

Análise espermática de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) criadas em cativeiro e suplementadas com selênio

Semen evaluation of captive male red-winged tinamous (Rhynchotus rufescens) supplemented with selenium

Paola Almeida de Araújo GÓES¹; Ana Karina da Silva CAVALCANTE²; Aline Frasseto TAVIAN³; Leticia FELIPE²; Erika Coelho SANTOS³; Marcílio NICHÍ¹; Sandra Aidar de QUEIROZ³; Renato Campanarut BARNABE¹; Valquíria Hyppolito BARNABE¹

¹Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo- SP, Brasil

²Departamento de Reprodução da Universidade Metropolitana de Salvador, Salvador-Bahia, Brasil

³Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP, Brasil

Resumo

Considerando a importância comercial da perdiz (*Rhynchotus rufescens*), implantaram-se algumas biotecnologias reprodutivas. Trinta animais, provenientes da FCAV-UNESP/Jaboticabal (2007-2008), foram aleatoriamente distribuídos em grupos: controle (sem selênio orgânico) e tratamento (com 0,2 a 0,8 mg de selênio em 1000 kg de ração). Coletou-se sêmen por excitação manual, que foi aliqüotado em *pools* com 150 µL. Mensuraram-se volume, motilidade, vigor, número de espermatozoides, concentração e morfologia espermáticas. Diluíram-se 20 µl de sêmen em 300 µl de solução fisiológica para testes complementares (Integridade das membranas acrossomal e plasmática). Contaram-se 200 células, por teste, e classificaram-nas: 1) Acrossomo Íntegro: cor lilás e Não-Íntegro: róseo; 2) Células Vivas (não coradas) e Mortas (coradas). Os dados foram analisados pelo SAS, System for Windows. Os resultados dos *pools* com e sem selênio foram: as variáveis volume, motilidade, vigor, número de espermatozoides, concentração, integridade acrossomal e integridade da membrana plasmática não apresentaram resultados significantes, porém encontrou-se uma menor porcentagem de espermatozoides com peça intermediária fortemente dobrada, nos animais tratados com selênio em relação aos não tratados ($1,33 \pm 0,53$ vs. $3,78 \pm 0,69$, respectivamente; $p = 0.0107$). De fato, sabe-se que o selênio tem papel importante na estrutura dos espermatozoides²⁰. A deficiência de selênio está associada com danos na arquitetura da peça intermediária do espermatozoide¹⁰.

Palavras-chave: Coleta de sêmen de aves. Selênio. Perdiz.

Abstract

Due to the commercial importance of the red-winged tinamou (*Rhynchotus rufescens*), for the past few years, the employment of reproductive biotechnologies has been attempted. Thirty animals were randomly assigned into two groups: control group (no selenium) and treatment group (supplemented with 0,2 a 0,8 mg selenium/ 1000 kg ration). Animals were allocated at the FCAV – UNESP/Jaboticabal (2007-2008). Semen collections were performed by digital manipulation and divided in pools of at least 150 µL. After the immediate evaluation of motility, vigour, concentration and morphology, an aliquot of 20 µL was diluted in 300 µL of physiologic solution in order to test acrosome and membrane integrities, which were performed by counting 200 cells for each test. Cells were evaluated as follows: 1) Intact acrosome: lilac acrosome; Non-intact acrosome: pink acrosome; 2) Live cells: non stained; Dead: stained. Data was statistically analysed using the SAS System for Windows. No differences were found between treatment and control groups for volume, motility, vigour, mean number of spermatozoa per animal, concentration, Intact acrosome, Intact membrane. The difference found on midpiece sperm defect ($Se = 1,33 \pm 0,53$ and control = $3,78 \pm 0,69$, $p = 0.0107$) may be due to the damages caused by the selenium deficiency to the architecture of the midpiece, which compromises sperm mobility and fertilization capacity.

Keywords: Bird semen collection. Selenium. Red-winged tinamou.

