

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
PROGRAMA MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**Efeito de Diferentes Fontes e Concentrações de Zinco na  
Mistura Mineral Sobre Desempenho e Características Seminais  
de Touros Jovens Criados em Campo**

Alexandra Rocha de Oliveira

CAMPO GRANDE  
MATO GROSSO DO SUL - BRASIL  
MARÇO DE 2006

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
PROGRAMA MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**Efeito de Diferentes Fontes e Concentrações de Zinco na Mistura  
Mineral Sobre Desempenho e Características  
Seminais de Touros Jovens Criados em Campo**

Alexandra Rocha de Oliveira

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria da Graça Morais

Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do  
título de Mestre em Ciência Animal. Área de  
concentração: Produção Animal

CAMPO GRANDE  
MATO GROSSO DO SUL - BRASIL  
2006

*“Você se aflige, você aprende  
Você se sufoca, você aprende  
Você ri, você aprende  
Você escolhe, você aprende  
Você reza, você aprende  
Você pergunta, você aprende  
Você vive, você aprende”  
(You learn, Alanis Morissette)*

A meus pais, à minha orientadora e à minha co-orientadora, de todo o meu coração.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder a maravilhosa oportunidade de aprimorar meus conhecimentos.

A meus pais, Márcia Paula Rocha de Oliveira e Carlos Augusto de Oliveira pelo apoio e amor incondicionais.

A Dr<sup>a</sup>. Maria da Graça Moraes, por me orientar e guiar meus passos, especialmente na parte final deste trabalho, por sinal a mais difícil.

A Dr<sup>a</sup>. Sheila da Silva Moraes, meio mãe, meio orientadora, mas principalmente amiga, por despertar em mim o amor pela pesquisa.

Ao Dr. Carlos Eurico Fernandes, pela imensa ajuda na parte de andrologia do experimento. Tanto no mangueiro quanto no laboratório, trabalhar com você foi divertido e produtivo.

Ao Dr. Urbano Gomes Pinto de Abreu, pela paciência na análise estatística do experimento.

A querida Marilete, secretária do Mestrado em Ciência Animal, pela dedicação e paciência com todos nós.

A FUNDECT, pelo apoio financeiro.

Aos funcionários da Embrapa Gado de Corte, pela acolhida.

A todos os campeiros, pela amizade, pela ajuda com os animais, pela descontração no mangueiro e por agüentarem minhas oscilações de humor.

Aos laboratoristas Ari da Silva Charão, José Gomes de Almeida e Sandra Ratier, pela amizade e ajuda com as análises.

A Mariana de Aragão Pereira, pesquisadora e amiga de vários anos, por me “arrastar” para Campo Grande. Graças a você moro no estado onde há tempos queria morar.

Aos pesquisadores Ademir Hugo Zimmer, Alberto Gomes e Ivo Cezar por me acolherem também fora da Embrapa. Vocês são como pais pra mim.

Aos pesquisadores Luiz Roberto Lopes de S’Thiago, Maria Luiza Nicodemo e Sérgio Raposo de Medeiros por aumentarem meus conhecimentos na área de Nutrição Animal, e a Cléber Oliveira Soares, Pedro Paulo Pires, Thais Basso Amaral e Wilson Werner Koller, pelos ricos ensinamentos em áreas diferentes da minha.

As biólogas Bruna Oliveira e Larissa Fabris, mais do que estagiárias, amigas e companheiras de jornada. Este trabalho também pertence a vocês!

A médica veterinária Paula Miranda, amiga que se desdobrou no início do experimento para ajudar. Uma pena seus horários não permitirem você participar até o fim.

A zootecnista e amiga de longa data Camila Celeste, por me incentivar a fazer mestrado e me ajudar nos estudos para a seleção.

Aos colegas do curso de mestrado em Ciência Animal, pela união nos momentos em que ela foi necessária e pela descontração nas aulas.

Aos amigos Ana Paula Siviero Leite, Gelson Difante, Karina Ferreira, Luis Amadeu Vendrame Cardoso, Marcela Silva Nascimento, Marcelo Fontes Pereira, Paulo Felipe Iziq Goiozo e Raquel Cadena, pelo incentivo e por tornarem minha vida mais leve e divertidíssima. Meu coração é de vocês, para sempre.

E por último, mas não menos importante, aos animais utilizados no experimento: “*Animal experimental: sob o nosso controle, ele cresce, depende e confia. Respeito haja, enquanto vivo, pois não será em vão seu sacrifício*” (Ivan Barbosa Machado Sampaio).

**SUMÁRIO**

“Página”

CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	01
Referências Bibliográficas.....	06
ARTIGO: EFEITO DE DIFERENTES FONTES E CONCENTRAÇÕES DE ZINCO NA MISTURA MINERAL SOBRE DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS SEMINAIS DE TOUROS JOVENS CRIADOS EM CAMPO.....	09
Resumo.....	09
Abstract.....	10
Introdução.....	11
Material e Métodos.....	13
Resultados e Discussão.....	16
Conclusões.....	30
Agradecimentos.....	30
Literatura Citada.....	31
Anexo 1.....	32

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Nos tempos atuais, a exploração da bovinocultura de corte impõe maior produtividade, com altas taxas de ganho de peso e precocidade, conseqüentemente as exigências nutricionais são maiores. Assim, evidenciam-se doenças de caráter imune como as papilomatoses, a dermatofiloses, que podem estar, em muitos casos, diretamente ligadas ao estresse, como também a concentrações inadequadas de zinco na dieta (Moraes et al., 2002). No entanto, em bovinos adultos a condição subclínica é mais comum: os sintomas evidentes são raros e com freqüência passam despercebidos ou acompanham a deficiência de outros minerais. O que traz conseqüências sobre a reprodução e o crescimento, indicando que o zinco pode ser um nutriente limitante na pecuária (Graham, 1991).

Estudos feitos nas três últimas décadas do século passado em bovinos de corte mantidos a campo no Brasil, não identificaram sintomas clínicos da deficiência de zinco. Entretanto, estudos realizados por Sousa et al. (1983, 1986) encontraram concentrações médias de zinco deficientes em *Brachiaria decumbens*, tanto no período de chuvas como de seca, 4,79 mg/kg e 4,59 mg/kg, respectivamente. O NRC (1984) preconiza necessidades de 20 a 40 mg/kg de zinco na dieta, para gado de corte.

O zinco é um mineral essencial para o organismo animal e participa de um grande número de processos metabólicos (Mills, 1987). É uma espécie atômica pequena e se comporta quimicamente como um ácido de Lewis, o que determina a sua passagem pelas membranas biológicas tanto por mecanismos de difusão passiva quanto por transporte ativo. O metal é absorvido no intestino delgado, sendo transferido do lúmen intestinal para o interior do enterócito ultrapassando a borda em escova e daí para a circulação sanguínea, em um processo envolvendo transporte paracelular e transporte mediado por carreadores (Salgueiro et al., 2000).

Segundo Tapiero & Tew (2003), o zinco é necessário para quase 300 enzimas funcionarem adequadamente. Dentre estas estão: anidrase carbônica, Cu-Zn superóxido dismutase, carboxipeptidase A e B e fosfatase alcalina, sendo que a última tem sua função reduzida quando o nível de zinco na dieta é baixo (Fürl et al. 1981).

A presença de quantidades consideráveis de zinco no tecido ósseo sugere que o microelemento possui um importante papel no desenvolvimento do esqueleto, incluindo a replicação e a diferenciação de condrócitos, osteoblastos e fibroblastos (Brandão Neto et al., 1995), assim como na síntese de colágeno no osso (Madrid et al., 1976; Stacher et al., 1980). A recuperação de fraturas em animais deficientes é comprometida e quando são administradas doses fisiológicas de zinco a rápida calcificação e recuperação são favorecidas (Yamagushi et al., 1982). Uma dose suplementar de Zn, sob forma de sulfato, acelera sensivelmente a cura de ferimentos em

animais que não exibem outra manifestação clínica da deficiência de zinco (Wacker, 1978; Mills, 1987).

O microelemento desempenha importante papel em vários estádios da síntese protéica, bem como no metabolismo de carboidratos, lipídios e dos ácidos nucléicos DNA e RNA. A duplicação de genes e a multiplicação celular requerem a presença do zinco na DNA-polimerase, como também na síntese de RNA-mensageiro (Vallee & Falchuk, 1981).

Além de ter papel catalítico, co-catalítico e/ou estrutural na conformação das proteínas, ele mantém a integridade dos processos metabólicos que permitem uma boa utilização dos alimentos (Brandão Neto et al., 1995). Segundo Graham (1991), a estabilização das membranas celulares e a estrutura e/ou função de RNA e DNA parecem depender de zinco, além de este exercer um papel regulador em diversos sistemas hormonais. A maioria dos hormônios anabólicos e catabólicos envolvidos nos processos de crescimento tem uma forte relação com o zinco (Brandão Neto et al., 1995).

O zinco pode influenciar os hormônios de um organismo em diversos níveis, incluindo a síntese hormonal, a secreção e a atividade periférica (Henkin, 1976). O crescimento linear não depende exclusivamente da ação do hormônio de crescimento (GH), mas outros hormônios estão também envolvidos no mecanismo de proliferação e maturação da epífise óssea. O GH é sintetizado e secretado pela hipófise. As concentrações hipotalâmicas e hipofisárias de zinco são bastante altas (Millar et al., 1961; LaBella et al., 1973). A relação entre o zinco, o GH e o crescimento do animal sustenta a idéia de que o microelemento possa estar diretamente envolvido na síntese e na ação do GH. A somatomedina-C (SM-C) é um hormônio também chamado de fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) que atua como um intermediário na ação do GH na proliferação da cartilagem e conseqüentemente no crescimento linear do esqueleto (Daughaday et al., 1972). Cossack (1986) verificou que existe uma alta correlação entre a atividade da SM-C, o ganho de peso e o aumento da concentração de zinco na tíbia de camundongos.

Por estar intimamente ligado à síntese protéica e aos hormônios em si, o micromineral é extremamente importante na fase de crescimento dos animais e se torna imprescindível no desenvolvimento da puberdade, especialmente em machos. As gônadas são os tecidos que mais rapidamente crescem no organismo, e as enzimas vitais envolvidas nas sínteses de ácidos nucléicos e de proteínas são metaloenzimas zinco-dependentes (Prasad & Oberleas, 1973; Slater et al., 1971). Além disso,

No macho, a deficiência de zinco no período púbere pode deprimir a produção de andrógenos (Habib, 1978) e está ligada ao atraso no crescimento testicular com atrofia do epitélio tubular, além

de prejudicar a produção do hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH), testosterona e inibir a espermatogênese (Hidiroglou e Knipfel, 1984; Salgueiro et al., 2000).

Sinais clínicos da deficiência de Zn em animais sob pastejo não são muito evidentes (Tokarnia et al., 1988), mas, em ruminantes, trabalhos isolados sobre suplementação de zinco têm demonstrado que ocorre melhoria sob todos os aspectos na saúde animal e na capacidade reprodutiva (Graham et al., 1994; Brazle, 1994).

