. Hoje existe uma tendência de suplementação das dietas dos animais de produção com fonte orgânica, devido principalmente a sua maior eficiência em absorção e retenção.

A produção fermentativa de Se orgânico pode ocorrer através do cultivo de colônias de *Saccharomyces cerevisiae* (Paton *et al.*, 2002), que crescem em um substrato enriquecido com Se e metionina e pobre em enxofre. O Se é encontrado basicamente como SeMet e outras formas diversas (Uden *et al.*, 2004). Entretanto, a quantidade de SeMet encontrada na levedura enriquecida pode variar marcadamente dependendo das condições de cultivo (Whanger, 2002). Caso as condições de cultivo não forem respeitadas, o produto final de fermentação das colônias de *Sccharomyces* pode apresentar baixa quantidade de SeMet. Segundo Mahan *et al.* (1999), a distribuição dos selenocomponentes encontrada como produto final de leveduras foi de 50% de SeMet, 15% de selenocistina, 15% de SeCis, 10% de selenocistationina, 10% de metilselenocisteína e somente 0,10% selênio inorgânico.

Outra fonte de suplementação de Se orgânico é a Zn-L-Se-metionina (Figura 2). De mesma maneira que a fonte orgânica de síntese fermentativa, possui vantagens quando comparada às fontes inorgânicas. Entretanto, a Zn-L-

Se-metionina por ser produzida através da síntese química não possui variabilidade na sua composição, sendo fonte segura de inclusão de Se nas dietas. Além disso, a SeMet de síntese química encontra-se na forma de L-isômero, o que dispensa a biotransformação para deposição na proteína corporal e as formas orgânicas sintetizadas pelos fungos aparecem nas formas D e L - isômeros. O átomo de Zn torna a molécula ainda mais solúvel e biodisponível para a absorção intestinal.

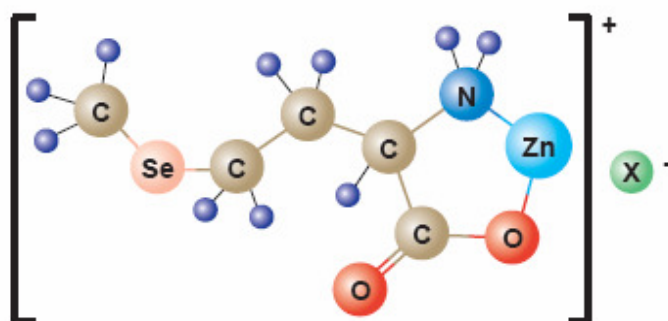


Figura 2. Estrutura da ZnSeMet

#### 1.2.9. Relação selênio vs vitamina E

A eficiência do sistema antioxidante é determinada pela interação de diferentes elementos. Juntos Se e vitamina E são importantes componentes de defesa antioxidante. Vários sinais clínicos de deficiência de Se ocorrem em associação com a deficiência de vitamina E (Underwood & Suttle, 1999). A deficiência de Se especialmente em combinação com baixos níveis de suplementação de vitamina E é responsável pelo desenvolvimento de uma gama de doenças como diátese exudativa, encefalomalácea nutricional e atrofia pancreática nutricional (Surai, 2000).

Surai (2000) suplementou a dieta das matrizes reprodutoras com diferentes níveis de Se orgânico e/ou vitamina E e avaliou a concentração de vitamina E na gema do ovo e em alguns tecidos dos pintinhos oriundos dessas matrizes. A suplementação de Se orgânico aumentou significativamente o nível de vitamina E na gema do ovo, resultado também obtido no trabalho de Skrivan *et al.* (2008). Os níveis de vitamina E no fígado, plasma e cérebro dos pintinhos de um dia de idade foram semelhantes aos níveis da vitamina E na gema. Entretanto o mecanismo de sinergismo entre Se e vitamina E ainda não foi determinado, sugerindo-se com freqüência que a vitamina E é poupada da sua função de antioxidante quando existe bom nível de Se e conseqüente GPX nos tecidos corporais e no ovo (Skrivan *et al.*, 2008).

O aumento da concentração de vitamina E no ovo através da suplementação de Se orgânico é importante, uma vez que os animais apresentam uma redução do nível de vitamina E no fígado nos primeiros 10 dias de idade (Surai, 2000) o que poderia reduzir a eficiência do sistema antioxidante dos animais. Os benefícios também são observados durante o período de estocagem dos ovos pré-incubação, onde o aumento de antioxidantes no ovo reflete uma melhora da qualidade do mesmo e também na eclodibilidade (Pappas *et al.*, 2005).

#### 1.2.10. Relação selênio vs metionina

Alguns experimentos têm apresentado maior deposição de Se nos tecidos quando fontes orgânicas de suplementação, como SeMet são utilizadas do que as inorgânicas (Waschulewski & Sunde, 1988a). O grau de

incorporação do Se orgânico dentro das proteínas corporais depende do consumo e do status de metionina do corpo do animal e ela diminui próximo a altos consumos de metionina.

Sunde *et al.* (1981) relataram que a disponibilidade de Se para síntese de GPX, a partir da suplementação da SeMet, foi reduzida em ratos alimentados com dietas deficientes em metionina. Neste caso, de reduzida disponibilidade do aminoácido metionina na dieta, a SeMet suplementada foi direcionada primeiramente para síntese de proteínas corporais. Butler *et al.* (1989) concluíram que a suplementação de metionina em dietas que continham Se na forma orgânica, resultou num menor acúmulo de Se nos tecidos (fígado, rim, músculo, pulmão, testículo, coração, baço, cérebro e no sangue) comparado com o tratamento que não recebeu a suplementação de metionina. O fornecimento de ótimos níveis de metionina na dieta favorece a produção da enzima GPX a partir de SeMet e previne o declínio inicial da atividade da enzima no plasma, ou seja, sobram mais moléculas de SeMet para serem metabolizados no fígado e incorporados dentro da enzima GPX (Waschulewski & Sunde, 1988a).

A interação da metionina e SeMet pode ser explicada porque estes aminoácidos têm comuns rotas metabólicas, devido à similaridade química destas moléculas (Butler *et al.*, 1989). Na síntese protéica, o tRNA<sup>met</sup> não diferencia as duas moléculas, sendo que a SeMet pode ser incorporada nas proteínas corporais no lugar da metionina (Whanger, 2002). Ela pode ser degradada da mesma forma que a metionina através da transulfuração para selenocisteína pela ação da enzima selenocisteína lyase ou ser catabolizada

pela transaminação da metionina, sendo que os dois processos liberariam o selenido com produto final de excreção (Waschulewski & Sunde, 1988b).

A taxa de catabolismo da metionina ou da SeMet aumenta substancialmente com o aumento da metionina na dieta. Altos ou adequados níveis de suplementação de metionina resultam em maior taxa de degradação de metionina e SeMet, assim uma maior síntese de selenoproteínas ocorre no fígado a partir do maior aporte de Se a partir da degradação da SeMet. (Waschulewski *et al.*, 1988a). A adição de metionina na dieta não teve qualquer efeito significativo sobre a excreção de Se nas fezes, mas resultou em um significativo aumento na excreção de Se pela urina quando comparado ao grupo que recebeu dieta basal (Butler *et al.*, 1989).

#### 1.2.11. Relação de Selênio com Glutathione Peroxidase

A principal razão para se determinar o status de Se no organismo do animal é estabelecer se aquele animal possui um nível de Se adequado, deficiente ou tóxico no organismo. Determinar a quantidade de Se no tecido muscular, fígado ou plasma nem sempre é um bom critério para determinar o potencial antioxidante do animal. Isto porque a quantidade de Se estocada nos tecidos é altamente lábil (Ullrey, 1987). Um indicador em potencial é a medição da atividade da enzima glutathione peroxidase nos tecidos, sendo esta uma selenoproteína funcional nos dá idéia direta do potencial antioxidante do organismo.

A suplementação com fontes inorgânicas de Se na dieta resulta em maior conteúdo de Se no fígado e nos rins, mas não há grandes aumentos no



tecido muscular ou sangue. Quando a suplementação se faz através de fontes orgânicas maiores níveis de Se no músculo e sangue são induzidos que com equivalentes quantidades de selenito (Ullrey, 1987).

Baixo conteúdo Se na dieta de matrizes reprodutoras está associado com diminuição da glutathione peroxidase no ovo e conseqüentemente baixa atividade desta no fígado, plasma e pâncreas de pintinhos recém eclodidos (Bunk & Combs, 1981). Em outro estudo a dose de suplementação de Se foi aumentada de 0,2 para 0,4 mg/kg na dieta de matrizes e neste caso não se observou um aumento na atividade da glutathione no fígado da progênie (Surai, 2000). Pode-se imaginar que a suplementação de 0,2 mg/kg de Se na dieta materna foi suficientemente transferida para o ovo e tecidos embrionários numa quantidade ótima que expresse a máxima atividade da glutathione no fígado dos pintinhos.