Correspondência para:

Paola Almeida de Araújo Góes
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo
Cidade Universitária A. S. O.
Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, n. 87, São Paulo – SP,

CEP: 05508-900

e-mail: pgoes@usp.br

Recebido: 05/05/2010

Aprovado: 05/10/2011

Apoio: FAPESP

Introdução

No Brasil, o mercado de carne de aves domésticas e não domésticas aumentou, elevando o interesse das agroindústrias por essa produção como fonte alternativa de proteína, atendendo novos consumidores.

A perdiz (*Rhynchotus rufescens*), Temminck, 1815, é uma *Tinamidae* nativa do Brasil, com altura média de 37,5 cm. Popularmente denominada de perdigão, tem elevado potencial de exploração zootécnica, na culinária sofisticada e criação racional¹. O ciclo reprodutivo da perdiz sofre alterações sazonais. A estação reprodutiva desses animais relaciona-se com o aumento da luminosidade e temperatura².

Na perdiz, os testículos são estruturas pares que sofrem alterações morfológicas sazonais e passam por uma involução com quiescência da espermatogênese quando essas aves estão fora da estação reprodutiva³. O órgão copulatório masculino das perdizes é denominado falo do tipo intromitente, localizado no proctodeu e dividido em duas porções: a esquerda é constituída por uma estrutura cilíndrica eversível e a direita é fixa. Quando ereto, torna-se espiralado⁴ podendo atingir de 3 a 4 cm de comprimento por 8 mm de diâmetro⁵. O sêmen fica estocado na ampola do ducto deferente⁵, localizado na porção final do ducto deferente².

A coleta de sêmen de perdizes é realizada após a remoção das penas da região cloacal e exteriorização do falo² e compressão digital nas ampolas dos ductos deferentes e base do mesmo, obtém-se o sêmen na parte distal da porção fixa do falo². As médias dos valores seminais de perdizes descritos na literatura são: volume (14,13 µl), concentração (0,93 x 10⁹ spz/ml) e motilidade (66%) e as alterações morfológicas mais encontradas em sêmen de perdizes foram defeitos de: acrossomo (0,79%), cabeça (10,45%), peça intermediária (16,06%), cauda (14,99%) e outros (1,28%)².

A aplicação de testes funcionais em amostras seminais visa determinar a viabilidade dos gametas

masculinos. Diversas metodologias foram descritas, porém, muitas delas são sofisticadas, o que dificulta a aplicabilidade em algumas situações^{6,7,8}. Barth e Oko⁹ utilizaram o corante eosina/nigrosina para diferenciar espermatozoides vivos dos mortos. A coloração eosina/nigrosina baseia-se no princípio de que espermatozoides vivos e com membrana plasmática íntegra têm a capacidade de excluir o corante eosina. Por outro lado, espermatozoides mortos possuem as membranas celulares permeáveis, não permitindo a exclusão do corante⁷. A integridade acrossomal, pode ser avaliada através da identificação do acrossomo em microscopia de luz, pelo método da coloração simples⁶ por meio de solução de 1% do corante Fast Green (FCF) e do Rosa Bengala (FR), de acordo com Pope, Zhang e Dresses⁶.

O selênio é um componente da glutathione peroxidase e um elemento essencial e importante na reprodução animal¹⁰. O selênio participa da regulação de várias funções fisiológicas, dentre elas a proteção antioxidante e manutenção da integridade da estrutura do espermatozoide. Em muitos lugares do mundo, a dieta com selênio para animais é limitada, e uma suplementação poderia trazer um efeito benéfico como antioxidante do sêmen e de vários tecidos¹¹.

A deficiência de selênio está associada com danos na arquitetura da peça intermediária do espermatozoide, comprometendo a mobilidade e a capacidade de fertilização deste¹⁰.

Portanto, é necessário aprofundar estudos na fisiologia reprodutiva desses animais para que, através da aplicação de biotécnicas, consigamos melhorar o desempenho produtivo dessas aves.