Sob esse ponto de vista, é importante salientar que bovinos criados sob pastejo necessitam de suplementação mineral adequada para um desempenho geral satisfatório, uma vez que alguns minerais mostram-se sazonais em função da variação na qualidade dos pastos ao longo das estações, sujeitando os animais a algum tipo de deficiência subclínica. Para se ter uma idéia, análises de forrageiras nativas e cultivadas nos cerrados brasileiros, realizadas pela Embrapa Gado de Corte, demonstraram que 90% das amostras apresentaram teores de zinco bem abaixo do nível considerado mínimo (20 mg/Kg/dia) para o desempenho animal satisfatório (Moraes, 2001).

Só a presença de um mineral na forrageira ou na mistura mineral não garante a absorção dele pelo organismo animal. Na avaliação dos alimentos e suplementos devem-se considerar a concentração e a biodisponibilidade do elemento. Biodisponibilidade pode ser considerada como a medida da habilidade de um suplemento sustentar os processos biológicos nos animais (McGillirray, 1978). A biodisponibilidade de um nutriente é um termo relativo, sempre se referindo ao valor de outro produto usado como padrão (Rosa, 1985).

Estudos recentes têm desenvolvido compostos orgânicos semelhantes àquelas moléculas transportadoras de minerais no organismo animal (metalotioneína, ferritina, ceruloplasmina e outras) de maneira a garantir sua eficiência em suprir deficiências. São os minerais quelatados, ou quelatos.

São denominados quelatos compostos formados por íons metálicos seqüestrados por aminoácidos, peptídeos ou complexos polissacarídeos que proporcionam a esses íons alta disponibilidade biológica, alta estabilidade e solubilidade. A palavra “quelatos” vem do grego “*chele*” que significa “*garra*”, um termo adequado para descrever a maneira na qual os íons metálicos polivalentes são ligados a compostos orgânicos ou sintéticos (Mellor, 1964).

A biodisponibilidade do metal na forma quelatada é dependente de três condições básicas na estrutura do composto:

a) Forma de ligação com o metal – Nos quelatos formados com dois ou três aminoácidos, o íon metálico fica inerte na molécula, entrando com facilidade nas vias metabólicas, pois assume a característica da molécula orgânica.

b) Do peso molecular da forma quelatada – O baixo peso molecular é a chave para a absorção como uma molécula intacta. Se o peso molecular de um quelato for maior do que 800 dáltons, certamente sofrerá prévia hidrólise no lúmen do trato digestivo e a absorção pela mucosa não será garantida (AAFCO, 1997).

c) Da constante de estabilização do quelato – Constante de estabilização é um número logarítmico que indica a firmeza com que o íon metálico está ligado à molécula orgânica. Se um quelato de aminoácido é estabilizado por um processo tampão específico, sua constante de estabilização é modificada de maneira que resista às diferentes variações de pH do trato digestivo. Quando somente um aminoácido é usado para quelatar um íon metálico, a estrutura quelante não é tão forte como aquela formada por dois ou três aminoácidos. Dois aminoácidos quelantes fornecem quatro ligações (três aminoácidos promovem seis) para um simples átomo de metal. A combinação de ligações forma ângulos que projetam a forma tetraédrica, que é um obstáculo para a competição eletrofílica das moléculas ou átomos que poderiam dissolver a ligação quelante. Assim, os quelatos devem ser constituídos de dois ou três anéis de aminoácidos quelantes para serem estáveis. Se a constante de estabilização dos aminoácidos é grande, estes irão resistir à ação de peptidases que quebram as ligações peptídicas internas, não liberando o átomo de metal da molécula (Ashmead, 1993).

Muitos trabalhos vêm sendo realizados no intuito de demonstrar as diferenças entre a absorção de elementos minerais quelatados e a absorção de minerais inorgânicos nos animais. Alguns trabalhos “in vivo” têm demonstrado que minerais sob a forma de sais inorgânicos são geralmente ionizados no estômago e absorvidos no duodeno, onde o pH ácido determina a solubilidade. Eles então se ligam a proteínas e são incorporados pela membrana das células da mucosa intestinal (Ashmead, 1993). O transporte para o interior das células é feito por difusão passiva ou pelo transporte ativo, e sob essas condições é que podem ocorrer perdas pela reação com compostos como, por exemplo, colóides insolúveis (Herrick, 1993). Essas perdas ainda podem ocorrer no processo de competição pelos sítios de absorção entre os elementos minerais, com interações antagônicas que inibem a absorção.

O elemento mineral, quando quelatado, é quimicamente inerte por causa da forma de ligação na molécula, não sendo então afetado pelos diferentes ânions, como acontece com os íons metálicos livres. Os minerais quelatados são absorvidos no jejuno, atravessam as células da mucosa e passam diretamente para o plasma. A separação do aminoácido quelante se dá no local onde o elemento mineral metálico é utilizado (Ashmead, 1993).

No caso do zinco, o acetato de zinco, cloreto de zinco e sulfato de zinco têm sido utilizados como padrões em pesquisas de biodisponibilidade, e todas as três formas do elemento são bem

absorvidas pelos animais. Outras formas de zinco, com exceção do carbonato de zinco e do óxido de zinco, parecem ser iguais, em biodisponibilidade, às fontes utilizadas como padrão. Para o zinco na forma orgânica, a forma mais utilizada é o complexo metal-aminoácido, produto resultante da complexação de um sal solúvel do metal com um aminoácido, como a zinco-metionina e a zinco lisina, por exemplo.

O NRC (1996) preconiza quantidades de zinco de 30 mg/Kg/dia como sendo ideais para o crescimento e o desenvolvimento dos bovinos de corte. No entanto, McDowel (1996), relatou que as exigências mínimas de zinco para a espermatogênese e desenvolvimento testicular de carneiros são maiores do que para o crescimento destes animais, mostrando que critérios de adequação devem ser levados em conta ao se suplementar, prestando-se a devida atenção quanto às diferentes categorias e aos níveis de produção desejados.

Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes fontes e concentrações de zinco na dieta de tourinhos Nelore criados em pasto sobre desempenho e características seminais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHMEAD, H., DeWAYNE. Comparative Intestinal Absorption and Subsequent Metabolism of Metal Amino Acid Chelates and Inorganic Metal Salts. *The roles of Amino Acid Chelates in Animal Nutrition*. New Jersey, p.47-75, 1993
- ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIAL (AAFCO). *Official Publication*. Atlanta, 1997.
- BRANDÃO NETO J.; STEFAN V.; MENDONÇA B.B.; BLOISE W.; CASTRO A.V.B. The essencial role of zinc in growth. *Nutrition Research*, Terrytown, v. 15, n. 3, p. 335-358, 1995.
- BRAZLE, F.K. The effect of zinc methionine in mineral misture on gain and incidence of footrot in steers grazing native grass pastures. *The Professional Animal Scientist*, v.10, p.169-171, 1994.
- COSSACK, Z.T. Somatomedin-C and zinc status in rats as affected by Zn, protein and food intake. *British Journal of Nutrition*, London, v. 56, p. 163-169, 1986.
- DAUGHADAY, W. H.; HALL, K.; RABENS, M. S.; SALMON, W.D., BRANDE, J.L. van den, VAN WYK, J. J. van Somatomedin: proposed dignation for sulfation factor. *Nature*, London, v. 235, p.107, 1972.
- FÜRL, M.; GARLT, C.; LIPPMAN, R. Klinische Labordiagnostik. *Leipzig: Hirzel Verlag*, 1981. p.147.
- GRAHAM, T. W. Trace element deficiencies in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, Philadelphia, v.7, p. 153-215, 1991.
- GRAHAM, T.W. Serum zinc and copper concentrations in relation to spontaneos. abortion in cow: implications for human fetal loss. *Journal of Reproduction and Fertility*, n.102, p.253-262, 1994.
- HABIB, F. K. Zinc and the steroid endocrinology of the human prostate. *Journal of Steroid Biochemistry*, Elmsford, v.9, p.403-407, 1978.
- HENKIN, R. I. Trace metals in endocrinology. *Medical Clinics of North America*, Philadelphia, v.60, p.779-797, 1976.
- HENRIQUES, G. S.; HIRATA, M. H. e COZZOLINO, S. M. F. Recent aspects of zinc absorption and bioavailability and correlations with physiology of the testicular Angiotensin-Converting Enzyme. *Revista de Nutrição*, v.16, n.3, p.333-345, 2003.
- HERRICK, J. B. Mineral in animal health. In: ASHMEAD, H. D. ED. *The roles of amino acids chelates in animal nutrition*. New Jersey, p.3-9, 1993.
- HIDIROGLOU, M. & KNIPFEL, J.E. Zinc in mammalian sperm: A review. *Journal Dairy Science*, v.67, p.1147-56, 1984.
- LABELLA, F.; DULAR, R.; VIVIAN, S.; QUEEN, G. Pituitary hormone releasing or inhibiting activity of metal ions present in hypothalamic extracts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, New York, v.52, p.786-791, 1973.
- MADRID, F. F.; PRASAD, A. S.; OBERLEAS, D. Zinc in collagen metabolism. *Trace Elements in Human Health and Disease*, v.1, p.257-267, 1976.
- McDOWELL, L. R. Feeding minerals to cattle on pasture. *Animal Feed Science Technology*, Gainesville, v.60, p.249, 1996.