O valor ideal de suplementação de Se não é fácil de ser encontrado e extrapolado para outras situações. Isto porque, o status de Se no organismo depende de muitos fatores e este tem influência direta sobre o nível de atividade da glutathione peroxidase. Entretanto, o aumento da atividade da glutathione peroxidase nos tecidos como resultado da suplementação de Se na dieta materna tem impacto positivo sobre a viabilidade nas primeiras semanas pós-eclosão (Surai, 2000).

#### 1.2.12. Selênio e o tempo de suplementação

A constante suplementação de Se em níveis ótimos aumenta a deposição dele no tecido corporal, porém um platô de incorporação nos tecidos

é atingido o qual é mantido indefinidamente (Schrauzer, 2001; Groce *et al.*, 1971). Supostamente o platô é atingido quando há uma completa substituição das moléculas de metionina, presentes nas proteínas teciduais, pela SeMet.

Devido à complexidade do metabolismo de aminoácidos no organismo animal, sabe-se que essa suposição não é de todo real, pois a síntese e renovação de proteína corporal acontecem constantemente e ao mesmo tempo em que ocorre o catabolismo. Porém, a importância dessas evidências, é que, ainda não há relato da obtenção de um platô e nem de um aumento na concentração de Se depositado nas proteínas da clara e gema de acordo com o tempo de suplementação. A obtenção do platô de deposição de Se no ovo agora pode ser esperado com a experimentação mais prolongada, depois da comprovação no presente trabalho do aumento da concentração de Se no ovo com dois meses de suplementação, independentemente da fonte e do nível utilizado na dieta das matrizes reprodutoras pesadas.

#### 1.2.13. Deficiência de Selênio

O consumo de baixos níveis de Se está associado com várias alterações bioquímicas. E em um primeiro momento, diminui a concentração de Se e GPX nos tecidos corporais e em produtos como leite e ovos. O consumo prolongado de dietas deficientes em Se diminuem o estoque corporal deste mineral e outras alterações a nível metabólico começam a surgir como o aumento da destruição celular em função da falha proteção do sistema antioxidante (Surai, 2000). Com a destruição das membranas musculares pode ser observado o

aumento das enzimas aspartato aminotransferase e creatina quinase (Underwood & Suttle, 1999).

Com a continuidade do quadro de deficiência surgem os sinais clínicos de algumas desordens que estão associadas ao baixo consumo de Se. Dietas contendo substanciais quantidades de vitamina E e pequenas quantidades de Se afetam o crescimento e empenamento, sendo que sinais de diátase exsudativa aparecem somente durante os estágios terminais da deficiência (Zuberbuehler *et al.*, 2002). Degeneração muscular, diátase exsudativa e atrofia de pâncreas estão relacionados com a deficiência de Se em aves, além da redução do imunodesenvolvimento, redução na produção de ovos e aumento na mortalidade embrionária (Combs *et al.*, 1984).

A doença do músculo branco caracterizada pela degeneração muscular já foi descrita em perus, onde manchas brancas foram encontradas nos músculos da moela e do coração e associado à lesão muscular a alta mortalidade entre a quinta e sexta semana de idade (Scott *et al.*, 1967). Entretanto esta doença é responsiva tanto para vitamina E como para o selênio.

A diátase exsudativa nas aves é caracterizada por edema de peito, asas podendo alcançar o pescoço, devido à anormal permeabilidade das paredes dos capilares sanguíneos. A lipase pancreática está presente num nível abaixo do normal o que diminui a formação de micelas, restringindo a absorção de lipídeos e vitaminas lipossolúveis (Underwood & Suttle, 1999). Entretanto a diátase exsudativa nas aves não é resultado inicial da deficiência de Se, esta é

típica em frangos que recebem dietas deficientes em Se e vitamina E (Thompson & Scott, 1970).

Diferentemente das anteriores a atrofia pancreática está sendo relacionada apenas com a deficiência de Se nas dietas, mesmo na presença de alta concentração de vitamina E (Thompson & Scott, 1970). Foi demonstrado que frangos têm específica exigência por Se para crescimento e manutenção da atividade pancreática exócrina (Zuberbuehler *et al.*, 2002). As aves apresentam um baixo desenvolvimento corporal e empenamento, seguidos de um aumento na mortalidade. A lesão primária ocorre nas células acinares do pâncreas o que leva a uma baixa produção de enzimas pancreáticas, e conseqüentemente pobre absorção de gordura e vitamina E (Thompson & Scott, 1969). A redução do nível de vitamina E no sangue é conseqüente da falha na absorção intestinal devido ao baixo nível de lípases pancreáticas. A suplementação de grandes quantidades de vitamina E para animais que apresentam o quadro de atrofia pancreática não elimina a necessidade por Se, mas reduz a sua exigência (Thompson & Scott, 1969). A SeMet é a fonte de Se que possui maior ação protetora nos quadros de atrofia pancreática do que em diátese exsudativa (Cantor *et al.*, 1975). Bunk & Combs (1980) relataram que a selenoproteína que protege as células acinares pancreáticas é mais rapidamente sintetizada pela selenometionina do que as outras formas de Se.

### **1.3. HIPÓTESES**

1. A fonte orgânica de Se permite maior deposição desse mineral no ovo.
2. A deposição de Se é proporcional a dose.
3. Os ovos de reprodutoras alimentadas com fonte orgânica e em maior quantidade de Se apresentarão melhor desempenho produtivo.
4. Existe um efeito aditivo na deposição de Se nos ovos quando as duas fontes orgânica e inorgânica são utilizadas em combinação.

### **1.4. OBJETIVOS**

1. Avaliar a concentração de Se nos ovos de reprodutoras alimentadas com ZnLSe-metionina ou selenito de sódio.
2. Avaliar se existe diferenças entre as fontes de Se sobre a produção, peso e a gravidade dos ovos.
3. Avaliar se o nível de Se suplementado influencia a produção, peso e a gravidade dos ovos.
4. Avaliar se existe um efeito aditivo na deposição de Se nos ovos quando as fontes orgânica e inorgânica são suplementadas de forma combinada.

## 1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAFCO - Association of American Feed Control Officials Incorporated. **Official Publication**. Olympia, WA, 2003.

ANKE, M.; DROBNER, C.; ROHRIG, B.; SCHAFER, U.; MULLER, R. The selenium content of the flora and plant and animal foodstuffs in germany. **Ernährungsforschung**, Berlin, v. 47, n. 2, p. 67- 79, 2002.

ASPILA, P. History of selenium fertilization in Finland. In: AGRIFOOD RESEARCH REPORTS, 69., Helsinki, Finland, 2005. **Proceedings...**: twenty years of selenium fertilization. Helsinki, Finland, 2005. p. 8- 13.

BEHNE, D.; KYRIAKOPOULOS, A.; SCHEID, S.; GESSNER, H. Effects of chemical form and dosage on the incorporation of selenium into tissue proteins in rats. **The Journal of Nutrition**, Berlin, v. 121, p. 806- 814, 1991.

BEILSTEIN, M.A.; WHANGER, P.D. Deposition of dietary organic and inorganic selenium in rat erythrocyte proteins. **The Journal of Nutrition**, Corvallis, v. 116, p. 1701- 1710, 1986.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, M.L.G. Radicais livres e principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição de Campinas**, Campinas, v. 12, p. 123- 130, 1999.

BUNK, M.J.; COMBS, G.F. Effect of Selenium on Appetite in the Selenium-Deficient Chick. **The Journal of Nutrition**, Ithaca, v. 110, p. 743- 749, 1980.

BUNK, M.J.; COMBS, G.F. Relationship of selenium-dependent glutathione peroxidase activity and nutritional pancreatic atrophy in selenium-deficient chicks. **The Journal of Nutrition**, Ithaca, v. 111, p. 1611- 1620, 1981.

BUTLER, J.A.; WHANGER, P.D. Influence of dietary methionine on the metabolism of selenomethionine in rat. **The Journal of Nutrition**, Corvallis, v.119, p.1001- 1009, 1989.

CANTOR, A.H.; MOOREHEAD, P.D.; MUSSER, M.A. Comparative effects of sodium selenite and selenomethionine upon nutritional muscular dystrophy, selenium-dependent glutathione peroxidase, and tissue selenium concentrations in turkey poults. **Poultry Science**, Savoy, v. 61, p. 478- 484, 1982.

CANTOR, A.H.; LANGEVIN, M.L.; NOGUCHI, T.; SCOTT, M.L. Efficacy of selenium compounds and feedstuffs for prevention of pancreatic fibrosis in chicks. **The Journal of Nutrition**, Ithaca, v. 105, p. 106- 111, 1975.

COMBS, G.F.Jr. et al. The nutritional biochemistry of selenium. **Annual Review of Nutrition**, Ithaca, v. 4, p. 257- 280, 1984.

DANIELS, L.A. Selenium metabolism and bioavailability. **Biological Trace Element Research**, Bedford, v.54, p. 185- 199, 1996.