Material e Método

Os animais desse trabalho foram provenientes do Criadouro Científico, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da UNESP, *campus* de Jaboticabal, onde foi realizada a coleta das amos-

tras. Utilizaram-se 30 machos, com idade entre 3 a 4 anos, que foram separados em boxes coletivos evitando o contato físico com as fêmeas que recebiam água e ração peletizada *ad libitum.*, desenvolvida por pesquisadores da FCAV¹². Anterior à coleta de sêmen, removeram-se as penas da região pericloacal². Para a determinação do início da estação reprodutiva, que se inicia na metade do segundo semestre², início da primavera, observaram-se parâmetros comportamentais como: agressividade, emissão de piados, inquietude e tentativas de cópula, além da presença de células espermáticas nas amostras².

Para a técnica da coleta de sêmen, realizou-se a exposição do falo com as mãos enluvadas, e logo após esse procedimento realizou-se um rápido exame de inspeção clínica do órgão e as amostras foram coletadas por massagem abdominal e excitação manual². Os animais utilizados foram previamente condicionados a esse método de coleta na estação reprodutiva anterior.

As aves foram divididas em dois grupos, com número de animais proporcional aos grupos de tratamento: 1) grupo controle, onde não foi realizada a suplementação com selênio orgânico (Premix: 70 mg de Se para cada 100 kg) e 2) grupo tratamento, suplementado com 0,2 a 0,8 mg de selênio em 1000 kg de ração, durante o período de outubro a dezembro de 2007. Foi realizado um total de 110 coletas de sêmen, durante o período de dezembro de 2007 e janeiro e fevereiro de 2008, sendo 49 amostras para o grupo com selênio e 61 para o grupo sem selênio. As amostras eram coletadas por uma equipe de trabalho, evitando diferença entre os grupos estudados de dias e tempo de coletas. Os ejaculados dos animais do mesmo grupo eram depositados em criotubo, aquecido em banho-maria a 37 °C, até a obtenção de um volume total aproximado de 150 µl, formando um *pool*, considerado como unidade experimental, perfazendo um total de 18 *pools*, nove para cada grupo estudado. Imediatamente após cada coleta de sêmen, realizou-se o exame visual da amostra (*pool*). Observou-se a coloração e

possíveis contaminações com fezes e urina. O volume foi descrito através de observação direta em tubo capilar graduado e então realizaram-se os testes convencionais. A motilidade (%) e vigor espermático (0-5) foram mensurados através do depósito de uma gota de sêmen (5 µl) diluída em solução fisiológica na proporção de 1:10, entre lâmina e lamínula, observadas em microscópio de luz. A concentração espermática foi determinada através da contagem em câmara de hematimetria (Neubauer), utilizando-se as recomendações usuais para contagem de células sanguíneas. Para tanto, uma alíquota de 2 µl de cada amostra foi colocada em microtubo plástico identificado, contendo 998 µl da solução de formol salino a 37 °C, em seguida os tubos foram estocados em geladeira a 5 °C para análise posterior. Para avaliação da morfologia espermática, utilizou-se a técnica da preparação úmida, que consiste de uma alíquota de 5-10 µl de sêmen diluído em formol salino depositada entre lâmina e lamínula, que posteriormente foram vedadas com esmalte e avaliadas 200 células em microscópio de interferência diferencial de fases (1000X).

Após a retirada das amostras para a análise dos testes convencionais, foram separadas do mesmo *pool* 20 µl de sêmen que foram diluídos em 300 µl de solução fisiológica, para a realização dos testes complementares.

Para a análise da integridade acrossomal, uma alíquota de 10 µl de sêmen fresco foi adicionada a 10 µl do Corante Simples de Pope - Fast Green/Rosa Bengala⁶ e incubada durante 70 segundos. Após esse período, uma alíquota foi depositada em uma lâmina e foi preparado um esfregaço, que foi avaliado em microscópio de luz (1000X). Contaram-se 200 células, que foram classificadas como: 1) Acrossomo Íntegro: coloração lilás e 2) Acrossomo Não-íntegro: coloração rosa. Para a avaliação da viabilidade celular, foi utilizada a combinação dos corantes eosina e nigrosina (E/N) em esfregaço de sêmen fresco. Uma alíquota de sêmen (10 µl) foi misturada ao corante na proporção de 1:1 que ficou incubada por 45 segundos e executaram-se esfregaços