- Mc GILLIRRAY, J. J. Biological availability of phosphorus sources. In: *Annual International Minerals Conference*, Petersburg Beach, 1978.
- MELLOR, D. Historical background and fundamental concepts "of chelation". In: DWYER, F.; MELLOR, D. (Ed.). *Chelating agents and metal chelates*. New York: Academic Press, p.1, 1964.
- MILLAR, M. J.; VINCENT, N. R.; MAWSON, C. A. An autoradiographic study of the distribution of zinc -65 in rat tissue. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, Baltimore, v.9, p.111-116, 1961.
- MILLS, C. F. Biochemical and physiological indicators of mineral status in animals: copper, cobalt and zinc. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.65, p.1702-1711, 1987.
- MORAES, S. S. Avaliação da deficiência sub-clínica de Zinco em vacas de cria e relação com a higidez de seus bezerros. *Comunicado Técnico*, n. 65, 2001, capturado em março de 2005: <http://www.cnpqg.embrapa.br>
- MORAES, S. S.; S. THIAGO, L. R. L.; MACEDO, M. C. M.; TORRES JUNIOR, R. A. A. Dose única de zinco como fator moderador do estresse metabólico no desmame de bovinos de corte. *Comunicado Técnico no. 71*, Embrapa Gado de Corte – MAPA, Campo Grande, MS, novembro, 2002.
- NRC. Nutrient Requirements of Beef Cattle. *National Academy Press*. Washington, D.C., 1996.
- NRC. Nutrient Requirements of Beef Cattle. *National Academy Press*. Washington, D.C., 1984.
- PRASAD, A. S.; OBERLEAS, D. Ribonuclease and deoxyribonuclease activities in zinc deficient tissues. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, Oxford, v. 82, p. 461-466, 1973.
- ROSA, I. V. Técnicas de avaliação de suplementos minerais. *Simpósio sobre Nutrição de Bovinos. Minerais para ruminantes*. Anais. Piracicaba, FEALQ, p.99-112, 1985.
- SALGUEIRO, M.J.; ZUBILLAGA, M.; LYSIONEK, A.; CREMASCHI, G.; GOLDMAN, C.G.; CARO, R.; DE PAOLI, T.; HAGER, A.; WEILL, R.; BOCCIO, J. Zinc status and immune system relationship: a review. *Biological Trace Elements Research*, v.7, n.3, p.193-205, 2000.
- SOUSA, J. C.; GOMES, R. F. C.; REZENDE, A. M.; ROSA, I. V.; CARDOSO, E. G.; GOMES, A.; COSTA, F. P.; OLIVEIRA, A. R.; COELHO NETO, L.; CURVO, J. B. E. Resposta de novilhos anelados à suplementação mineral em pastagem de capim colômbio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.18, n.3, p.311-318, 1983.
- SOUSA, J. C.; GOMES, R. F. C.; VIANNA, J. A. C.; NUNES, V. A.; SCHENCK, J. A. P.; ROSA, I. V.; GUIMARAES, E. D. Suplementação mineral em bovinos com doença periodontal "Cara inchada". 1. Aspectos nutricionais. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.15, n.1, p.1-16, 1986.
- SLATER, J. P.; MILDVAN, A. S.; LOEB, L. A. Zinc in DNA polymerases. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, New York, v.4, p.37-43, 1971.
- STACHER, B. C.; HILL, C. H.; MADARAS, J. G. Effect of zinc in deficiency on bone collagenase and collagen turnover. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.110, p.2095-2102, 1980.
- TAPIERO, H. & TEW, K. D. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomedical Pharmacotherapy*, v.57, n.9, p.399-411, 2003.
- TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; MORAES, S.S. Situação atual e expectativas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.8, n.1/2, p.1-16, 1988.

- VALLEE, B.L.; FALCHUCK, K.H. Zinc and gene expression. In: FOWDEN, L.; GARTON, G.A.; MILLS, C.F. (eds) *Trace element deficiency, metabolic and physiological consequences*. London : The Royal Society, 1981, p.185-198.
- WACKER, W.E.C. Biochemistry of zinc- role in wound healing. In: HAMBIDGE, M.; NICHOLS, B.L. (eds) *Zinc and copper in clinical medicine*, 1978, p15-24
- YAMAGUSHI, M.; MOCHIZUKI, A.; OKADA, S. Stimulatory effect of zinc on bone growth in weanling rats. *Journal of Pharmacobio - Dynamics*, v.5, p.619-626, 1982.

## **Efeito de Diferentes Fontes e Concentrações de Zinco na Mistura Mineral Sobre Desempenho e Características Seminais de Touros Jovens Criados em Campo**

**Alexandra Rocha de Oliveira<sup>1</sup>, Maria da Graça Morais<sup>2</sup>, Sheila da Silva Moraes<sup>3</sup>, Carlos Eurico Fernandes<sup>4</sup>, Luis Carlos Vinhas Ítavo<sup>5</sup>, Urbano Gomes Pinto de Abreu<sup>6</sup>**

**Resumo** - Dezesesseis tourinhos Nelore de aproximadamente 26 meses foram distribuídos em quatro piquetes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e submetidos a quatro diferentes suplementações de zinco na mistura mineral, com se segue: Zn-0 (sem zinco); Zn 30FO (30 mg de Zn orgânico/Kg); Zn 30FI (30 mg de Zn inorgânico/Kg) e Zn 60FI (60 mg de Zn inorgânico/Kg). A fonte inorgânica (FI) de zinco utilizada foi o sulfato de zinco e a orgânica (FO), zinco-lisina-metionina. Consumo da mistura mineral foi medido semanalmente e verificou-se que os animais do Zn-0 consumiram mais do que os animais dos demais tratamentos, diferindo estatisticamente ( $P < 0,05$ ) de Zn-30FO, Zn-30FI e Zn-60FI. A cada quinze dias os animais eram pesados, sangue e sêmen eram coletados e análises andrológicas completas eram realizadas no sêmen. Não foi verificada diferença estatística ( $P > 0,05$ ) entre tratamentos para ganho de peso. Tourinhos do Zn-0 apresentaram espermatozóides com menor motilidade e vigor, além de apresentarem mais chances de ter espermatozóides com defeitos de cabeça, peça intermediária e gota citoplasmática proximal. Os animais suplementados com 60 mg  $ZnSO_4/Kg$  na mistura mineral apresentaram maiores chances de não ter defeitos de cabeça, peça intermediária e gota citoplasmática proximal em seus espermatozóides em relação aos demais tratamentos. As diferentes fontes e concentrações de zinco na mistura mineral de touros jovens não afetaram o desempenho ponderal nas condições experimentais, mas as características seminais, sim.

**Palavras-chave:** crescimento, espermatozóides, sulfato de zinco, zinco-lisina-metionina

1 Zootecnista, Mestranda do Curso de Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, alexandra\_oliveira@yahoo.com.br

2 Professora Orientadora e Coordenadora do Curso de Mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, mgmorais@nin.ufms.br

3 Pesquisadora, Embrapa Gado de Corte, Rodovia BR 262, km 4, Caixa Postal 154, CEP: 79002-970 Campo Grande, MS, sac@cnpqc.embrapa.br

4 Médico Veterinário, Universidade Católica Dom Bosco, Av Tamandaré, 6000, Campo Grande, MS, carlosfernandes@ucdb.br

5 Zootecnista, Mestrado em Desenvolvimento Local, Universidade Católica Dom Bosco, Av Tamandaré, 6000, Campo Grande, MS,

6 Pesquisador Embrapa Pantanal, Rua 21 de Setembro, 1880, Caixa Postal 109, Corumbá, MS, urbano@cpap.embrapa.br

## **Effect of Different Sources and Concentrations of Zinc in the Mineral Mixture on Performance and Seminal Characteristics of Grazing Young Bulls**

**Abstract** - Sixteen young Nellore bulls of approximately 26 months were distributed in four paddocks of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu and submitted to four different supplementations of zinc in the mineral mixture: Zn-0 (without zinc); Zn 30FO (30 mg of organic Zn/Kg); Zn 30FI (30 mg of inorganic Zn/Kg) and Zn 60FI (60 mg of inorganic Zn/Kg). The inorganic source (FI) of zinc was zinc sulfate and the organic (FO), zinc-lysine-methionine. Mineral mixture intake was weekly measured and it was verified that the animals of Zn-0 had higher mineral intake than the animals of other treatments, differing statistically ( $P < 0,05$ ) of Zn-30FO, Zn-30FI and Zn-60FI. Every fifteen days the animals were weighted, blood and semen were collected and complete andrological analyses were done in the semen. No statistical differences were observed ( $P > 0,05$ ) among treatments for weight gain. Bulls of Zn-0 showed spermatozoids with less motility and vigor and higher chances of having spermatozoids with head, middle piece and proximal cytoplasmatic drop defects. Animals supplemented with 60 mg ZnSO<sub>4</sub>/Kg in the mineral mixture showed higher chances of not having head, intermediate piece and proximal cytoplasmatic drop defects in their spermatozoids, compared to the other treatments. Different sources and concentrations of zinc in the mineral mixture of young bulls didn't affect the performance on experimental conditions, but did in the seminal characteristics.

**Key words:** growth, spermatozoids, zinc sulfate, zinc-lysine-methionine

## Introdução

O zinco (Zn) pode ser fornecido aos animais sob as formas inorgânica ou orgânica. As fontes inorgânicas compreendem o metal em si nas formas de carbonato, cloreto, óxido e sulfato de zinco. Para os bovinos, as duas últimas são mais utilizadas, sendo o sulfato de zinco mais frequentemente encontrado nas formulações de misturas minerais no Brasil Central.

Já as fontes orgânicas podem ser fornecidas na forma de quelatos de componentes orgânicos, como aminoácidos, especialmente o complexo zinco-metionina (Zn-Met) e o complexo zinco-lisina (Zn-Lis). Existem evidências de que minerais de fontes orgânicas são mais biodisponíveis do que aqueles de fontes inorgânicas, e que essa melhor biodisponibilidade pode estimular o ganho de peso e a conversão alimentar (Spears, 1996), embora autores como Malcom-Callis et al (2000) e Kessler et al (2002) não tenham observado diferenças entre fontes de zinco para ganho de peso.

O zinco está intimamente envolvido em muitos aspectos da morfologia, fisiologia e bioquímica espermática (Hidiroglou, 1984). O elemento é indispensável na espermatogênese durante o estágio final de maturação dos espermatozóides e também para a manutenção do epitélio germinativo (Underwood, 1969).

A maior parte do Zn é secretada pela próstata e possui ação direta sobre a atividade endócrina tecidual e moduladora da produção de radicais livres no plasma seminal. Aproximadamente 90% do conteúdo de zinco nos espermatozóides está localizado na peça intermediária e na cauda (fibras densas externas) (Henkel et al., 1999). À medida que os espermatozóides progridem no epidídimo, o conteúdo de Zn nas fibras densas externas diminui, permitindo maior oxidação dos feixes mitocondriais possibilitando maior motilidade progressiva (Henkel et al., 2003). Durante a espermiogênese, o Zn liga-se aos grupamentos sulfídricos das cisteínas auxiliando na compactação

e proteção contra oxidação das protaminas, proteínas responsáveis pelo empacotamento do DNA espermático (Denny & Ashworth, 1991).

Apesar da grande importância do zinco no sistema reprodutivo dos machos, poucos estudos têm sido realizados em bovinos em idade reprodutiva, especialmente avaliando formas orgânicas e inorgânicas e níveis crescentes de zinco em touros púberes criados em pasto.

O presente estudo foi conduzido com o intuito de comparar o efeito de duas fontes de zinco (orgânica e inorgânica) em diferentes concentrações sobre desempenho e características seminais de tourinhos criados sob pastejo.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado na fazenda da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, com clima tropical úmido, segundo a classificação de Köppen, com estação chuvosa no verão e seca no inverno. A área experimental era constituída de quatro piquetes em solo classificado como latossolo vermelho mal drenado e de relevo plano.

Foram utilizados dezesseis tourinhos Nelore com idades entre 26 e 28 meses e peso médio de 360 Kg, oriundos de experimento anterior cujas mães foram submetidas aos mesmos tratamentos deste trabalho por um período de quatro anos. Os animais foram distribuídos ao acaso em quatro piquetes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu de aproximadamente 10 ha cada, totalizando quatro animais por piquete. Os piquetes receberam adubação com N-P-K e microelementos (Mo, Cu, B) dois anos antes do experimento. Em cada piquete já se encontravam quatro bezerros provenientes de outro experimento em que também se utilizou os mesmos tratamentos. A duração do período experimental foi de 12 meses, com início em fevereiro de 2003 e término em fevereiro de 2004.