DEAGEN, JT; BUTLER JA; BEILSTEIN MA; WHANGER PD. Effects of dietary selenite, selenocysteine and selenomethionine on selenocysteine lyase and glutathione peroxidase activities in rat tissues. **The Journal of Nutrition**, Corvallis, v.117, p. 91- 98. 1987.

EKHOLM, P.; EUROLA, M.; VENÄLÄINEN. Selenium content of foods and diets in Finland. In: AGRIFOOD RESEARCH REPORTS, 69, Helsinki, Finland, 2005. **Proceedings...** : Twenty Years of Selenium Fertilization. Helsinki, Finland, 2005. p. 39-45.

EKHOLM, P.; VARO, P; ASPILA, P.; KOIVISTOINEN, P.; SYRJALA-QVIST. Transport of feed selenium to different tissues of bulls. **British Journal of Nutrition**, Edinburgh, v. 66, p. 49- 65, 1991.

FDA.- US Food and Drug Administration. **Code of federal regulations**. Title 21 CFR Part 537.920. Washington, DC, 2000.

GIERUS, M. Fontes orgânicas e inorgânicas de selênio na nutrição de vacas leiteiras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37. p. 1212- 1220, 2007.

GROCE, A.W.; MILLER, E.R.; KEAHEY, K.K.; ULRREY, D.E.; MAGEE, W.T. Selenium supplementation of practical diets for growing-finishing swine. **Journal of Animal Science**, East Lansing, v. 32, p. 905- 911, 1971.

GROCE, A.W.; MILLER, E.R.; ULRREY, D.E; KU, P.K.; KEAHEY, K.K.; ELLIS D.J. Selenium requirements in corn-soy diets for growing-finishing swine. **Journal Animal Science**, East Lansing, v.37, p. 948- 956, 1973.

HALIWEEL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, New York, v. 52, n.8, p. 253- 265, 1994.

LATSHAW, J.D. and selenite selenium in the hen and egg. **The Journal of Nutrition**, Columbus, v.105, p. 32- 37, 1975.

LAWRENCE, L. Perspectives on selenium nutrition in horses. In: Alltech's Annual Symposium, 19., Nottingham, 2000. . **Proceedings...**: Biotechnology in the Feed Industry. Nottingham, UK, 2000. p. 183- 195.

MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da Incubação**. 2th ed. Campinas, 2003, 537p.

MAHAN, D.C.; CLINE, T.R.; RICKERT, B. Effects of dietary levels of selenium – enriched yeast and sodium selenite as selenium sources fed to growing-finishing pigs on performance, tissue selenium, serum glutathione peroxidase

activity, carcass characteristics, and loin eye quality. **Journal of Animal Science**, Columbus, v. 77, p. 2172- 2180, 1999.

MEDICINA PREVENTIVA E TERAPIA ORTOMOLECULAR ANNAASLAN. **Deficiências minerais dos solos brasileiros**. Disponível em: <[http://www.annaaslan.com.br/portoalegre/dreduardo\\_mais.htm](http://www.annaaslan.com.br/portoalegre/dreduardo_mais.htm)> Acesso em: 21 de novembro 2008.

MYKKANEN H.M.; WASSERMAN R.H. Uptake of  $^{75}\text{Se}$ -selenite by brush border membrane vesicles from chick duodenum stimulated by vitamin D<sup>1, 2</sup>. **The Journal of Nutrition**, Ithaca, v. 119, p. 242- 247, 1989.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of poultry**. 9<sup>th</sup> ed. Washington, DC : National Academy Press, 1994.

PAPPAS, A. C.; ACAMOVIC, T.; SPARKS, N. H. C.; SURAI P. F.; MCDEVITT R. M. Effects of supplementing broiler breeders diets with organoselenium compounds and polyunsaturated fatty acids on hatchability. **Poultry Science**, Savoy, v. 85, p. 1584- 1593, 2006.

PAPPAS, A. C.; ACAMOVIC, T.; SPARKS, N. H. C.; SURAI P. F.; MCDEVITT R. M. Effects of supplementing broiler breeders diets with organic selenium and polyunsaturated fatty acids on egg quality during storage. **Poultry Science**, Savoy, v. 85, p. 865- 874, 2005.

PATON, N.D.; CANTOR, A.H.; PESCATORE, A.J., FORD, M.J.; SMITH C.A. The effect of dietary selenium source and level on the uptake of selenium by developing chick embryos. **Poultry Science**, Savoy, v.81, p. 1548- 1554, 2002.

PAYNE, R. L.; LAVERGNE, T. K.; SOUTHERN L. L. Effect of inorganic versus organic selenium on hen production and egg selenium concentration. **Poultry Science**, Savoy, Illinois, v. 84, p. 232- 237, 2005.

RAYMAN, M.P. The use of high-selenium yeast to raise selenium status: how does it measure up? **British Journal of Nutrition**, Edinburg, v. 92, p. 557- 573, 2004.

RICHARDS, M.P. Trace mineral metabolism in the avian embryo. **Poultry Science**, Savoy, v. 76, p. 152- 164, 1997.

RICHARDS, M.P.; STEELE, N.C.. Trace element metabolism in the developing avian embryo: a review. **Journal of Experimental Zoology**, Savoy, v.S1, p. 39- 51, 1987.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas Brasileiras para Suínos e Aves: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. 2 ed. Viçosa, 2005. 186f,



SCHRAUZER, G. N. Nutritional selenium supplements: Product types, quality, and safety. **Journal of the American College of Nutrition**, San Diego, v. 20, p.1- 4, 2001.

SCHRAUZER, G. N. Selenomethionine: A review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. **The Journal of Nutrition**, San Diego, v. 130, p. 1653-1656, 2000.

SCOTT M.L.; OLSON G.; KROOK L.; BROWN W.R. Selenium-responsive myopathies of myocardium and of smooth muscle in the young poult. **The Journal of Nutrition**, Ithaca, v. 91, p. 573- 583, 1967.

SPEAKE B.K.; MURRAY A.M.B.; NOBLE R.C. Transport and transformations of yolk lipids during development of the avian embryo. **Progress in lipid research**, Auchincruive, v. 37, p.1- 32, 1998.

SKRIVAN, M.; MAROUNEK, M.; DLOUHÁ, G.; SEVCÍKOVÁ, S. Dietary selenium increases vitamin E contents of egg yolk and chick meat. **British Poultry Science**, Edinburg, v.49, p. 482- 486, 2008.

SUNDE, R.A.; GUTZKE, G.E.; HOEKSTRA, W.G. Effect of Dietary Methionine on the Biopotency of Selenite and Selenomethionine in the Rat<sup>1,2</sup>. **The Journal of Nutrition**, Madison, v. 111, n. 1, p. 76- 86, 1981.

SURAI, P. F. Organic Selenium: Benefits to animals and humans, a biochemist's view. In: BIOTECHONOLOGY in the feed industry. Nottingham, UK : [s.n.], 2000. p. 205- 260.

SURAI, P.F. Tissue-specific changes in the activities of antioxidant enzymes during the development of the chicken embryo. **British Poultry Science**, Edinburg, v. 40, p. 397- 405, 1999.

SURAI, P.F.; SPEAKE, B.K.; WOOD, N.A.R.; BLOUNT, J.D.; BORTOLOTTI, G.R.; SPARKS, N.H.C. Carotenoid discrimination by avian embryo a lesson from wild birds. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, Auchincruive, v. 128., p. 743- 750, 2001.

SUZUKI, K.T. Metabolomics of selenium: Se metabolites based on speciation studies. **Journal of Health Science**, Auchincruive, v.51, p.107- 114, 2005.

THOMSON, C.D.; ROBINSON, B.A.; STEWART, R.D.H.; ROBINSON, M.F. Metabolic studies of [75Se] selenocystine and [75Se] selenomethionine in the rat. **British Journal of Nutrition**, Edinburg, v. 34, p. 501- 509, 1975.

THOMPSON J.N.; SCOTT M.L. Impaired lipid and vitamin E absorption related to atrophy of the pancreas in selenium deficient chicks. **The Journal of Nutrition**, Ithaca, v. 100, p. 797- 809, 1970.

THOMPSON J.N.; SCOTT M.L. Role of selenium in the nutrition of the chick. **The Journal of Nutrition**, Ithaca, v. 97, p. 335- 342, 1969.

TOMLINSON, D.; WARD, T. Selenometionina – Fuente Natural de Selenio. In: SEMINARIO SOBRE ALIMENTACIÓN Y MANEJO DE GANADO LECHERO, 2., Guadalajara, Mexico. Guadalajara, Mexico, 2004. p. 6.

UDEN, P.C. et al. Selective detection and identification of Se containing compounds—review and recent developments. **Journal of Chromatography A**, Amherst, v.1050, p.85– 93, 2004.

ULLREY, D.E. Basis for regulation of selenium supplements in animal diets. **Journal of Animal Science**, East Lansing, v.70, p. 3922- 3929, 1992.