sobre lâminas de microscopia. Contaram-se 200 espermatozoides em microscópio óptico com aumento de 1000 vezes, diferenciando células vivas (não coradas) das mortas (coradas). Os dados foram analisados através do aplicativo Guided Data Analysis e Analyst do programa SAS System for Windows¹³. Através do aplicativo Guided Data Analysis, os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Caso não obedecessem a estas premissas, eram transformados (logaritmo na base 10 - $\log_{10} X$; Raiz quadrada - \sqrt{X} ; Quadrado - X^2) e se a normalidade não fosse obtida, empregava-se então, o procedimento NPARIWAY (Teste Wilcoxon) de análise de variância não paramétrica. Caso as premissas fossem respeitadas, os dados eram analisados utilizando-se o PROC TTEST (t de Student).

Resultados

Os resultados das análises das amostras obtidas em dezembro de 2007 e janeiro e fevereiro de 2008 estão apresentadas nas tabelas 1, 2, 3 e 4.

Não foram encontradas diferenças estatísticas entre o número de animais que compuseram cada *pool*, volume dos *pools* (μl), número de espermatozoides por ejaculado ($\times 10^9$), concentração ($\times 10^9$ spz/ml) e volume do ejaculado de cada animal (μl), dos *pools* de sêmen de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) do grupo tratamento (suplementado com selênio) e o grupo controle (sem suplementação de selênio), de acordo com a tabela 1. Analisando a tabela 2, verificamos também que não houve diferença nas variáveis motilidade e vigor dos grupos com selênio e sem selênio.

Tabela 1 – Média, erro padrão da média (EPM), e teste de probabilidade do volume dos *pools* (μl), número de espermatozoides por ejaculado ($\times 10^9$), concentração ($\times 10^9$ spz/ml) e volume do ejaculado de cada animal (μl), dos *pools* de sêmen de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) do grupo tratamento (suplementado com selênio) e o grupo controle (sem suplementação de selênio), criadas em cativeiro – Jaboticabal – 2007/2008

Variáveis	C/ Se	S/ Se	p
Volume	145,33 \pm 4,87	153,44 \pm 5,82	0.3016
Sptz/ejac	95,26 \pm 11,78	69,16 \pm 14,43	0.1800
Concentração	3,44 \pm 0,41	2,72 \pm 0,41	0.2317
Volume/Perdiz	28,30 \pm 2,34	24,66 \pm 2,58	0.3122

(sptz/ejac: número de espermatozoides por ejaculado- volumes e concentrações individuais)

Tabela 2 – Média, erro padrão da média (EPM), e teste de probabilidade da motilidade (%) e vigor (0-5), dos *pools* de sêmen de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) do grupo tratamento (suplementado com selênio) e o grupo controle (sem suplementação de selênio), criadas em cativeiro – Jaboticabal – 2007/2008

Variáveis	C/ Se	S/ Se	p
Motilidade	74,6 \pm 2,99	70,65 \pm 1,93	0.2831
Vigor	3,43 \pm 0,10	3,22 \pm 0,17	0.2948

Observando os resultados da tabela 3, foram encontradas as seguintes alterações morfológicas: defeitos de cauda (55,22% e 49,1%), defeitos de peça intermediária (1,83% e 4,84%), defeitos de cabeça (3,0% e 7,54%) e outros (0,22% e 0,22%), para os grupos com e sem selênio respectivamente, sendo que dentro desses resultados os defeitos mais encontrados foram: cauda fortemente dobrada, cauda fortemente enrolada e peça intermediária fortemente dobrada. Foi observada também uma

menor porcentagem de espermatozoides com peça intermediária fortemente dobrada, nos animais tratados com selênio em relação aos não tratados ($1,33 \pm 0,53$ vs. $3,78 \pm 0,69$, respectivamente; $p = 0.0107$).

Como pode ser observado na tabela 4, não foi possível verificar diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados para as porcentagens de células com membrana íntegra e as células com acrossomo não lesados.