A mistura mineral foi formulada para pasto de médio nível nutricional, produzida na própria fazenda, fornecendo os seguintes níveis suplementação/dia: cálcio=1040 g; fósforo=800 g; sódio=1000 g; cobre=10 mg; cobalto=0,2 mg; iodo=0,5 mg; selênio=0,2 mg. As fontes dos minerais foram o fosfato bicálcico, cloreto de sódio, sulfato de cobre, sulfato de cobalto, iodato de potássio e selenito de sódio. A variação dos níveis de suplementação de zinco foi o que diferiu os tratamentos, como se segue: Zn-0 (sem fonte de zinco), Zn-30FO (30 mg de zinco fonte orgânica), Zn-30FI (30 mg de zinco fonte inorgânica) e Zn-60FI (60 mg de zinco fonte inorgânica). A fonte orgânica de zinco foi o zinco-lisina-metionina e a inorgânica, o sulfato de zinco. As misturas minerais foram oferecidas em cochos cobertos e água foi fornecida *ad libitum* em bebedouro comum aos quatro piquetes.

Três sub-amostras da forrageira de cada piquete foram colhidas manualmente simulando o pastejo, a intervalos de 3 meses utilizando um quadrado de 1m x 1m. As amostras foram pré-secas a 65°C em estufa de ventilação forçada e moídas em peneira de 1 mm de diâmetro para posteriores análises. Análises dos teores dos macroelementos Ca, Mg, P, K e Na e dos microelementos Mn, Zn, Cu e Fe foram feitas em espectrofotômetro de absorção atômica. Por meio de espectrofotometria reflexiva com infravermelho proximal (NIRS) mediram-se os teores de matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO), lignina em ácido sulfúrico (Lig Sul), lignina em permanganato de potássio (Lig Perm), celulose (Cel) e sílica (Sil).

O consumo da mistura mineral foi medido semanalmente pela diferença entre o fornecido e a sobra no cocho. Como haviam duas categorias animais juntas em cada piquete (tourinhos e bezerros), primeiramente calculou-se o número de unidade animal (UA) total, o consumo em função desse total de UA e posteriormente o número de UA de touros, para então se estimar o consumo de gramas de mistura mineral /touro/ dia.

Os animais foram pesados quinzenalmente em balança eletrônica, sempre na parte da manhã e sem jejum e foram feitas colheitas de amostras de sangue e de sêmen.

As amostras de sangue eram colhidas quinzenalmente via jugular, em frascos contendo heparina e logo após centrifugadas a 4.500 r.p.m. por 20 minutos para separação do plasma, armazenadas a -20°C para posteriores análises de Zn em espectrofotômetro de absorção atômica (0,8 seg., comprimento de onda de 213,7 nm).

O sêmen foi colhido por eletro-ejaculação, sendo analisados os seguintes parâmetros: porcentagem (%) de motilidade (MOT) e vigor (VIG) de 0-5 em lâmina e lamínula sob microscopia de campo claro, imediatamente após a colheita. Amostras diluídas em formol-salino tamponado 1% foram analisadas no mesmo dia em microscopia de contraste de fases (preparações úmidas, 1000x) para morfologia espermática. Assim, se determinava o percentual em 100 células/lâmina de

espermatozoides morfológicamente normais, para defeitos de cabeça (piriforme, cratera, subdesenvolvido, micro e macrocefálico e contorno irregular), defeitos de acrossomo (granular, vesiculoso, destacado e dobrado), defeitos de peça intermediária (fraturada, dobrada, hipoplásica, engrossada e desnuda), gota citoplasmática proximal, defeitos de cauda (fortemente dobrada, retro-axial), e cabeças isoladas normais (contorno e forma normais).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. Na análise para consumo de sal e ganho de peso o modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

onde:

$Y_{ij}$  = é a observação  $j$  referente ao tratamento  $i$ ;

$\mu$  = é a constante geral;

$T_i$  = é o efeito do tratamento  $i$ ,  $i = 1, \dots, 4$ ;

$e_{ij}$  = é o erro aleatório associado a cada observação  $Y_{ij}$ .

As variáveis estudadas foram avaliadas por meio de análise de variância, utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - SAEG (UFV, 1997). Para comparar as médias das variáveis, e verificar o efeito da suplementação, utilizou-se o teste Tukey em nível de 5%.

Para as variáveis seminais foi utilizado o modelo EEG (Estimação de Equações Generalizadas), uma extensão do modelo linear generalizado que permite modelar a covariância entre as medidas categóricas repetidas no tempo (Hardin and Hilbe, 2003).

## Resultados e Discussão

Os teores médios de macro e microminerais, e a composição químico-bromatológica dos piquetes de *Brachiaria brizantha* nos períodos seco (de abril a setembro) e chuvoso (de outubro a fevereiro) são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição mineral e teores de matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO), lignina insolúvel em ácido sulfúrico (Lig Sul), lignina insolúvel em permanganato de potássio (LigPerm), celulose (Cel), sílica (Sil) dos piquetes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu nos períodos seco e chuvoso durante o experimento (%MS)

Avaliação	Tratamento ( <i>Treatment</i> )							
	Zn-0		Zn-30FO		Zn-30FI		Zn-60FI	
	seco	chuvoso	seco	chuvoso	seco	chuvoso	seco	chuvoso
Ca (g/Kg)	0,57	0,56	0,57	0,47	0,67	0,67	0,68	0,51
Mg (g/Kg)	0,53	0,65	0,5	0,54	0,59	0,65	0,63	0,65
P (g/Kg)	0,15	0,16	0,18	0,17	0,16	0,16	0,16	0,16
K (g/Kg)	0,77	0,83	1,08	0,84	0,82	0,77	0,8	0,77
Na (mg/Kg)	45,93	39,36	43,14	33,88	60,36	28,98	55,7	32,69
Fe (mg/Kg)	537,28	378,99	599,02	1063,78	583,42	833,15	501,58	386,86
Mn (mg/Kg)	130,46	120,3	128,2	120,03	163,72	183,88	181,34	125,6
Zn (mg/Kg)	13,64	16,33	12,22	15,55	13,15	18,34	12,85	15,94
Cu (mg/Kg)	4,61	4,59	4,34	5,28	4,1	4,95	4,26	4,72
MO (%)	88,4	89,47	88,17	89,39	88,52	89,63	88,31	89,3
PB (%)	6,79	7,69	6,45	7,92	6,41	7,99	6,85	7,91
FDN (%)	70,55	69,76	71,92	69,64	72,02	68,8	70,76	69,66
FDA (%)	36,71	36,55	36,44	35,01	37,34	35,09	36,78	35,62
DIVMO (%)	52,21	54,24	51,37	55,45	50,48	54,76	50,84	55,51
Lig Sul (%)	2,99	2,62	2,53	2,49	2,89	2,37	3,08	2,41
Lig Perm (%)	8,19	7,78	8,62	7,4	8,34	7,53	7,89	7,54
Cel	22,93	23,56	22,07	22,75	22,95	22,95	23,07	22,71
Sil	6,07	6,16	6,55	6,2	6,13	5,86	6,17	6,43

Em relação às exigências nutricionais (NRC, 1996) para a categoria animal em estudo, os resultados foram baixos somente para o sódio (Na) nos piquetes, tanto no período seco quanto no chuvoso. Os altos teores de ferro (Fe) e manganês (Mn) refletem a acidez característica dos solos de cerrado. Os teores de Zn variaram de 12,22 mg/kg a 18,34 mg/kg, em média, quantidades que não suprem a recomendação do NRC (1996), que é de 30 mg/kg. O valor nutritivo da forrageira foi ligeiramente superior no período chuvoso do que no seco, devido a maiores valores de PB e DIVMO e menores valores de FDN, FDA, Lig Sulf, Lig Perm e Sil. A pequena diferença observada

entre valores das épocas seca e chuvosa foi devida ao tipo de amostragem obtida por simulação de pastejo, a qual inclui as partes da forrageira selecionadas pelos animais (folhas e hastes verdes). Esses valores são capazes de proporcionar ganhos caso ocorra rendimento de matéria seca da pastagem (disponibilidade de pasto) e taxa de lotação adequada para permitir que os animais tenham chance de seleção.

Verifica-se na Figura 1 que os teores de zinco apresentam variação sazonal, com valores mais elevados no período chuvoso do que no seco, possivelmente em decorrência de maior produção de folhas nesta época.

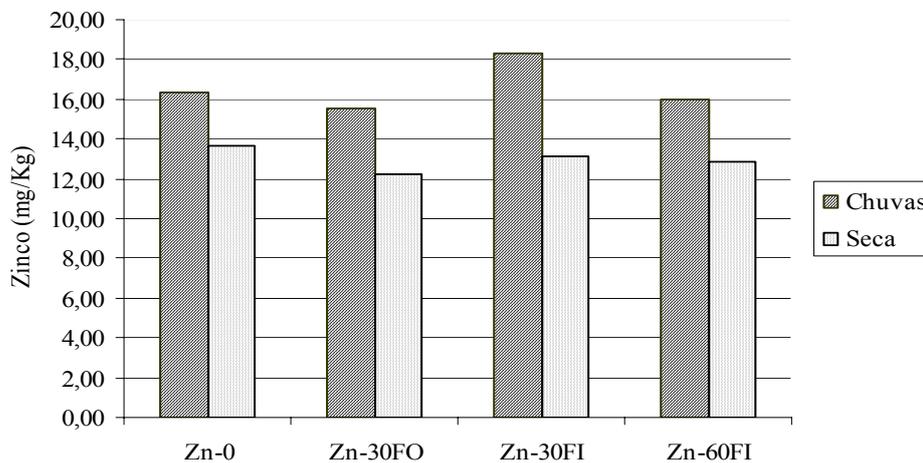


Figura 1. Teores de zinco em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no período experimental

Os resultados encontrados sugerem a possibilidade de se formular misturas minerais com teores diferenciados de zinco, de acordo com a época do ano, como já é feito com o cálcio e o fósforo.

Foi detectada diferença estatística entre tratamentos para o consumo de mistura mineral (Tabela 2).

Tabela 2. Médias de consumo de mistura mineral de tourinhos Nelore recebendo diferentes fontes e concentrações de Zn

Tratamento	Média Consumo (g)
Zn-0	107,54 ± 12,68 a
Zn-30FO	83,09 ± 7,07 ab
Zn-30FI	80,99 ± 9,31 ab
Zn-60FI	73,08 ± 10,90 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha=5\%$ )

O consumo do Zn-0 foi significativamente maior ( $P<0,05$ ) do que o do Zn-30FO, Zn-30FI e Zn-60FI. Não houve diferença significativa entre o consumo da fonte orgânica e da inorgânica com 30 mg de Zn /Kg. Os animais do Zn-60FI foram os que menos consumiram mistura mineral.