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

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE N.F. Selenium. In: THE MINERAL Nutrition of Livestock. Penicuik, UK : CABI Publishing, 1999. p. 421-476.

VARO, P.; KOIVISTOINEN, P. Annual variation in the average selenium intake in Finland: Cereals products and milk as sources of selenium in 1979/80. **International Journal of Vitamins and Nutrition Research**, Finland, v. 52, p. 79-84, 1981.

VIEIRA, SL. Nutrição do embrião: primeiro passo para nutrição de frango de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 9, n. 1. Mar. 2007.

XIA, Y.; HILL, KE; BURK, RF. Biochemical studies of a selenium-deficient population in China: measurement of selenium, glutathione peroxidase and other oxidant defense indices in blood. **The Journal of Nutrition**, Nashville, v. 199, p. 1318- 1326, 1989.

WASCHULEWSKI, H.I.; SUNDE R.A. Effect of dietary methionine on tissue selenium and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) activity in rats given selenomethionine. **British Journal of Nutrition**, Edinburg, v. 60, p. 57- 68, 1988a.

WASCHULEWSKI, H.I.; SUNDE R.A. Effect of Dietary Methionine on Utilization of Tissue Selenium from Dietary Selenomethionine for Glutathione Peroxidase in the Rat<sup>1,2</sup>. **The Journal of Nutrition**, Tucson, v. 118, n.3. p. 367- 374, 1988b.

WHANGER P.D. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. **Journal of the American College of Nutrition**, Corvallis, v. 21, n.3, p. 223- 232, 2002.

WHANGER, P.D.; WESWIG, P.H.; SCHMITZ, J.A.; OLDFIELD, J.E. Effects of selenium and vitamin E on blood selenium levels, tissue glutathione peroxidase activities and white muscle disease in sheep fed purified or hay diets. **The Journal of Nutrition**, Corvallis, v. 107, p. 1298- 1307,1977.

YEH, J.Y.; VENDELAN, S.C.; GU, Q.; BUTLER, J.A.; OU, Q.; WHANGER, P.D. Dietary selenium increases selenoprotein W levels in Rat Tissue. **The Journal of Nutrition**, Corvallis, v. 127, p. 2165- 2172, 1997.

ZELENKA, J.; FAJMONOVA, E. Effect of age on utilization of selenium by chickens. **Poultry Science**, Savoy, v. 84, p. 543- 546, 2005.

ZUBERBUEHLER, C.A.; MESSIKOMMER, R.E.; WENK, C. Choice feeding of selenium-deficient laying hens affects diet selection, selenium intake and body weight. **The Journal of Nutrition**, Zurich, v. 132, p. 3411- 3417, 2002.

## 2. CAPÍTULO II

## **Selenium Contents of Eggs from Broiler Breeders Supplemented with Sodium Selenite or Zn-L-Se-methionine**

### **SUMMARY**

This study evaluated effects of sources and levels of Se in broiler breeder diets on egg production and Se concentration in eggs. Fifty Cobb 500 hens 22 wks of age were individually placed in steel cages and fed a basal diet without Se supplementation for 3 wks. Birds were then provided five dietary treatments with 10 replicates of one individual hen, which had dietary selenium supplied from sodium selenite (inorganic; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, 45% Se) and/or from Zn-L-Se-methionine (organic; ZnSeMet, 0.1% Se) as follow: T1- 0.15% Se from Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>; T2- 0.30% Se from Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>; T3- 0.15% Se from ZnSeMet; T4- 0.30% Se from ZnSeMet; T5- 0.15% Se from Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> + 0.15% Se from ZnSeMet. Evaluations were conducted in two periods of 4 wks each. Experimental diets were prepared through the supplementation of corn-soybean meal diets. Egg production and egg weight were recorded daily, whereas specific gravity was measured twice a wk towards the end of the study. In the first period, the hens fed 0.30 ppm of organic Se produced more eggs ( $P < 0.05$ ) whereas no difference ( $P > 0.05$ ) in egg production was found in the second period. Period evaluations showed that egg weight was not different ( $P > 0.05$ ), whereas specific gravity decreased ( $P < 0.05$ ) and Se concentration in eggs increased ( $P < 0.05$ ) in the second period, regardless of Se source. A comparison between treatments with single Se sources demonstrated that the concentration of Se in eggs followed the increased

levels in the feeds when ZnSeMet was used ( $P < 0.05$ ). However, the supplementation of a combination of sources ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  and ZnSeMet) produced similar egg Se concentrations.

## DESCRIPTION OF THE PROBLEM

Selenium supplementation of animal feeds has been a regular practice for many years mostly because Se in plant ingredients is usually below animal requirement levels but also due to its high variability [1]. More recently, the form of Se used in supplements has been target of many investigations and Se-methionine has been frequently suggested as a complementary source especially for broiler breeders [2].

Concentration of Se in plants is dependent of its concentration in the soil but also to the soil chemical conditions, which affect its availability for growing plants [3]. Cereals and forages convert a large part of Se absorbed from the soil into Se-methionine, which is further incorporated in polypeptides. In seleniferous corn, wheat and soybeans, Se-methionine makes up 80% of total Se [4]. As with other amino acids, Se-methionine exists in the L or D isomeric form; however, only the L form occurs naturally in plants [2].

Sodium selenite has been the most common form of Se supplementation in broiler feeds. However, the use of this inorganic form has been questioned due to some negative characteristics, such as toxicity, interactions with other minerals, poor retention, and low efficiency in the transference into milk and meat and poor ability to maintain Se reserves in the body [5]. Fermentation by yeast colonies of *Saccharomyces cerevisiae* enriched with sodium selenite

has been a traditional form of producing organic Se, which has demonstrated increased body retention, when compared to inorganic sources [6]. Most selenium enriched yeast products have Se-methionine as the predominant form of Se; however, its concentration can vary markedly [7]. Besides, molecular differences between commercial presentations exist and potentially can affect Se availability to animals.

The development of the chick embryo is dependent on the deposition of nutrients in the egg by the hen. Some nutrient concentrations increase in the egg if higher levels are fed to the hen. In parallel, it is believed that the faster development experienced by the present broiler genetics as well as stress factors could lead to over-production of free radicals. Increase in free radicals has been correlated to a reduction in productive and reproductive performance [5].

Selenium is an integral part of glutathione-peroxidase, which eliminates some sources of free radicals from metabolic activity [8]. Therefore, increasing the concentration of Se in eggs may favor additional protection during incubation and immediately after hatching.

The objective of this study was to evaluate the transference of Se from broiler breeders into their eggs from sodium selenite or Zn-L-Se-methionine and two levels, 0.15 or 0.30ppm.

## MATERIALS AND METHODS

Sixty Cobb 500 broiler breeders [9] 22 wk of age were weighed and placed individually in steel cages, 0.33 cm wide X. 46 cm deep X. 0.40 cm

high. Hens were fed a basal diet without Se supplementation until 25 weeks when they started to be fed the experimental diets. Two Se sources were evaluated in this study: sodium selenite ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ), which has been traditionally used; and Zn-L-Se-methionine (ZnSeMet), a novel form of organic Se, which is chemically synthesized [10]. Dietary treatments were prepared with the incorporation of 0.1% Se mixes from the two sources into the basal feed, as follow: T1- 0.15% Se from  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ; T2- 0.30% Se from  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ; T3- 0.15% Se from ZnSeMet; T4- 0.30% Se from ZnSeMet; T5- 0.15% Se from  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  and 0.15% Se from ZnSeMet. Breeders were placed in a Completely Randomized Design with 10 replications each. Two birds of each treatment were maintained aside in individual cages in the same house to replace mortality. Treatment diets were fed for eight wks.

The basal feed was formulated with corn, soybean meal and wheat bran according to The Brazilian Tables [11] (Table 1). This feed was firstly mixed without any supplementation of Se in 100 kg batches. All diets were offered as mash following the recommendations in the Cobb Breeder Manual [12].

Egg production and egg weight were daily recorded whereas specific gravity was conducted twice a week from 25 to 32 wk. Eggs were broken daily and the whole contents were stored frozen ( $-18^\circ\text{C}$ ) as a pool of two hens for the two 4-week periods resulting in 5 samples per treatment. Egg contents were thawed and mixed after the end of each period and analyzed for Se concentrations using a ZEE nit 600 model [13] transversely heated graphite furnace atomic absorption spectrometer equipped with an MP-60 auto sampler. The light source was a hollow cathode lamp operating at 7mA current at



196.0nm resonance line. A pyrolytic coated graphite tube platform was used. Atomic signals were measured in the peak area mode. High purity argon (99.99% purity) was used as the purge gas [14, 15].