Tabela 3 – Média, erro padrão da média (EPM), e teste de probabilidade das alterações morfológicas de espermatozoides, dos *pools* de sêmen de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) do grupo tratamento (suplementado com selênio) e o grupo controle (sem suplementação de selênio), criadas em cativeiro – Jaboticabal – 2007/2008

Variáveis	C/ Se	S/ Se	p
NORMAIS	39,72 ± 5,20	42,44 ± 4,29	0,5911
CAUDA FORT. DOB	45,61 ± 4,51	32,66 ± 5,75	0,0702
PI. FORT. DOB.	1,33 ± 0,53	3,78 ± 0,69	0,0107
CAB. FORT. DOB.	2,00 ± 0,64	2,44 ± 0,76	0,3467
CABEÇA ENROLADA	1,00 ± 0,42	1,33 ± 0,49	0,2514
PI. DOBRADA	0,50 ± 0,14	1,06 ± 0,32	0,1546
CAUDA DOBRADA	3,11 ± 0,95	3,50 ± 0,61	0,3157
CAUDA ENROLADA	0,89 ± 0,50	0,50 ± 0,26	0,3463
CAUDA FORT. ENR.	5,61 ± 1,41	12,44 ± 3,72	0,1516
GOTA PROXIMAL	0,11 ± 0,11	0	0,1932
TODO ENROLADO	0,11 ± 0,11	0,22 ± 0,15	0,2960

(CAUDA FORT. DOB.: cauda fortemente dobrada, P. I. FORT. DOB.: peça intermediária fortemente, CAB. FORT. DOB.: cabeça fortemente dobrada, P. I. DOBRADA: peça intermediária dobrada, CAUDA FORT. ENR.: cauda fortemente enrolada)

Tabela 4 – Média, erro padrão da média (EPM), e teste de probabilidade de espermatozoides com membrana plasmática íntegra (E/N), e espermatozoides com acrossomo íntegro (POPE), dos *pools* de sêmen de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) do grupo tratamento (suplementado com selênio) e o grupo controle (sem suplementação de selênio), criadas em cativeiro – Jaboticabal – 2007/2008

Variáveis	C/ Se	S/ Se	P
E/N	76,69 ± 8,53	67,17 ± 6,32	0,3772
POPE	88,94 ± 1,48	88,28 ± 2,93	0,8494

Diferenças estatísticas ($p < 0,05$)

Discussão

No trabalho realizado, de acordo com as tabelas 1 e 2, não encontramos resultados que demonstrassem diferenças estatísticas entre os grupos, diferindo com dados literários consultados. Em um trabalho realizado em 2005, foi demonstrado uma diferença significativa entre algumas características seminais (motilidade, vigor e concentração espermática) de perdizes tratadas com selênio (0,75 mg de selênio por litro de água), sendo que o volume não apresentou diferença significativa ($p = 0,7087$)¹⁴. A deficiência de selênio está associada com danos na arquitetura da peça intermediária do espermatozoide, o que compromete a mobilidade e a capacidade de fertilização deste, então era esperado que o grupo suplementado com o selênio apresentasse resultados melhores sobre as variáveis motilidade e vigor¹⁰.

Comparando a média dos valores de volume encontrada no grupo controle ($24,66\mu\text{l} \pm 2,58$) com dados da literatura verificamos que a média dessa variável superou a média consultada¹¹, que descrevia $14,13\mu\text{l}$ de volume seminal em perdizes. Levando-se em consideração que foram utilizados nesse trabalho, o mesmo grupo experimental condicionado de acordo com artigo publicado por Cavalcante², esta diferença poderia ser explicada, pois os animais teriam um maior tempo de rotina de coleta de sêmen e condicionamento. Isto possibilitaria aos animais uma melhor adaptação em relação à manipulação, o que diminuiria o estresse provocado pelo manejo. Além disso, devemos levar em consideração a maturidade sexual dos animais que fizeram parte do experimento, em relação à idade, o que pode provocar diferenças nos valores das variáveis observadas. Nos registros zootécnicos do Galpão de Recria de Perdizes da FCAV/UNESP, a média de vida registrada informalmente é de cinco anos, sendo que há exemplares com mais de seis anos registrados. No experimento descrito por Cavalcante², as aves possuíam idade entre um a dois anos. Para esse