Não foram encontradas informações na literatura que relacionassem fontes e teores de zinco ao consumo de mistura mineral para bovinos sob pastejo. O maior consumo verificado para os animais do tratamento Zn-0 pode estar relacionado a uma busca, em nível fisiológico, pelo mineral que está faltando. Considerando a boa disponibilidade de cálcio e fósforo na suplementação, uma relativa qualidade de proteína e energia no pasto, mesmo com concentrações subdeficiente de zinco (13,64 mg/Kg e 16,33 mg/Kg nos períodos seco e chuvoso, respectivamente), provavelmente existiu a emergência para os hormônios anabólicos e catabólicos, assim o sistema homeostático buscou o equilíbrio, induzindo o maior consumo da mistura mineral sem zinco para de alguma forma atender a demanda. Da mesma forma, os animais que receberam mais zinco na mistura mineral (Zn-60FI), atenderam mais rapidamente à demanda fisiológica, só que consumindo menos desta mistura. Segundo Underwood (1981), os organismos possuem mecanismos homeostáticos que podem manter a concentração dos microelementos em seus lugares de ação, dentro do estreito limite fisiológico, apesar de excesso ou carência do elemento na dieta.

Com base nos dados de consumo de mistura mineral e nos 2,2% de peso vivo (PV) que se espera de consumo de matéria seca para tourinhos em crescimento, estimou-se o consumo esperado de Zn de cada tratamento nos períodos seco e chuvoso. Para os animais do Zn-0, o consumo total de zinco, proveniente somente da forrageira, foi estimado em 0,12g/dia no período seco e 0,17g/dia no

chuvoso. Para os animais do Zn-30FO, os valores encontrados foram 0,46 e 0,51g/dia, para período seco e chuvoso, respectivamente, e para os animais do Zn-30FI, 0,47 g/dia e 0,59g/dia. Já os animais do Zn-60FI consumiram 0,53 g de Zn/dia no período seco e 0,97 g de Zn/dia no período chuvoso.

A Tabela 3 mostra o peso vivo inicial (PVi), peso vivo final (PVf), ganho de peso (GP) e ganho médio diário (GMD) dos tourinhos no período experimental .

Tabela 3. Peso vivo inicial (PVi), peso vivo final (PVf), ganho de peso (GP) e ganho médio diário (GMD) dos tourinhos no período experimental

	Zn-0	Zn-30FO	Zn-30FI	Zn-60FI
PVi (Kg)	368,50 a	366,50 a	360,50 a	357,00 a
PVf (Kg)	510,00 a	510,00 a	504,25 a	506,50 a
GP (Kg)	141,50 a	143,50 a	143,75 a	149,50 a
GMD (g/d)	396,36 a	401,96 a	402,66 a	418,77 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha=5\%$ )

Não foi encontrada diferença significativa ( $P>0,05$ ) para PVi, PVf, GP e GMD entre os animais não suplementados e suplementados com zinco na mistura mineral, tampouco entre fontes e níveis de suplementação.

O desempenho ponderal dos animais no período experimental é mostrado na Figura 2.

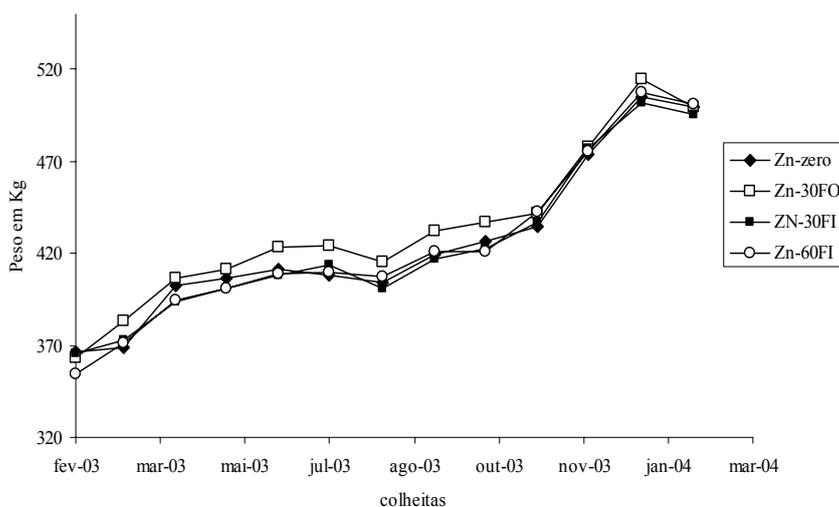


Figura 2. Desempenho ponderal de tourinhos Nelore recebendo diferentes fontes e concentrações de zinco na mistura mineral

Observa-se que durante todo o período experimental os tourinhos ganharam peso, com exceção do intervalo entre os meses de julho de 2003 e agosto de 2003, no qual os animais perderam peso por causa da menor disponibilidade de forrageira ocasionada pela falta de chuva no período. A baixa precipitação pluviométrica ocorrida no mês de janeiro de 2004 (choveu somente nove dias no mês inteiro) diminuiu a disponibilidade de pasto para os animais, refletindo na perda de peso em fevereiro de 2004.

Os animais submetidos aos diferentes tratamentos responderam igualmente em ganho de peso, saindo do experimento em fevereiro de 2004 pesando aproximadamente 500 kg. Os animais submetidos ao tratamento Zn-0 na mistura mineral provavelmente tiveram desempenho semelhante aos dos outros tratamentos, pois, embora as concentrações de zinco na forrageira fossem subdeficientes, não foram inferiores a 50% das exigências nutricionais para ganho de peso e os outros ingredientes que atuam no metabolismo energético estavam adequados. Além disso, os teores de MO e PB da forrageira, que são importantes para esse processo, em função da lotação (que não chegou a 1UA/ha durante todo o experimento) supriram as exigências da categoria. Assim, deduz-se que o zinco consumido da forrageira possivelmente foi eficientemente absorvido e metabolizado pelos animais no sentido de manter a homeostase do elemento na fisiologia do animal através do aumento na absorção e da diminuição das perdas endógenas (Miller et al., 1966, apud Miller, 1969).

Malcom-Callis et al. (2000) não encontraram diferença significativa ( $P > 0,05$ ) ao avaliarem o ganho de peso de novilhos confinados com níveis crescentes (20, 100 ou 200 mg de zinco/Kg) sob a forma de  $ZnSO_4$  na suplementação dos animais. Também não foram encontradas diferenças no ganho de peso quando os autores compararam a utilização de  $ZnSO_4$ , complexo comercial Zn-aminoácido e complexo comercial Zn-polissacarídeo na terminação de novilhas confinadas. Também Kessler et al. (2002) não verificaram diferenças no ganho de peso de touros confinados ao avaliarem o efeito de quatro tratamentos, um com zinco proveniente de fonte inorgânica ( $ZnO$ ), dois com zinco quelatado (Zn-proteinado e Zn-polissacarídeo), além de um tratamento controle sem

zinco. Embora esses autores tenham utilizado categorias animais e condições experimentais diferentes, seus resultados foram semelhantes aos do experimento aqui relatado.

Por outro lado, Spears (1989) comparou o efeito de duas fontes (Zn-Met e ZnO) sobre o ganho de peso de novilhas em crescimento e observou que ao alimentá-las com silagem de grãos de milho que continha 24 mg de Zn/Kg (grupo controle) ou com uma dieta basal suplementada com 25 mgZn/Kg de zinco proveniente de Zn-Met ou de ZnO, o ganho de peso das novilhas-controle e daquelas que receberam o zinco na forma de óxido não diferiram estatisticamente ( $P>0,05$ ), mas as novilhas que receberam Zn-Met tiveram um ganho de peso 8,1% maior do que as do grupo controle num período experimental de 126 dias. Esses resultados diferem dos relatados no presente experimento.

Os teores de Zn no plasma sanguíneo sofreram variações entre os tratamentos durante todo o período experimental (Figura 3).

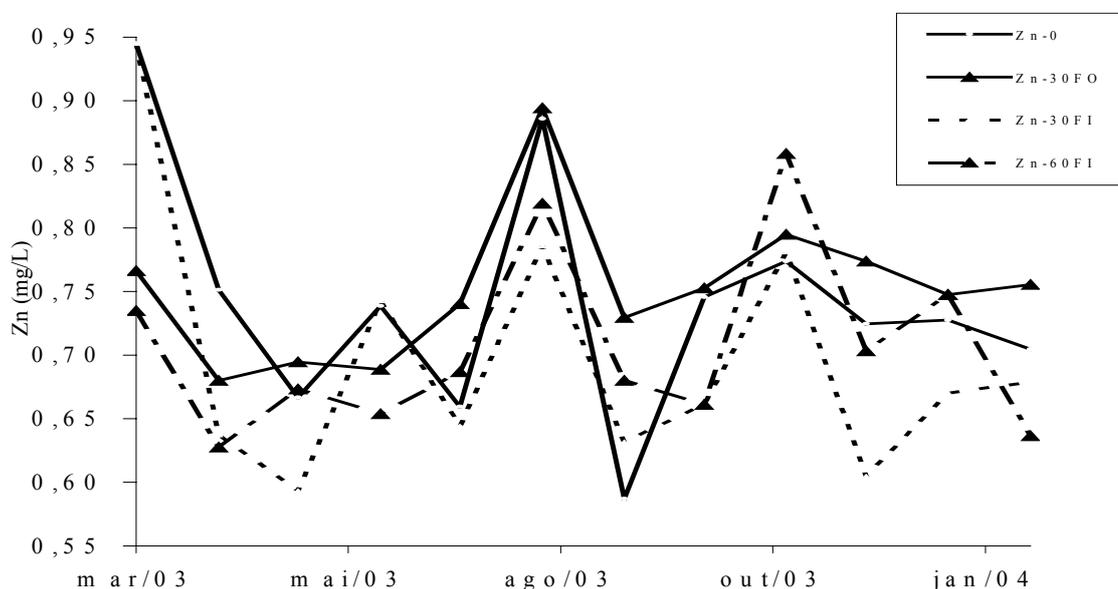


Figura 3. Teores mensais de zinco no plasma sanguíneo de tourinhos Nelore recebendo diferentes fontes e concentrações de zinco na mistura mineral (mg/L)

A menor média encontrada foi de 0,59 mg/L e a maior, de 0,94 mg/L. Segundo Mills et al (1967), no caso de animais criados extensivamente como os deste experimento, existe uma faixa de valores do zinco plasmático, estimada como marginal, de 0,40 a 0,60 mg/L. Como se observa na Figura 3, em todos os tratamentos os teores plasmáticos de zinco estão dentro da normalidade. A detecção da deficiência de zinco é muito difícil. Muitos fatores (infecção, febre, etc), além da deficiência de Zn, afetam os indicadores utilizados, especialmente Zn plasmático, que até o momento é melhor indicativo do status de zinco conhecido, por induzirem o sequestro de Zn pela metalotioneína (proteína específica para transporte plasmático do zinco) para os tecidos (Graham, 1991; O'Dell, 1996; Who, 1996).