Table 1. Composition of basal diets

Ingredient, %	
Corn grain	58.60
Soybean meal	21.23
Wheat bran	7.60
Ground Oyster Shell	4.50
Soybean fat	2.17
Dicalcium Phosphate	1.84
Limestone	2.82
Salt	0.20
Sodium Bicarbonate	0.24
Potassium Carbonate	0.25
DL-methionine	0.15
L-threonine	0.05
Choline chloride	0.06
Bacitracin methylene disalicylate 11%	0.10
Vitamin and Mineral Mix <sup>1</sup>	0.19
Calculated Energy and Nutrients, % or as indicated	
CP	15.80
AMEn, kcal/kg	2,800
Ca	3.25
Av P	0.45
K	0.77
Na	0.16
Cl	0.18
Dig. Lys	0.70
Dig. Met + Cys	0.61
Se, mg/kg	0.16
Choline, mg/kg	1,500

<sup>1</sup> Composition per kg of diet: A-12,000 IU; D3-3,600IU; E-66 IU; K3-3 mg; B1-7.3 mg ; B2- 14.37 mg B6-12.06 mg; B12-35 mcg; Niacin-67 mg; Pantothenic acid-19.72 mg; Biotin-0.33mg ; Folic acid- 3.0 mg; Zn-140 mg; Mn- 112 mg; Cu- 16.4 mg; Fe- 146 mg; I- 1.35 mg. Dietary treatments were produced after incorporation of Se from Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> and from ZnSeMet as 0.1% mixes in the exchange of the carrier.

The experiment was a Completely Randomized Design in a 2 x 2 +1 factorial arrangement with 2 periods. Responses were submitted to a two way

ANOVA with repeated measures using SAS followed with Tukey test [16]. Mortality data was analyzed after arc-sin transformation and the Tukey's Test was used to separate the means when the treatment difference was significant ( $P < 0.05$ ).

## RESULTS AND DISCUSSION

Analyzed Se in the basal diet was 0.15 ppm whereas calculated value was 0.16 ppm. Analysis of experimental feeds demonstrated a total amount of Se, which was consistent with the incremental supplemented values of the inorganic and organic sources (Table 2).

Table 2. Formulated and analyzed Se concentration in the experimental feeds<sup>1</sup>

Supplemented Se		Total Se, ppm	
Selenite	Zn-L-Se-met	Calculated	Analyzed
0.15	-	0.30	0.25
0.30	-	0.45	0.39
-	0.15	0.30	0.33
-	0.30	0.45	0.52
0.15	0.15	0.45	0.49

<sup>1</sup> Basal non-supplemented feed had 0.16 ppm Se.

Hen day egg production and egg weight could be considered typical for broiler breeder flocks (Table 3). There was a significant interaction ( $P < 0.05$ ) between Se Source, Se Level and Period for egg production. Hens receiving 0.30 ppm ZnSeMet Se had the greatest reduction in production from the first to the second period; however, there was no difference between all the other treatments. Reduction in production of the hens fed 0.30 ZnSeMet Se resulted

from a higher peak of production for that treatment in the first period since there were no differences on the second period.

Table 3. Effect of Se sources and levels on hen day egg production (%)

Supplemented Se		Egg Production, %		Difference between periods
Inorganic	Organic	Mean $\pm$ SD		
		Period 1	Period 2	
0.15	-	75.6 $\pm$ 10.75	73.5 $\pm$ 25.55	-2,1a
0.30	-	65.7 $\pm$ 18.11	74.7 $\pm$ 7.37	9.0 a
-	0.15	73.2 $\pm$ 7.69	74.4 $\pm$ 11.48	1.2 a
-	0.30	80.6 $\pm$ 2,39	74.1 $\pm$ 6.99	-6.5 b
0.15	0.15	73.5 $\pm$ 12,96	74.7 $\pm$ 8.93	1.2 a
Mean		73.75	74.29	
Source				NS
Level				NS
Period				NS
Source x Level				NS
Source x Period				NS
Level x Period				NS
Source x Level x Period				*

<sup>a,b</sup>Means within columns with no common superscript are significantly different; NS= non-significant ( $P > 0.05$ ); \* = ( $P < 0.05$ ).

There were no significant treatment differences for egg weight at any measured moment ( $P > 0.05$ ; Table 4). Specific gravity was not affected by the treatments ( $P > 0.05$ ; Table 5); however, mean values decreased from the first to the second period ( $P < 0.01$ ). Regardless of the source or level of Se utilized to supplement the treatment, a higher Se deposition was observed in eggs produced in the second period ( $P < 0.01$ ; Table 6).

Table 4. Effect of Se sources and levels on egg weight (g)

Supplemented Se		Egg Weight, g Mean $\pm$ SD		Difference between periods
Inorganic	Organic	Period 1	Period 2	
0.15	-	63.71 $\pm$ 4.9	65.25 $\pm$ 5.24	1.5
0.30	-	64.86 $\pm$ 2.46	67.90 $\pm$ 2.86	3.0
-	0.15	65.97 $\pm$ 3.89	67.49 $\pm$ 4.03	1.5
-	0.30	65.17 $\pm$ 2.92	65.83 $\pm$ 3.40	0.7
0.15	0.15	65.42 $\pm$ 4.77	65.80 $\pm$ 4.41	0.4
Mean		65.03	66.45	
Source				NS
Level				NS
Period				NS
Source x Level				NS
Source x Period				NS
Level x Period				NS
Source x Level x Period				NS

Means within columns with no common superscript are significantly different, NS= non-significant ( $P > 0.05$ ).

Table 5. Effect of Se sources and levels on specific gravity

Supplemented Se		Specific Gravity Mean $\pm$ SD		Difference between periods
Inorganic	Organic	Period 1	Period 2	
0.15	-	1.092 $\pm$ 3.2	1.090 $\pm$ 3.9	-0.002
0.30	-	1.089 $\pm$ 3.6	1.088 $\pm$ 3.3	-0.001
-	0.15	1.089 $\pm$ 2.5	1.088 $\pm$ 2.3	-0.001
-	0.30	1.090 $\pm$ 3.2	1.089 $\pm$ 3.6	-0.001
0.15	0.15	1.090 $\pm$ 1.9	1.090 $\pm$ 1.9	0,000
Mean		1.090 a	1.089 b	
Source				NS
Level				NS
Period				**
Source x Level				NS
Source x Period				NS
Level x Period				NS
Source x Level x Period				NS

<sup>a,b</sup>Means within line with no common superscript are significantly different; NS= non-significant ( $P > 0.05$ ); \*\* = ( $P < 0.01$ ).

An interaction between Se source and level was observed ( $P < 0.01$ ), which translated into an increase in Se concentration in eggs only when the organic source was used ( $P < 0.01$ ).

Table 6. Effect of Se sources and levels on egg Se content (ppm)

Supplemented Se		Selenium in egg content		Mean of period total
Inorganic	Organic	Mean $\pm$ SD		
		Period 1	Period 2	
0.15	-	0.16 $\pm$ 0.04	0.23 $\pm$ 0.03	0.20b
0.30	-	0.17 $\pm$ 0.03	0.22 $\pm$ 0.04	0.20b
-	0.15	0.22 $\pm$ 0.01	0.27 $\pm$ 0.08	0.25b
-	0.30	0.32 $\pm$ 0.03	0.39 $\pm$ 0.08	0.35a
0.15	0.15	0.25 $\pm$ 0.03	0.36 $\pm$ 0.03	0.31a
Mean		0.22 b	0.29 a	0.26
Source			**	
Level			*	
Period			**	
Source x Level			**	
Source x Period			NS	
Level x Period			NS	
Source x Level x Period			NS	

<sup>a,b</sup>Means within columns with no common superscript are significantly different; NS= non-significant ( $P > 0.05$ ); \* = ( $P < 0.05$ ); \*\* = ( $P < 0.01$ ).

Previous investigations using Se from different sources, which included inorganic and yeast sources have shown effects on egg production only when the level of Se in the feed was considerably low [17]. In the present study, birds receiving 0.30 ppm ZnSeMet Se had a higher production in the first period, which led to a significant difference in egg production between the two periods. In the first period, birds were still increasing daily egg production towards peak; therefore it is possible to assume that a higher incorporation of Se from ZnSeMet into egg contents may have been due to its greater incorporation into egg proteins.

Studies comparing sources of inorganic and organic Se with respect to egg weight are contradictory. Apparently, levels of Se, which increase egg weight, are higher than those used in practical breeder or laying hens' diets or when practical levels are compared to non supplemented feeds. Payne et al

[18] found a linear increase in egg weight when Se yeast supplementation ranged from 0 to 3 ppm. Whether or not higher concentrations of Se in feeds would affect the total protein synthesis and, therefore, egg weight, still remains unknown. Organic Se incorporation into the egg has been suggested to be in a large fraction as Se-methionine [19]. Methionine supplementation *per se* has been shown to positively affect egg weight [20]. A similar response for Se-methionine, which leads to increased egg weight, is expected if it is fully incorporated in egg proteins. Apparently, this is possible since tRNA cannot differentiate between Se-methionine and Met [3].