experimento, as aves tinham idade entre três a quatro anos. Outro fato interessante de ser comentado é que para esse experimento foi necessária a formação de *pools* de sêmen, como descrito na metodologia, pois a quantidade de sêmen coletada por animal é insuficiente para a realização dos protocolos que foram realizados. É importante salientar que na hora da coleta para a formação do *pool*, tentamos esgotar ou coletar o máximo de volume da amostra, intensificando a massagem digital.

Em relação à morfologia espermática, assim como em espermatozoides de ema^{15,16}, os espermatozoides de perdizes avaliados no presente trabalho também apresentaram uma peça intermediária curta entre a cabeça e a peça principal, assemelhando-se a morfologia espermática encontrada em galos.

Observando os resultados de morfologia espermática do grupo sem selênio apresentados na tabela 3, as alterações morfológicas encontradas estão similares às relatadas em literaturas consultadas^{15,17}, para galos e emas, que citam defeitos de acrossomo, cabeça, peça intermediária e cauda. Algumas alterações morfológicas encontradas no presente trabalho foram: 1) acrossoma – intumescido e destacado⁹ ($p < 0,05$); 2) cabeça – enrolada^{17,18} ($p < 0,05$); 3) peça intermediária – com gota e dobrada¹⁸ ($p < 0,05$) 4) e cauda – enrolada e dobrada^{17,18} ($p < 0,05$).

Observando os resultados descritos na tabela 3, encontrou-se uma menor porcentagem de espermatozoides com peça intermediária fortemente dobrada, nos animais tratados com selênio em relação aos não tratados ($1,33 \pm 0,53$ vs. $3,78 \pm 0,69$, respectivamente; $p = 0,0107$). De fato, sabe-se que o selênio tem papel importante na estrutura dos espermatozoides¹⁹. A deficiência de selênio está associada com danos na arquitetura da peça intermediária do espermatozoide¹⁰. Em um trabalho realizado com galos suplementados com selênio inorgânico com ou sem adição de selênio orgânico, observou-se que na adição do selênio orgânico, houve uma redução na taxa de espermatozoides

anormais e alterações morfológicas de peça intermediária, além do aumento na taxa de alterações morfológicas de cabeça²⁰.

Como citado anteriormente, não foi possível verificar diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados para as porcentagens de células com membrana íntegra e as células com acrossomo não lesados. Porém baseados em dados literários, abaixo citados, seria esperado que o grupo tratado com selênio apresentasse maior número de células com membrana plasmática íntegra e acrossomos íntegros, pois o selênio promove uma proteção celular às membranas biológicas²¹, além de regular uma gama de mecanismos fisiológicos em diversas espécies, entre eles a proteção antioxidante e a manutenção da integridade da estrutura do espermatozoide¹⁰. Adicionando-se selênio orgânico à dieta de galos, observou-se um aumento na taxa de espermatozoides vivos²⁰.

Em geral, o tratamento com selênio não apresentou efeito na qualidade espermática em perdizes. Um dos fatores que poderia estar relacionado a esta falta de efeito foi a utilização de *pools*. Várias variáveis apresentaram valores bastante diferentes entre os dois grupos (selênio e controle), no entanto sem diferenças estatisticamente significativas. Caso os testes fossem realizados em um número maior de *pools* ou em cada um dos animais individualmente, possivelmente estas diferenças se mostrariam significativas. No entanto, seria impossível realizar todos os testes em um mesmo animal devido à insuficiência de amostra.