Se em todos os tratamentos os níveis plasmáticos de zinco estavam acima de 0,59 mg/L, pode-se concluir que, mesmo os animais sem suplementação (Zn-0) mantiveram níveis plasmáticos dentro da normalidade consumindo somente o zinco da forrageira.

Os resultados dos exames andrológicos são apresentados em anexo (Anexo 1).

A porcentagem de espermatozoides morfolologicamente normais não diferiu significativamente ( $P>0,05$ ) entre tratamentos, como pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4. Análise das variáveis exploratórias, com as estatísticas de Wald para espermatozoides morfolologicamente normais em tourinhos Nelore recebendo diferentes fontes e concentrações de Zn na mistura mineral

Contraste	Qui-quadrado	P>Qui-quadrado
(Zn-0) x (Zn-30FO)	2,15	0,1425
(Zn-0) x (Zn-30FI)	0,67	0,4123
(Zn-0) x (Zn-60FI)	3,01	0,0829
(Zn-30FO) x (Zn-30FI)	0,61	0,4334
(Zn-30FI) x (Zn-60FI)	1,31	0,2515
(Zn-30FO) x (Zn-60FI)	0,73	0,3929

Não foram encontradas diferenças significativas ( $P>0,05$ ) entre tratamentos para os defeitos de acrossomo, cauda e cabeças isoladas normais (Tabela 5).

Tabela 5. Análise das variáveis exploratórias, com as estatísticas de Wald para defeitos de acrosso (ACR), cauda (CAU) e cabeça isolada normal (CIN) em tourinhos Nelore recebendo diferentes fontes e concentrações de Zn na mistura mineral

	Contraste	Qui-quadrado	P>Qui-quadrado
ACR	(Zn-0) x (Zn-30FO)	0,23	0,6322
	(Zn-0) x (Zn-30FI)	0,15	0,7008
	(Zn-0) x (Zn-60FI)	0,19	0,6619
	(Zn-30FO) x (Zn-30FI)	1,15	0,2825
	(Zn-30FI) x (Zn-60FI)	0,00	0,9584
	(Zn-30FO) x (Zn-60FI)	1,44	0,2306
CAU	(Zn-0) x (Zn-30FO)	1,98	0,1592
	(Zn-0) x (Zn-30FI)	0,33	0,5656
	(Zn-0) x (Zn-60FI)	1,92	0,1663
	(Zn-30FO) x (Zn-30FI)	0,55	0,4587
	(Zn-30FI) x (Zn-60FI)	0,53	0,4676
	(Zn-30FO) x (Zn-60FI)	0,00	0,9971
CIN	(Zn-0) x (Zn-30FO)	0,61	0,4336
	(Zn-0) x (Zn-30FI)	0,24	0,6240
	(Zn-0) x (Zn-60FI)	0,07	0,7884
	(Zn-30FO) x (Zn-30FI)	0,06	0,8066
	(Zn-30FI) x (Zn-60FI)	0,12	0,7244
	(Zn-30FO) x (Zn-60FI)	0,59	0,4431

Porém, foram detectadas variações importantes quanto à motilidade e o vigor de espermatozoides dos animais do tratamento Zn-0. Os espermatozoides desse grupo de animais apresentaram menor % de motilidade e menor vigor em relação aos grupos suplementados com diferentes fontes e níveis de zinco (Tabela 6).

Tabela 6. Análise das variáveis exploratórias, com as estatísticas de Wald e razão de chances para motilidade (MOT) e vigor (VIG) espermáticos em tourinhos Nelore recebendo diferentes fontes e concentrações de Zn na mistura mineral

	Contraste	Qui-quadrado	P>Qui-quadrado	Estimativa	Razão de Chances	Erro Padrão
MOT	(Zn-0) x (Zn-30FO)	7,68	0,0056 *	1,43	4,20	0,51
	(Zn-0) x (Zn-30FI)	8,15	0,0043*	1,39	4,03	0,48
	(Zn-0) x (Zn-60FI)	11,14	0,0008*	1,76	5,84	0,52
	(Zn-30FO) x (Zn-30FI)	0,01	0,9131	-0,04	0,95	0,37
	(Zn-30FI) x (Zn-60FI)	0,94	0,3325	0,37	1,44	0,38
	(Zn-30FO) x (Zn-60FI)	0,70	0,4044	0,32	1,38	0,39
VIG	(Zn-0) x (Zn-30FO)	7,30	0,0069 *	1,51	4,56	0,56
	(Zn-0) x (Zn-30FI)	7,48	0,0062 *	1,63	5,11	0,59
	(Zn-0) x (Zn-60FI)	11,39	0,0007 *	1,97	7,19	0,58
	(Zn-30FO) x (Zn-30FI)	0,09	0,7596	0,11	1,12	0,37
	(Zn-30FI) x (Zn-60FI)	0,80	0,3709	0,34	1,40	0,38
	(Zn-30FO) x (Zn-60FI)	2,14	0,1439	0,45	1,57	0,31

\* significativo em nível de 5% de probabilidade

Ao se observar o contraste (Zn-30FO x Zn-30FI), nota-se que não houve diferença significativa entre fontes (orgânica x inorgânica) fornecidas nas mesmas quantidades (30 mg) na motilidade e no vigor dos espermatozoides.

A Tabela 6 mostra, ainda, a razão de chances dos espermatozoides do Zn-0 serem menos móveis e vigorosos que os dos outros tratamentos. Comparando os tratamentos contendo Zn com o ausente no elemento, observa-se, pelas razões de chances, que os espermatozoides que receberam Zn-30FO e Zn-30FI têm 4,20 e 4,03 mais chances de terem maior motilidade do que os do Zn-0, e os do Zn-60FI, 5,84 mais chances de maior motilidade que os do Zn-0. Da mesma forma, observa-se que os espermatozoides do Zn-30FO têm 4,56 mais chances de serem mais vigorosos que os do Zn-0, assim como os do Zn-30FI possuem 5,11 mais chances e os do Zn-60FI, 7,19 vezes de serem mais vigorosos do que o tratamento sem zinco.

Para os defeitos de cabeça, foram encontradas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos Zn-30FI e Zn-60FI, além de diferenças altamente significativas ( $P < 0,01$ ) entre os tratamentos Zn-0 e Zn-60FI, como se observa na Tabela 7.

Tabela 7. Tabela de análise das variáveis exploratórias, com as estatísticas de Wald e estimativas de contraste para defeitos de cabeça (CAB) em tourinhos Nelore recebendo diferentes fontes e concentrações de Zn na mistura mineral

Contraste	Qui-quadrado	P>Qui-quadrado	Estimativa	Razão de Chances	Erro Padrão
(Zn-0) x (Zn-30FO)	1,86	0,1700	0,14	1,15	0,10
(Zn-0) x (Zn-30FI)	0,76	0,3800	0,09	1,10	0,11
(Zn-0) x (Zn-60FI)	72,72	< 0,0001 *	0,33	1,39	0,03
(Zn-30FO) x (Zn-30FI)	0,08	0,7700	-0,04	0,95	0,14
(Zn-30FI) x (Zn-60FI)	4,55	0,0300 *	0,23	1,26	0,11
(Zn-30FO) x (Zn-60FI)	3,58	0,0584	0,19	1,21	0,10

\* significativo em nível de 5% de probabilidade

Para defeitos de cabeça, o tipo de fonte (orgânica x inorgânica) também não influenciou a característica ( $P > 0,05$ ), como pode ser observado no contraste (Zn-30FO x Zn-30FI), mas o aumento da quantidade de zinco fornecido sob a forma inorgânica, sim (Zn-30FI x Zn-60FI). Ao se observar a razão de chances na Tabela 7, nota-se que o Zn-60FI foi mais eficiente que o Zn-0, pois

tem 1,39 vezes menos chances de apresentar defeitos de cabeça em relação ao último. Já entre Zn-60FI e Zn-30FI, o primeiro também é mais eficiente, pois tem 1,26 menos chances de apresentar defeitos de cabeça do que o segundo. Isso evidencia que animais não suplementados com zinco na mistura mineral possuem mais chances de apresentarem defeitos de cabeça nos espermatozóides, do que quando suplementados com níveis mais elevados de zinco (60 mg Zn/Kg de mistura mineral). Também sugere que animais suplementados com 30 mg Zn/Kg de mistura mineral têm mais chances de apresentar defeitos de cabeça nos espermatozóides do que quando suplementados com 60 mg/Kg de zinco de fonte inorgânica.

As análises para defeitos na peça intermediária (PI) dos espermatozóides estão apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8. Análise das variáveis exploratórias, com as estatísticas de Wald e estimativas de contraste para defeitos de peça intermediária (PI) em tourinhos Nelore recebendo diferentes fontes e concentrações de Zn na mistura mineral

Contraste	Qui-quadrado	P>Qui-quadrado	Estimativa	Razão de Chances	Erro Padrão
(Zn-0) x (Zn-30FO)	14,26	0,0002 *	1,08	2,95	0,28
(Zn-0) x (Zn-30FI)	3,43	0,0642	0,53	1,71	0,29
(Zn-0) x (Zn-60FI)	11,66	0,0006 *	0,97	2,65	0,28
(Zn-30FO) x (Zn-30FI)	26,82	< 0,0001 *	-0,54	0,58	0,10
(Zn-30FI) x (Zn-60FI)	18,06	< 0,0001 *	0,43	1,55	0,10
(Zn-30FO) x (Zn-60FI)	1,35	0,2457	-0,10	0,89	0,09

\* significativo em nível de 5% de probabilidade

Só não foram detectadas diferenças ( $P>0,05$ ) entre o não fornecimento de zinco e o fornecimento de 30 mg/Kg (Zn-0 x Zn-30FI) e entre fornecer 30 mg de Zn de fonte orgânica/Kg mistura mineral e 60 mg de Zn de fonte inorgânica/Kg mistura mineral, ou seja, o contraste (Zn-30FO x Zn-60FI).

A razão de chances da Tabela 8 mostra que o tratamento sem zinco tem 2,95 vezes mais chances de apresentar defeitos de PI em relação ao tratamento com 30ppm de zinco na fonte orgânica e que este, por sua vez, tem alguma chance (0,58) de apresentar menos defeitos de PI em relação ao tratamento contendo 60ppm de zinco. O Zn-60FI possui 1,55 vezes menos chance de

apresentar defeitos de PI em relação ao Zn-30FI e, em relação ao Zn-0, as chances são 2,65 vezes menores.

No caso dos defeitos de PI, há indícios que a suplementação com 30mg de Zn orgânico, assim como a suplementação com 60mg de Zn inorgânico, diminui as chances dos animais apresentarem defeitos, comparado com ausência de suplementação do mineral. Embora a chance dos animais suplementados com Zn-30FO não apresentarem defeitos de PI tenha sido pequena (0,58 vezes) em relação aos animais suplementados com Zn-30FI, os resultados mostraram que essa diferença é bastante significativa (Tab 9). Porém, o aumento de zinco do tratamento Zn-60FI também foi eficiente em prevenir o aparecimento de defeitos de PI, com chances de 2,65 vezes e, por ter custo menos elevado que a fonte orgânica pode ser uma boa alternativa de mudança na suplementação.