Regardless of the source, concentrations of Se in eggs were dependent on the period of supplementation, which seems to be an indication of a cumulative incorporation of Se into egg contents. In rats, increasing Se-methionine supplementations leads to higher concentrations of Se in animal tissue until reaching a plateau [21]. Supposedly, this maximum incorporation occurs in parallel with Met incorporation into tissue protein. In the case of the egg, this accumulation should occur in the liver and oviduct cells, which respectively synthesize yolk and albumen proteins [22, 23]. Accumulation of Se is also expected from inorganic sources. Higher animals cannot synthesize Se-methionine [6], but Se from selenite plus serine can produce Se-cysteine, which can be further incorporated into body proteins [24]. A similar path could be expected from inorganic Se that can result in increased concentrations on egg proteins, although the magnitude of response is less than with Se-methionine.

In this study the hens received dietary treatments for a total of 8 wks. Increased Se was found from the first to the second period. An increased

concentration is expected after a period of supplementation; however, our results did not allow an estimation of the amount of time needed to reach an unchangeable deposition. One month supplementation was needed to reach a steady state of Se in human blood erythrocytes orally fed from selenite, selenide, Se-methionine, or Se-Yeast [25]; however, concentration in eggs seemed to be maximized after 4 weeks of feeding a Se yeast for laying hens [27].

In this study, there were no differences in egg Se concentrations when hens were fed 0.15 ppm supplemental Se from the different sources. However, hens fed 0.30 ppm had eggs with an increased deposition of Se when the feed source was ZnSeMet or when both sources were combined in the same diet. Other studies have shown increased Se bioavailability for egg deposition when organic sources were compared to inorganic sources [17, 18, 26, 27]. Our data demonstrate that the supplementation of ZnSeMet led to a higher deposition of Se in egg contents when compared to sodium selenite likely was due to a faster transference of this source into egg proteins. This hypothesis takes in account the need of Se being first incorporated into cysteine and then into animal proteins [28].

## CONCLUSIONS AND APPLICATIONS

1. Egg weight and specific gravity were not affected when Se was supplemented from sodium selenite or Zn-L-Se methionine.

2. Egg Se increased continuously during 8 weeks of supplementation regardless of the supplementation from sodium selenite or Zn-L-Se methionine.
3. Se contents in egg white plus yolk resemble the levels added to the feeds, but deposition from Zn-L-Se methionine was more effective than that from sodium selenite.

#### REFERENCES AND NOTES

1. Schrauzer, G. N. 2002. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *Journal of the American College of Nutrition*, n.3. 21:223-232.
2. Schrauzer, G. N. 2001. Nutritional selenium supplements: Product types, quality, and safety. *Journal of the American College of Nutrition*, 20:1-4.
3. Gierus, M. 2007. Fontes orgânicas e inorgânicas de selênio na nutrição de vacas leiteiras. *Ciência Rural*, 37:1212-1220.
4. Guo, X. and L. Wu. 1998. Distribution of free seleno-amino acids in plant tissue of *Melilotus indica* L. grown in selenium-laden soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 39:207-214.
5. Underwood, E.J. and N.F. Suttle. 1999. Selenium. Pages 421-476 in: *The Mineral Nutrition of Livestock*. Underwood, E.J. and Suttle N. F., Ed. CABI Publishing, Penicuik, UK.
6. Schrauzer, G. N. 2000. Selenomethionine: A review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *The Journal of Nutrition*, 130:1653-1656.
7. Whanger, P. D. 2002. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *Journal of the American College of Nutrition*, 21:223-232.
8. Rotruck, J. T., A. L. Pope, H. E. Ganther, A. B. Swanson, D. G. Hafeman and W. G. Hoekstra. 1973. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179:588-590.
9. Cobb Vantress Brasil Ltda, Guapiacu, Brazil.



10. Availa-Se, 0.1% Se, produced by Zinpro Corporation, Eden Prairie, MN, USA., Zn-L-Se-methionine is a L-isomer that is also chelated with an atom of Zn to provide further solubility.
11. Rostagno, H.S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele *et al.* 2005. Tabelas Brasileiras para Suínos e Aves: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 2 ed. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia, 186p.
12. Cobb 2005. Cobb Breeder Management Guide. Cobb-Vantress, 63 p.
13. Analytik AG Jena, Jena, Germany.
14. Bohrer, D., E. Becker, P. C. Nascimento, M. Dessuy and L. Carvalho. 2007. Comparison of graphite furnace and hydride generation atomic absorption spectrometry for the determination of selenium status in chicken meat. *Food Chemistry*, 104:868-875.
15. Kiss, T. *et al.* 2007. Demonstration of the importance of metal ion speciation in bioactive systems. *B. Chem. Soc. JPN* 80, 9:1691-170216 SAS User's Guide. 2001. Version 8 ed. SAS Inst. INC., Cary, NC.
17. Cantor, A. H. and M. L. Scott. 1974. The effect of selenium in the hen's diet on egg production, hatchability, performance of progeny and selenium concentration in eggs. *Poultry Science*, 53:1870-1880.
18. Payne, R. L., T. K. Lavergne and L. L. Southern. 2005. Effect of inorganic versus organic selenium on hen production and egg selenium concentration. *Poultry Science*, 84:232-237.
19. Combs, G. F. Jr. and S. B. Combs. 1986. The role of selenium in nutrition. Academic Press, Orland, FL.
20. Calderon, V. M. and L. S. Jensen. 1990. The requirement for sulfur amino acids by laying hens influenced by protein concentration. *Poultry Science*, 69:934-944.
21. Waschulewski, I. H. and R. A. Sunde. 1988. Effect of dietary methionine on tissue selenium and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) activity in rats given selenomethionine, 60:57-68. *British Journal of Nutrition*, 60:57-68.
22. Anfinsen, C. B. and D. Steinberg. 1951. Studies on the biosynthesis of ovalbumin. *Journal of Biological Chemistry*, 189:739-744.
23. Greengard, O., A. Sentenac and G. Acs. 1965. Induced formation of phosphoprotein in tissues of cockerels in vivo and in vitro. *Journal of Biological Chemistry*, 240:1687-1691.

24. Daniels, L. A. 1996. Selenium metabolism and bioavailability. *Biological Trace Element Research*, 54(3):185-199.
25. Clausen, J and S. A. Nielsen. 1988. Comparison of whole blood selenium values and erythrocyte glutathione peroxidase activities of normal individuals on supplementation with selenite, selenide, L-selenomethionine, and high selenium yeast. *Biological Trace Element Research*, 15:125-138.
26. Latshaw, J.D. and M.D. Biggert. 1981. Incorporation of selenium into egg proteins after feeding selenomethionine or sodium selenite. *Poultry Science*, 60: 1309-1313.
27. Utterback, P. L., C. M. Parsons, I. Yoon and J. Butlert. 2005. Effect of supplementing selenium yeast in diets of laying hens on egg selenium contents. *Poultry Science*, 84:1900-1901.
28. Latshaw, J. D. 1975. Natural and selenite selenium in the hen and egg. *The Journal of Nutrition*.105:32-37.

### 3. CONCLUSÃO GERAL

O uso de selenito de sódio na nutrição de reprodutoras permite a suplementação de um nutriente essencial com baixo custo. Porém a utilização de ZnSeMet como fonte única de suplementação ou sua utilização de forma combinada com a fonte inorgânica mostrou-se mais eficiente na deposição de Se no ovo.

Quando se deseja aumentar a concentração de Se no ovo o aumento do nível de suplementação de selenito de 0,15 para 0,30ppm não se mostrou eficiente. Tendo em vista que o máximo nível de suplementação, permitido pela AAFCO, é de 0,30ppm, torna-se necessário utilizar uma fonte orgânica associada ao selenito.

O aumento da deposição de Se no ovo conforme o tempo de suplementação, o qual foi de 2 meses, foi independente da fonte utilizada. Espera-se que um platô de incorporação de Se, nas proteínas do ovo, seja alcançado com um maior tempo de suplementação. Entretanto, a obtenção deste platô no conteúdo do ovo é dependente do status de Se no organismo do animal. Por sua vez, o status de Se no organismo é muito dinâmico e depende de alguns fatores relacionados com o nível e a fonte de Se presente na dieta e com o nível de produção da glutathione.

No presente trabalho, o mineral Se não alterou a gravidade específica e o peso do ovo. Porém, quando se faz a suplementação de Se através da fonte orgânico há um maior aporte de aminoácidos sulfurados, que podem aumentar o tamanho do ovo. Além disso, a espessura da casca pode diminuir devido ao

aumento no tamanho do ovo, sendo que o aporte de Ca para produção de casca não muda durante o ciclo de produção de ovos.

Por ser uma fonte de Se altamente concentrada, o selenito de sódio é incluído em baixíssima quantidade na dieta. Devido a sua baixa inclusão e associado ao alto risco de toxicidade, há uma preferência pelas indústrias produtoras de premix de utilizarem um produto diluído, que contem 1% de selenito de sódio. O custo da tonelada tratada com 0,30ppm deste produto é de 0,25\$, sendo o uso combinado de 0,15 de inorgânico associado a 0,15 ZnSeMet custa 1,56\$, ou seja 6,24 vezes mais caro.