Resultados contraditórios têm sido obtidos por diversos autores em relação ao tratamento de infertilidade com selênio. Em uma pesquisa realizada com homens apresentando baixa motilidade espermática, foi feita a suplementação com a dose diária oral de 100 µg de selênio, combinadas ou não com uma suplementação vitamínica (Vitaminas A, C e E), e comparou-os a um grupo suplementado com placebo. Os autores verificaram um aumento significativo na motilidade espermática dos grupos tratados em comparação ao

grupo controle²². Em outro experimento, verificou-se uma melhora na qualidade espermática em homens inférteis tratados com uma combinação de selênio (225 µg) e vitamina E (400 mg)²³. Bleau et al.²⁴ verificaram uma correlação significativa entre as concentrações seminais de selênio e a concentração espermática. Os autores verificaram uma motilidade espermática máxima com níveis seminais de selênio entre 50 e 69 ng/mL. Acima e abaixo desta faixa, a motilidade era diminuída e a incidência de astenospermia era alta. Por outro lado, Iwanier e Zachara²⁵, comparando o efeito da suplementação oral com selênio (200 µg) obtido de levedura (orgânico) ou o selenito (inorgânico) em homens subférteis, verificaram que o primeiro aumentou a concentração de selênio em sangue e plasma seminal enquanto que o segundo não apresentou efeito. No entanto, corroborando com os resultados encontrados no presente experimento, nenhuma das formas de selênio apresentou efeito sobre a qualidade espermática. Da mesma forma, Behne et al.²⁶ também não verificaram qualquer correlações entre as concentrações de selênio em plasma seminal e a concentração espermática, motilidade, viabilidade e morfologia. No presente experimento, calcula-se uma média de consumo de selênio em torno 296,9 e 354,0 µg/animal/dia, incluindo o selênio já presente no *premix*. Considerando-se as devidas proporções entre as espécies, pode-se inferir que estes valores são bastante consideráveis, estando acima dos utilizados pelos autores citados. No entanto, os níveis dos animais tratados ou não com selênio estão bastante próximos, o que poderia explicar a ausência de diferenças significativas no presente experimento, não explicando, porém, os resultados contraditórios encontrados nos trabalhos anteriores.

Conclusão

Foi possível inferir que o tratamento com selênio, nas condições do presente experimento, não foi eficiente para melhorar os parâmetros seminais de perdizes.