Para a característica gota citoplasmática proximal (GCP), os resultados da comparação dos contrastes estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Análise das variáveis exploratórias, com as estatísticas de Wald e estimativas de contraste para gota citoplasmática proximal (GCP) em tourinhos Nelore recebendo diferentes fontes e concentrações de Zn na mistura mineral

Contraste	Qui-quadrado	P>Qui-quadrado	Estimativa	Razão de Chances	Erro Padrão
(Zn-0) x (Zn-30FO)	5,42	0,0199 *	1,35	3,86	0,58
(Zn-0) x (Zn-30FI)	6,96	0,0083 *	1,41	4,09	0,53
(Zn-0) x (Zn-60FI)	25,19	<0,0001*	2,35	10,50	0,46
(Zn-30FO) x (Zn-30FI)	0,01	0,9079	0,05	1,05	0,49
(Zn-30FI) x (Zn-60FI)	6,44	0,0112 *	0,94	2,56	0,37
(Zn-30FO) x (Zn-60FI)	5,54	0,0185 *	0,99	2,71	0,42

\* significativo em nível de 5% de probabilidade

Observa-se que houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as comparações dos tratamentos com zinco (Zn-30FO, Zn-30FI e Zn-60FI) e o tratamento sem zinco (Zn-0). Ao comparar o tipo de fonte fornecida a 30 mg Zn/Kg (Zn-30FO x Zn-30FI) não se observou efeito significativo ( $P > 0,05$ ), porém quando o nível de zinco foi elevado de 30mg (Zn-30FI) para 60mg/Kg (Zn-60FI), a diferença foi significativa ( $P < 0,05$ ).

O tratamento Zn-0 se mostrou mais susceptível em apresentar defeitos de GCP, chegando a ter 10,50 vezes mais chances que o Zn-60FI, além de 4,09 mais que o Zn-30FI e 3,86 vezes mais

que o Zn-30FO. Quando se elevou o conteúdo de zinco de 30mg (Zn-30FI) para 60mg/Kg (Zn-60FI) diminuiu-se a chance de apresentar defeito em 2,56 vezes. Esses resultados evidenciam a importância de uma suplementação adicional de zinco para prevenir defeito de GCP nos espermatozóides.

Em estudo conduzido na Universidade da Flórida (Range Cattle, 2002), comparou-se o efeito de três diferentes suplementações de zinco sobre a qualidade do sêmen de 167 touros Angus em um período de 126 dias. Na comparação entre 40 ppm de sulfato de zinco, 40 ppm de uma mistura de sulfato de zinco e zinco-proteinado, e 60 ppm de sulfato de zinco na suplementação mineral, os autores encontraram maior porcentagem de espermatozóides normais nos ejaculados de touros que receberam a mistura das fontes orgânica e inorgânica do mineral, seguida pelo suplemento que possuía 60 ppm de sulfato de zinco. A menor porcentagem de espermatozóides normais foi encontrada nos ejaculados de touros que receberam 40 ppm de sulfato de zinco.

A morfologia da cabeça espermática tem grande importância na fertilização e na liberação do material genético para o ovócito (Foote, 2003) sendo que variações no tamanho, forma da cabeça e conteúdo de DNA estão associados à subfertilidade e infertilidade (Auger & Dadoune, 1993). Uma vez que o zinco esteja relacionado à integridade estrutural do DNA, por prevenir a ação de enzimas degradantes, sua deficiência pode alterá-lo e, assim, reduzir sua capacidade de fertilização.

A baixa motilidade e a maior predominância de defeitos de peça intermediária nos espermatozóides dos animais do Zn-0 confirmam a importância e provável participação do zinco na composição das fibras densas mitocondriais na peça intermediária do espermatozóide bovino, conforme relato previamente descrito no homem (Henkel et al., 1999) e sua essencialidade na regulação da atividade energética desses espermatozóides (Chandler et al., 2000).

Assim, a baixa disponibilidade de Zn na alimentação desses animais evidenciou as observações de Underwood (1969) e Hidiroglou (1984) de que este elemento está intimamente associado à espermiogênese, e que sua ausência aumenta a frequência de defeitos de cabeça,

peça intermediária e gota citoplasmática proximal. A caracterização desse quadro ao longo da puberdade sugere que as alterações do epitélio seminífero sejam de caráter irreversível e, portanto, indicativo de subfertilidade.

Além disso, os níveis de zinco presentes em diferentes segmentos do epidídimo registrados por Henkel et al. (2003) dão indícios de que estes também devam ser considerados no estudo das relações entre zinco e função reprodutiva em touros.

Embora as análises da forrageira tenham mostrado valores de zinco abaixo da recomendação do NRC (1996), os animais que não o receberam a suplementação de zinco conseguiram assegurar os níveis sanguíneos normais provavelmente devido à homeostase e as baixas taxas de lotação que lhes permitiram selecionar mais folhas no pastejo. Isso permitiu que os tourinhos ganhassem peso e mantivessem uma curva de crescimento ascendente em atividades biológicas que exigissem teores de zinco mais baixos. Porém, quando a função reprodutiva, mais exigente no microelemento, foi expressa através das características seminais, os efeitos dos baixos níveis de zinco no tratamento sem suplementação foi evidenciada pela maior frequência de defeitos nos espermatozoides, evidenciando sua importância no sistema reprodutivo de machos.

Já os animais que foram suplementados com zinco na mistura mineral diminuíram as chances de apresentarem defeitos nos espermatozoides, e os melhores resultados obtidos com os animais que receberam 60 mg de Zn/Kg de mistura mineral indicam que uma suplementação adicional de Zn acima das recomendações do NRC (1996) para touros púberes criados em pasto podem garantir sêmen de melhor qualidade.

### **Conclusões**

O zinco na forma quelatada não apresentou vantagens sob o ponto de vista de desempenho e qualidade de sêmen que justifique seu uso.

A suplementação com 60 mg/Kg representa uma garantia para se obter sêmen de melhor qualidade em reprodutores mantidos sob pastejo, contribuindo para a obtenção de bons índices de fertilidade dos rebanhos.

### **Agradecimentos**

À Dr<sup>a</sup>. Maria da Graça Moraes, à Dr<sup>a</sup>. Sheila da Silva Moraes, ao Dr. Carlos Eurico Fernandes, ao Dr. Urbano Gomes Pinto de Abreu, ao Dr. Luis Carlos Vinhas Ítavo, aos campeiros, laboratoristas, funcionários e estagiários da Embrapa Gado de Corte. A FUNDECT, pelo apoio financeiro.

## LITERATURA CITADA

- ASHMEAD, H., DeWAYNE. Comparative Intestinal Absorption and Subsequent Metabolism of Metal Amino Acid Chelates and Inorganic Metal Salts. *The roles of Amino Acid Chelates in Animal Nutrition*. New Jersey, p.47-75, 1993.
- AUGER, J. & DAUDONE, J. P. The nuclear status of human sperm cells by TEM image cytometry: changes in nuclear shape and chromatin texture during spermiogenesis and epididymal transit. *Biology of reproduction*, v.49, p.166-175, 1993.
- CAO, J.; HENRY, P. R.; GUO, R.; HOLWERDA, R. A.; TOTH, J. P.; LITTELL, R. C.; MILES, R. D. and AMMERMAN, C. B. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.78, p. 2039-2054, 2000.
- CHANDLER, J.E., HARRISON, C.M. & CANAL, A. M. Spermatozoal methylene blue reduction: an indicator of mitochondrial function and its correlation with motility. *Theriogenology*, v. 54, p. 261-271. 2000.
- DENNY, P., & ASHWORTH, A. A zinc finger protein-encoding gene expressed in the post-meiotic phase of spermatogenesis. *Gene*, v. 106. p. 221-227. 1991.
- FOOTE, R. Effect of processing and measuring procedures on estimated sizes of bull sperm heads. *Theriogenology*, v.59, p.1765-1773, 2003.
- GRAHAM, T. W. Trace element deficiencies in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, Philadelphia, v. 7, p. 153-215, 1991.
- HARDIN, J. W. and HILBE, J. M. Generalized Estimating Equations. Chapman & Hall / CRC, New York, 2003.
- HENKEL, R., BALDAUF, C. & SCHILL, W-B. Resorption of the element zinc from spermatozoa by the epididymal epithelium. *Reproduction Domestic Animals*, v. 38, p.97-101. 2003.
- HENKEL, R., BITTNER, J., WEBER, R., HÜTHER, F & MISKA, W. Relevance of zinc in human sperm flagella and its relation to motility. *Fertility and Sterility*, v. 71, n. 6. p. 1138-1143. 1999.
- HIDIROGLOU, M and KNIPFEL, J. E. Zinc in mammalian sperm. A review. *Journal of Dairy Science*, n.67, p.1147-1156, 1984.
- KESSLER, J.; MOREL, I.; DUFEY, P.-A.; GUTZWILLER, A.; STERN, A.; GEYER, H. Effect of zinc sources on performance, zinc status and carcass, meat and claw quality in fattening bulls. *Livestock Production Science*, v.81, p. 161-171, 2002.
- MALCOLM-CALLIS, K. J.; DUFF, G. C.; GUNTER, E. B. et al. Effects of supplemental zinc concentration and source on performance, carcass characteristics, and serum values in finishing beef steers. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.78, p. 2801-2808, 2000.
- MILLER, W. J. Absorption, tissue distribution, endogenous excretion and homeostatic control of zinc in ruminants. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Georgia, v.22, n° 10, p. 1323-1331, 1969.
- MILLS, C. F.; DALGARNO, A.C.; WILLIAMS, R.B.; QUARTEMAN, J. Zinc deficiency and the zinc requirements of calves and lambs. *British Journal of Nutrition*, v.21, p.751, 1967.

- MORAES, S. S. Avaliação da deficiência sub-clínica de Zinco em vacas de cria e relação com a higidez de seus bezerros. *Comunicado Técnico*, n.65, agosto de 2001, <<http://www.cnpqc.embrapa.br> (março 2005).
- NRC. Nutrient Requirements of Beef Cattle. *National Academy Press*. Washington, D.C., 1996.
- O'DELL, B.L. Endpoints for determining mineral element requirements; an introduction. *Journal of Nutrition*, v. 126, n.9, p.2342-2344, 1996.
- RANGE CATTLE NEWSLETTER, *University of Florida*, v.5, n.3, p. 4-5, October 2002, <<http://rcrec-ona.ifas.ufl.edu>, (22/09/2004).
- SPEARS, J.W. Organic trace minerals in ruminant nutrition. *Animal Feed Science Technology*, v. 58, p. 151–163, 1996.
- SPEARS, J.W. Zinc methionine for ruminants: relative bioavailability of zinc in lambs and effects on growth and performance of growing heifers. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 67, p. 835–843, 1989.
- UNDERWOOD, E. J. Studies of zinc nutrition in sheep. I. The relation of zinc to growth, testicular development and spermatogenesis in young rams. *Australian Journal of Agricultural Research*, v.20, p.889, 1969.
- UNDERWOOD, E. *The mineral nutrition of livestock*. London: Academic Press, 1981.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. SAEG - *Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas*. Versão 7.1. Viçosa, MG, 1997.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Trace elements in human nutrition and health*. Genebra, 343p. 1996.