A maior transferência de Se para o ovo otimiza a atividade do sistema antioxidante do embrião, o qual é bastante desafiado no período de incubação devido ao intenso metabolismo com conseqüente geração de radicais livres. A melhora de proteção antioxidante pode levar a um aumento na eclodibilidade e a uma melhora na saúde em geral do pintinho o que resultaria em um aumento na rentabilidade.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Além dos animais, a população humana também é beneficiada através do consumo de produtos de origem animal enriquecidos com Se. A maior disponibilização de Se nas dietas dos seres humanos é uma necessidade crescente, tendo em vista o baixo consumo da população como um todo e da intensificação da agricultura pela crescente extração do Se no solo e, portanto tendência de redução de disponibilidade para as plantas. Além do aumento da proteção antioxidante e da comprovada atividade na prevenção de diversas

patologias pode o Se aumentar o tempo de prateleira dos produtos devido a sua ação principal como antioxidante.

O uso de ZnSeMet como suplemento na alimentação animal pode, portanto, ter os mesmos benefícios que as demais fontes orgânicas presentes no mercado, tendo uma vantagem adicional as outras que não possui variabilidade em sua composição.

Novos experimentos precisam ser conduzidos para se conhecer melhor a nova fonte de Se, ZnSeMet. A utilização de um maior número de animais torna o teste mais sensível, e capaz de esclarecer as questões relacionadas ao aumento de produção de ovos, peso de ovos e gravidade específica. O desenvolvimento de outros experimentos com um maior período experimental e de suplementação de Se busca encontrar o platô de deposição de Se no ovo. A avaliação de outros parâmetros como quantidade de Se no músculo, o nível sanguíneo de glutathione e o conteúdo de Se orgânico e inorgânico no ovo são importantes para compreensão do metabolismo deste mineral orgânico. Torna-se importante também, a utilização dos valores de Se recuperados nas dietas experimentais como covariáveis nos cálculos estáticos.

## APÊNDICES

## Apêndice 1. Programa de Luz

<b>Idade (semanas)</b>	<b>Luz/Dia (horas)</b>
22	10
23	12
24	12
25	14
26	14
27	16
28	16
29	17
30	17
31	17
32	17

## Apêndice 2. Média da gravidade específica dos ovos por período

<b>Inorgânico</b>	<b>Orgânico</b>	<b>Período 1</b>	<b>Período 2</b>
0,15	-	1085,00	1083,33
0,15	-	1092,50	1093,75
0,15	-	1093,75	1096,25
0,15	-	1089,29	1087,50
0,15	-	1092,50	1088,00
0,15	-	1092,14	1087,00
0,15	-	1093,00	1092,50
0,15	-	1096,67	1091,67
0,15	-	1095,00	1094,17
0,15	-	1089,29	1088,33
0,15	-	.	.
0,15	-	1089,00	1087,50
0,30	-	1094,00	1092,14
0,30	-	1093,33	1090,83
0,30	-	1085,83	1085,71
0,30	-	1089,17	1089,29
0,30	-	1091,25	1091,67
0,30	-	1082,50	1086,43
0,30	-	1094,00	1095,00
0,30	-	1090,00	1084,17
0,30	-	1087,00	1086,67
0,30	-	1088,00	1085,71
0,30	-	1086,00	1087,50
0,30	-	1088,33	1086,25

-	0,15	1088,33	1088,13
-	0,15	1086,25	1087,14
-	0,15	1090,00	1088,33
-	0,15	1085,00	1086,25
-	0,15	1090,00	1092,50
-	0,15	1087,50	1083,75
-	0,15	1090,00	1087,00
-	0,15	1090,00	1087,50
-	0,15	1092,86	1086,43
-	0,15	1089,00	1085,00
-	0,15	1093,75	1088,33
-	0,15	1089,17	1090,00
-	0,30	1094,00	1093,33
-	0,30	1090,00	1089,29
-	0,30	1092,00	1090,71
-	0,30	1087,50	1086,43
-	0,30	1089,17	1087,00
-	0,30	1092,50	1093,00
-	0,30	1088,00	1083,33
-	0,30	1095,00	1090,71
-	0,30	1086,00	1086,25
-	0,30	1085,00	1086,67
-	0,30	1089,00	1083,00
-	0,30	1092,50	1092,50
0,15	0,15	1088,75	1088,75
0,15	0,15	1092,00	1091,00
0,15	0,15	1090,83	1093,75
0,15	0,15	1093,00	1089,00
0,15	0,15	1089,17	1091,67
0,15	0,15	1091,25	1088,00
0,15	0,15	1089,00	1089,29
0,15	0,15	1090,00	1090,00
0,15	0,15	1089,00	1088,75
0,15	0,15	1092,00	1090,00
0,15	0,15	1092,50	1093,75
0,15	0,15	1086,25	1088,33

Apêndice 3. Média do peso dos ovos por período

Inorgânico	Orgânico	Período 1	Período 2
0,15	-	70,26	72,22
0,15	-	62,83	64,41
0,15	-	68,81	69,43
0,15	-	57,68	57,91
0,15	-	70,35	72,48
0,15	-	59,97	60,15



0,15	-	66,21	67,92
0,15	-	64,46	66,84
0,15	-	64,27	66,07
0,15	-	56,77	57,55
0,15	-	64,93	.
0,15	-	59,17	62,83
0,30	-	60,61	62,99
0,30	-	64,55	65,83
0,30	-	64,98	64,63
0,30	-	63,98	66,60
0,30	-	63,51	67,14
0,30	-	65,21	68,10
0,30	-	68,70	67,63
0,30	-	62,76	66,63
0,30	-	68,49	71,79
0,30	-	68,02	71,16
0,30	-	64,50	70,84
0,30	-	63,06	71,48
-	0,15	66,54	66,28
-	0,15	61,50	63,38
-	0,15	62,68	63,63
-	0,15	64,73	67,61
-	0,15	66,23	68,18
-	0,15	70,83	72,05
-	0,15	68,98	70,20
-	0,15	63,04	64,13
-	0,15	58,60	59,93
-	0,15	69,89	72,10
-	0,15	68,95	71,10
-	0,15	69,69	71,27
-	0,30	63,09	62,59
-	0,30	66,38	65,06
-	0,30	62,00	60,85
-	0,30	69,08	71,48
-	0,30	61,41	63,35
-	0,30	67,10	65,30
-	0,30	63,19	63,65
-	0,30	69,88	70,87
-	0,30	64,22	65,43
-	0,30	67,95	70,19
-	0,30	62,08	64,24
-	0,30	65,62	66,91
0,15	0,15	63,30	62,20
0,15	0,15	64,36	62,58
0,15	0,15	63,38	63,09
0,15	0,15	72,37	74,04
0,15	0,15	70,18	71,23

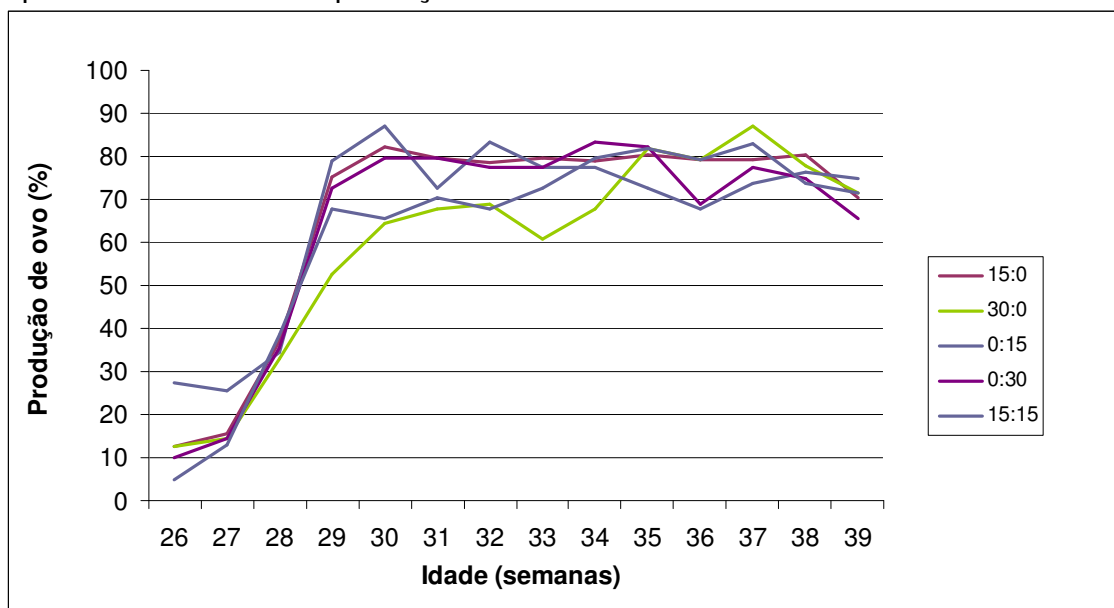
0,15	0,15	64,58	67,10
0,15	0,15	67,69	66,57
0,15	0,15	73,40	70,99
0,15	0,15	56,95	59,35
0,15	0,15	64,08	65,76
0,15	0,15	64,43	64,67
0,15	0,15	60,36	62,07