Referências

- MARTÍNEZ, F. A. Programa de manejo em cautiverio de la perdiz colorada (*R. rufescens*). **AgroHispana**: La Página Hispana de Agricultura y Ganadería. Disponível em: <<http://www.agrohispana.com/escuela/verdoc.asp?Documento=coln034>>. Acesso em: 11 Ago. 2002.
- CAVALCANTE, A. K. S. **Parâmetros reprodutivos de perdizes machos (*Rhynchotus rufescens*) criadas em cativeiro**: comparação entre os índices reprodutivos de animais acasalados e inseminados. 2006. 98 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- BOTINO, F.; BARALDI-ARTONI, S. M.; CRUZ, C.; SIMÕES, K.; OLIVEIRA, D.; ORSI, A. M.; CARVALHO, A. C. F.; ROQUE, A.; FRANZO, V. S. Estudo morfológico do testículo de perdiz no decorrer do ano. In: CONGRESSO DE INTEGRAÇÃO EM BIOLOGIA DA REPRODUÇÃO - CIBR, 2003, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, 2003. RAS.04.
- SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. p. 912.
- BULL, M. L. Anatomia do aparelho reprodutor do macho e da fêmea. In: FUNDAÇÃO APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. **Fisiologia da reprodução de aves**. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1994. p. 1-10. (Coleção FACTA).
- POPE, C. E.; ZHANG, Y. Z.; DRESSES, B. L. A. Simple staining method for evaluating acrossomal status of cat spermatozoa. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 22, n. 1, p. 87-95, 1991.
- SILVA, P. M. C.; COSTA, A. N.; REIS, J. C.; GUERRA, M. M. P. Efeito de diluente e de tempo de armazenamento sobre características qualitativas do sêmen de perus (*Melleagris gallopavo*, L.) mantidos em gaiolas. **Ciência Veterinária Tropical**, v. 5, n. 2/3, p. 107-120, 2002.
- SILVA, J. R. Recolha e avaliação de ejaculados de garanhão em condições de campo. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 101, n. 559-560 p. 305-309, 2006.
- BARTH, A. D.; OKO, R. J. **Abnormal morphology of bovine spermatozoa**. Ames: Iowa State University Press, 1989. 285 p.
- SURAI, P. F. **Natura antioxidants in avian nutrition and reproduction**. Nottingham: Nottingham University Press, 2002. p. 615.
- BLESBOIS, E.; GRASSEAU, I.; CHALAH, T.; BRILLARD, J. P.; WISHART, G. J.; CEROLINI, S.; SPARKS, N. H. C. Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity of avian semen. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 120, pt. B, p. 527-533, 1998.
- MORO, M. E. G. **Desempenho e características de carcaças de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) criadas com diferentes programas de alimentação**. 1996. 75 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.
- SAS. THE STATISTICAL ANALYZE SYSTEMS FOR WINDOWS. **SAS user's guide**: statistics. Versão 8. Cary: SAS. 1999-2001.
- TAVIAN, F. A. **Descrição dos achados seminais de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) tratadas com vitamina E e selênio**. 2005. 24 f. Relatório (Iniciação científica em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.
- GÓES, P. A. A. **Características reprodutivas de emas (*Rhea americana*) criadas em cativeiro no estado de São Paulo**. 2003. 79 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- PHILLIPS, D. M.; ASA, C. S. Development of spermatozoa in the Rhea. **The Anatomical Record**, v. 223, n. 3, p. 276-282, 1989.
- CLARKE, R. N.; BAKST, M. R.; OTTINGER, M. A. Morphological changes in chicken and turkey spermatozoa incubated under various conditions. **Poultry Science**, v. 63, n. 4, p. 801-805, 1984.
- BAJPAI, P. K. The effect of photoperiodicity on semen characteristics of poultry. **Poultry Science**, v. 42, n. 1, p. 462-465, 1963.
- DIMITROV, S. G.; ATANASOV, V. K.; SURAI, P. F.; DENEV, S. A. Effect of organic selenium on turkey semen quality during liquid storage. **Animal Reproduction Science**, v. 100, n. 3-4, p. 311-317, 2007.
- SILVA, L. A.; SILVA, R. R.; ZAUKE, N. H. F.; DIONELLO, N. J.; POPOSKI, M.; ROVATTI, E.; ZIGUER, E. A.; RUTZ, F. Características seminais qualitativas em galos recebendo dietas contendo selênio inorgânico suplementado ou não com orgânico. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS, 12., 2003, Pelotas. **Anais eletrônicos...** Rio Grande do Sul: CIC, 2003. Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/cic/2003/relatorios/indice_CA.html>. Acesso em: 18 mar. 08.
- MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALEZ, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1994.
- SCOTT, R.; MACPHERSON, A.; YATES, R. W. S.; HUSSAIN, B.; DIXON, J. The effect of oral selenium supplementation on human sperm motility. **British Journal of Urology**, v. 82, n. 1, p. 76-80, 1998.
- KESKES-AMMAR, L.; FEKI-CHAKROUN, N.; REBAI, T.; SAHNOUN, Z.; GHOZZI, H.; HAMMAMI, S.; ZGHAL, K.; FKI, H.; DAMAK, J.; BAHLOUL, A. Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men. **Archives of Andrology**, v. 49, n. 2, p. 83-94, 2003.
- BLEAU, G.; LEMARRE, J.; FAUCHER, G.; ROBERTS, K. D.; CHAPDELAIN, A. Semen selenium and human fertility. **Fertility and Sterility**, v. 42, n. 6, p. 890-894, 1984.
- IWANIER, K.; ZACHARA, B. A. Selenium supplementation enhances the element concentration in blood and seminal fluid but does not change the spermatozoal quality characteristics in subfertile men. **Journal of Andrology**, v. 16, n. 5, p. 441-447, 1995.
- BEHNE, D.; HILMERT, H.; SCHEID, S.; GESSNER, H.; ELGER, W. Evidence for specific selenium target tissues and new biologically important selenoproteins. **Biochim Biophys Acta**, v. 966, n. 1, p. 12-21, 1988.