Apêndice 4. Média da produção de ovos por período

Inorgânico	Orgânico	Período 1	Período 2
0,15	-	60,71	50,00
0,15	-	75,00	82,14
0,15	-	75,00	78,57
0,15	-	78,57	89,29
0,15	-	85,71	78,57
0,15	-	82,14	82,14
0,15	-	71,43	82,14
0,15	-	85,71	82,14
0,15	-	78,57	82,14
0,15	-	78,57	78,57
0,15	-	50,00	0,00
0,15	-	85,71	96,43
0,30	-	64,29	71,43
0,30	-	71,43	78,57
0,30	-	78,57	82,14
0,30	-	89,29	82,14
0,30	-	67,86	71,43
0,30	-	25,00	82,14
0,30	-	64,29	64,29
0,30	-	71,43	82,14
0,30	-	78,57	78,57
0,30	-	67,86	60,71
0,30	-	75,00	71,43
0,30	-	35,71	71,43
-	0,15	78,57	71,43
-	0,15	75,00	85,71
-	0,15	64,29	53,57
-	0,15	71,43	82,14
-	0,15	78,57	78,57
-	0,15	64,29	75,00
-	0,15	71,43	71,43
-	0,15	67,86	71,43
-	0,15	85,71	89,29
-	0,15	64,29	53,57
-	0,15	71,43	85,71
-	0,15	85,71	75,00

-	0,30	78,57	57,14
-	0,30	78,57	78,57
-	0,30	82,14	78,57
-	0,30	78,57	67,86
-	0,30	82,14	82,14
-	0,30	85,71	75,00
-	0,30	82,14	78,57
-	0,30	78,57	75,00
-	0,30	78,57	78,57
-	0,30	78,57	67,86
-	0,30	82,14	71,43
-	0,30	82,14	78,57
0,15	0,15	82,14	78,57
0,15	0,15	75,00	71,43
0,15	0,15	85,71	85,71
0,15	0,15	71,43	57,14
0,15	0,15	78,57	71,43
0,15	0,15	35,71	75,00
0,15	0,15	82,14	71,43
0,15	0,15	67,86	71,43
0,15	0,15	78,57	78,57
0,15	0,15	78,57	75,00
0,15	0,15	75,00	67,86
0,15	0,15	71,43	92,86

Apêndice 5. Gráfico da produção de ovos



## Apêndice 6. Média do conteúdo de selênio nos ovos por período

Inorgânico	Orgânico	Período 1	Período 2
0,15	-	0,18	0,26
0,15	-	0,12	0,24
0,15	-	0,11	0,23
0,15	-	0,19	0,23
0,15	-	0,19	0,19
0,30	-	0,18	0,24
0,30	-	0,17	0,20
0,30	-	0,17	0,28
0,30	-	0,21	0,22
0,30	-	0,13	0,18
-	0,15	0,22	0,25
-	0,15	0,22	0,23
-	0,15	0,23	0,27
-	0,15	0,23	0,40
-	0,15	0,20	0,22
-	0,30	0,37	0,48
-	0,30	0,32	0,33
-	0,30	0,31	0,30
-	0,30	0,30	0,46
-	0,30	0,29	0,36
0,15	0,15	0,29	0,37
0,15	0,15	0,23	0,35
0,15	0,15	0,27	0,36
0,15	0,15	0,25	0,40
0,15	0,15	0,20	0,33

## Apêndice 7. Análise estatística da gravidade específica

<b>ANOVA</b>					
<b>Dentro dos sujeitos</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Período	1	35,62	35,62	11,74	0,001
Período x Dose	1	2,23	2,23	0,734	0,395
Período x Fonte	2	5,35	2,674	0,881	0,420
Período x Fonte x Dose	1	0,767	0,767	0,253	0,617
Error	54	163,86	3,035		
<b>Entre os sujeitos</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Dose	1	8,17	8,17	0,540	0,466
Fonte	2	44,72	22,36	1,478	0,237
Dose*Fonte	1	49,43	49,43	3,268	0,076
Error	54	816,91	15,13		

## Apêndice 8. Análise estatística do peso dos ovos

<b>ANOVA</b>					
<b>Dentro dos sujeitos</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Período	1	48,86	48,86	35,82	0,090
Período x Dose	1	0,586	0,586	0,43	0,520
Período x Fonte	2	17,15	8,58	6,29	0,115
Período x Fonte x Dose	1	8,06	8,06	5,91	0,185
Erro	54	73,65	1,36		
<b>Entre os sujeitos</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Dose	1	2,62	2,62	0,087	0,769
Fonte	2	12,59	6,29	0,209	0,812
Dose*Fonte	1	57,72	57,72	1,914	0,172
Erro	54	1628,19	31,15		

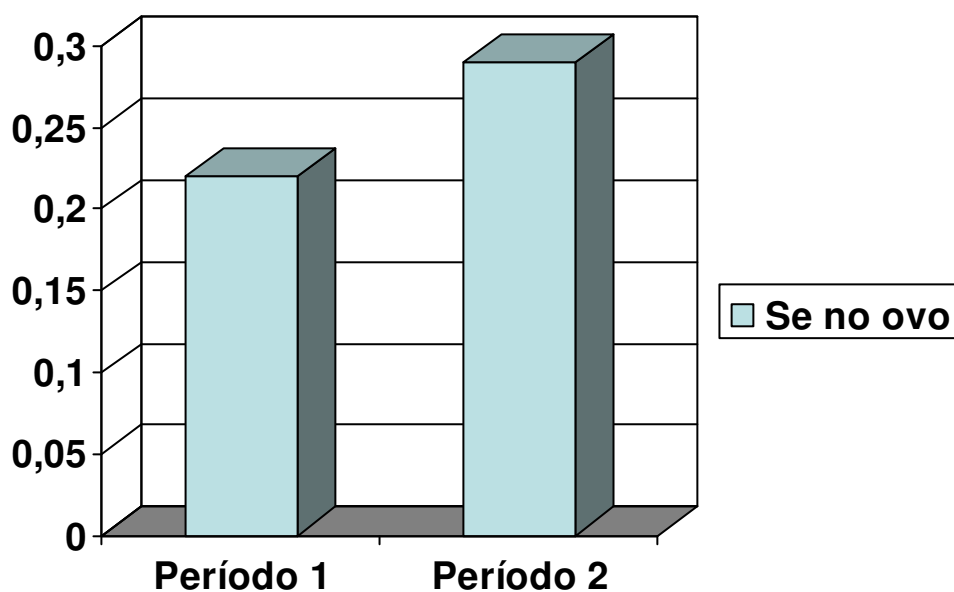
## Apêndice 9. Análise estatística da produção de ovos

<b>ANOVA</b>					
<b>Dentro dos sujeitos</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Período	1	5,55	5,55	0,056	0,813
Período x Dose	1	16,08	16,08	0,163	0,688
Período x Fonte	2	223,35	111,67	1,132	0,330
Período x Fonte x Dose	1	527,34	527,34	5,345	0,025
Erro	55	5426,76	98,67		
<b>Entre os sujeitos</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Dose	1	3,32	3,32	0,014	0,905
Fonte	2	247,09	123,54	0,537	0,588
Dose*Fonte	1	373,22	373,22	1,621	0,208
Erro	55	12661,03	230,20		

## Apêndice 10. Análise estatística do conteúdo de Selênio no ovo

<b>ANOVA</b>					
<b>Dentro dos sujeitos</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Período	1	0,057	0,057	34,941	0,000
Período x Dose	1	0,000	0,000	0,097	0,758
Período x Fonte	2	0,005	0,003	1,422	0,265
Período x Fonte x Dose	1	0,002	0,002	0,957	0,340
Erro	20	0,033	0,002		
<b>Entre os sujeitos</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Dose	1	0,034	0,034	13,18	0,002
Fonte	2	0,052	0,026	20,55	0,000
Dose*Fonte	1	0,031	0,031	12,063	0,002
Erro	20	0,003	0,000		

Apêndices 11. Gráfico do efeito do tempo sobre o conteúdo de selênio no ovo



<b>Média (mg/kg)</b>	0,196
<b>Probabilidade</b>	< 0,0001
<b>CV(%)</b>	13.53

Apêndice 12. Provável concentração de Se nos ingredientes (mg/kg)

<b>Ingrediente</b>	<b>Concentração de Se</b>	<b>Fonte</b>
Arroz, farelo	0,03	Gierus, 2007
Carne e osso, farinha	0,42	NRC, 1994
Glúten de milho, farelo	1,00	NRC, 1994
Milho, grão	0,03	NRC, 1994
Soja, farelo	0,30	Gierus, 2007
Sorgo	0,20	NRC, 1994