Anexo 1. Análises de motilidade (MOT), vigor (VIG), % de espermatozóides morfológicamente normais (NOR) e % de defeitos de cabeça (CAB), peça intermediária (PI), acrossoma (ACR), gota citoplasmática proximal (GCP), cauda (CAU) e cabeça isolada normal (CIN) no sêmen de touros Nelore durante o período experimental.

colheita	trat	touro	Mot %	Vig 0-5	Nor %	Defeitos					
						Cab %	PI %	Acr %	GCP %	Cau %	Cin %
27/02/03	1	2910	30	2	71	11	7	1	0	17	3
27/02/03	1	2917	80	4	44	0	31	0	1	21	2
27/02/03	1	2958	70	3	40	6	12	0	1	41	0
27/02/03	1	2968	70	4	64	1	12	3	0	17	3
27/02/03	2	2948	80	4	30	1	4	4	0	2	59
27/02/03	2	2951	50	3	72	2	6	2	0	12	6
27/02/03	2	3016	70	3	52	4	2	9	0	33	0
27/02/03	2	3017	50	3	32	3	12	3	0	16	34
27/02/03	3	2934	60	3	79	1	3	0	0	14	3
27/02/03	3	2996	60	3	52	0	5	0	0	43	0
27/02/03	3	3005	80	4	63	1	1	15	0	19	1
27/02/03	4	2953	sptz mortos		50	2	1	17	1	29	0
27/02/03	4	2954	70	3	92	1	0	1	0	5	1
27/02/03	4	2978	50	3	44	0	6	3	0	9	38
27/02/03	4	3023	sptz mortos		43	0	17	3	0	29	8
14/03/03	1	2910	10	0	70	1	5	2	4	17	1
14/03/03	1	2917	60	3	20	2	0	0	0	16	62
14/03/03	1	2958	40	2	37	0	5	0	0	54	4
14/03/03	1	2968	50	4	35	2	0	1	0	8	54
14/03/03	2	2948	90	5	78	0	1	0	0	18	3
14/03/03	2	2951	70	4	38	0	9	0	0	37	16
14/03/03	2	3016	80	5	78	1	6	0	0	14	1
14/03/03	2	3017	5	0	62	1	3	2	0	24	4
14/03/03	3	2934	80	5	8	0	0	0	0	1	43
14/03/03	3	2956	70	5	65	1	1	0	0	8	25
14/03/03	3	2996	50	3	32	1	4	0	0	39	24
14/03/03	3	3005	70	4	63	2	11	1	0	16	7
14/03/03	4	2953	80	5	58	0	0	0	0	42	0
14/03/03	4	2954	80	5	79	1	2	2	0	13	3
14/03/03	4	2978	50	3	38	2	0	0	0	19	41
14/03/03	4	3023	30	3	46	0	0	0	0	28	26
27/03/03	1	2910	70	4	78	2	0	0	0	20	0
27/03/03	1	2917	30	2	60	0	4	0	0	35	1
27/03/03	1	2958	50	2	23	1	8	0	0	52	16
27/03/03	1	2968	50	3	23	0	0	0	0	16	61
27/03/03	2	2948	80	5	48	1	3	2	0	30	16
27/03/03	2	2951	90	5	12	0	0	0	0	8	80
27/03/03	2	3016	90	5	68	4	1	0	0	27	0
27/03/03	2	3017	80	4	68	0	0	0	0	32	0
27/03/03	3	2934	80	5	37	0	2	0	0	27	34
27/03/03	3	2996	50	2	60	0	0	0	0	34	6
27/03/03	4	2953	90	5	49	0	2	2	0	29	18
27/03/03	4	2954	70	3	33	0	5	0	0	47	15
27/03/03	4	2978	50	3	51	0	0	0	0	39	10
27/03/03	4	3023	90	5	55	1	2	0	0	38	4
11/04/03	1	2910	50	3	56	7	12	6	6	12	1
11/04/03	1	2917	30	2	58	0	16	1	1	3	16
11/04/03	1	2958	20	2	32	3	26	2	2	0	34
11/04/03	1	2968	60	3	87	4	1	1	1	2	2
11/04/03	2	2948	80	5	84	1	5	0	0	7	3

11/04/03	2	2951	80	5	66	5	5	2	0	12	6
11/04/03	2	3016	80	5	89	4	2	0	0	5	0
11/04/03	2	3017	80	5	80	8	1	4	5	1	0
11/04/03	3	2934	80	5	60	3	13,5	0	0	15	7,5
11/04/03	3	2996	50	3	58	6	3	0	1	30	2
11/04/03	3	3005	50	3	82	4	3	1	0	4	1
11/04/03	4	2953	70	4	65	4	11	3	0	14	4
11/04/03	4	2954	70	4	87	1	0	0	0	10	2
11/04/03	4	2978	50	3	84	6	3	2	1	2	2
11/04/03	4	3023	90	5	31	2	12	1	0	4	50
24/04/03	1	2910	50	3	82	1	5	2	4	5	1
24/04/03	1	2917	50	2	71	0	0	0	0	29	0
24/04/03	1	2958	10	0	39	8	15	1	8	27	1
24/04/03	1	2968	60	3	91	7	0	0	1	1	0
24/04/03	2	2948	50	2	75	1	0	2	0	21	1
24/04/03	2	2951	5	0	94	2	1	0	0	3	0
24/04/03	2	3016	90	5	93	3	0	1	0	3	0
24/04/03	2	3017	10	2	89	4	1	1	1	1	0
24/04/03	3	2934	40	2	92	3	2	0	1	2	0
24/04/03	3	2956	70	3	87	5	1	0	1	6	0
24/04/03	3	2996	80	4	58	5	0	0	1	35	1
24/04/03	3	3005	70	4	87	5	5	0	0	0	1
24/04/03	4	2953	70	4	50	0	0	0	0	39	11
24/04/03	4	2954	80	5	92	6	1	0	0	1	0
24/04/03	4	2978	sptz mortos		96	1	0	0	1	1	1
24/04/03	4	3023	sptz mortos		91	0	1	0	0	8	0
16/05/03	1	2910	90	5	75	10	6	5	3	1	0
16/05/03	1	2917	60	2	63	13	6	0	0	13	2
16/05/03	1	2958	10	2	35	7	25	1	9	18	5
16/05/03	1	2968	50	3	81	4	14	0	0	1	0
16/05/03	2	2948	60	5	84	4	0	1	1	10	0
16/05/03	2	2951	90	5	82	13	0	0	0	4	0
16/05/03	2	3016	80	5	81	9	4	0	0	6	0
16/05/03	2	3017	70	4	49	4	18	2	0	13	13
16/05/03	3	2934	90	5	73	7	13	1	0	5	1
16/05/03	3	2956	80	5	77	5	8	2	0	8	0
16/05/03	3	2996	60	3	47	8	17	0	0	28	0
16/05/03	3	3005	80	5	79	14	5	1	0	1	0
16/05/03	4	2953	0	0	58	4	10	9	0	18	0
16/05/03	4	2954	80	5	88	4	2	0	1	5	0
16/05/03	4	2978	80	5	89	6	4	1	0	0	0
16/05/03	4	3023	5	1	80	4	8	2	0	5	1
30/05/03	1	2910	60	3	78	4	9	5	3	3	0
30/05/03	1	2917	60	2	80	4	8	0	0	7	0
30/05/03	1	2958	40	2	44	7	19	0	3	24	0
30/05/03	1	2968	30	3	53	3	4	0	0	15	25
30/05/03	2	2948	70	3	94	6	0	0	0	0	0
30/05/03	2	2951	80	4	89	6	1	0	0	3	1
30/05/03	2	3016	80	4	83	10	1	2	0	3	0
30/05/03	2	3017	50	3	80	12	2	0	0	4	0
30/05/03	3	2934	70	3	84	11	4	0	0	1	0
30/05/03	3	2956	80	4	85	3	8	0	2	1	1
30/05/03	3	2996	70	4	65	6	7	0	1	21	0
30/05/03	3	3005	80	4	87	2	3	1	0	4	3
30/05/03	4	2953	50	2	65	2	3	1	0	26	3
30/05/03	4	2954	80	4	90	3	1	1	0	5	0
30/05/03	4	2978	80	4	79	3	3	7	0	7	1

30/05/03	4	3023	50	2	77	4	5	0	0	12	2
12/06/03	1	2910	80	4	79	7	7	3	3	1	0
12/06/03	1	2917	60	3	80	4	6	0	0	9	1
12/06/03	1	2958	10	1	35	4	23	0	2	29	7
12/06/03	1	2968	50	3	83	11	3	0	1	2	0
12/06/03	2	2948	30	2	91	7	1	0	0	1	0
12/06/03	2	2951	30	3	85	1	5	2	0	7	0
12/06/03	2	3016	90	5	93	1	3	0	0	3	0
12/06/03	2	3017	10	0	75	4	6	2	1	11	1
12/06/03	3	2934	70	4	94	0	4	0	0	1	1
12/06/03	3	2956	80	4	89	3	1	2	0	4	0
12/06/03	3	2996	40	2	58	3	11	1	2	24	1
12/06/03	3	3005	80	5	86	3	9	2	0	0	0
12/06/03	4	2953	40	2	86	5	2	3	0	2	2
12/06/03	4	2954	90	5	85	1	6	0	0	6	2
12/06/03	4	2978	40	3	91	3	1	2	0	0	3
12/06/03	4	3023	0	0	70	16	5	2	1	6	0
27/06/03	1	2910	50	3	74	5	8	8	0	2	1
27/06/03	1	2917	70	3	77	9	3	0	0	11	0
27/06/03	1	2958	5	0	43	3	6	0	3	43	1
27/06/03	1	2968	90	4	84	7	1	2	1	0	0
27/06/03	2	2948	0	0	72	7	1	6	1	12	2
27/06/03	2	2951	40	3	74	7	10	0	0	6	2
27/06/03	2	3016	80	4	83	5	3	1	0	5	2
27/06/03	2	3017	60	3	57	11	1	10	1	11	9
27/06/03	3	2934	70	3	85	2	2	2	0	8	1
27/06/03	3	2956	80	4	74	4	2	3	0	16	1
27/06/03	3	2996	50	3	57	5	1	2	0	35	0
27/06/03	3	3005	60	3	68	4	4	1	0	22	1
27/06/03	4	2953	60	4	79	7	1	3	0	9	1
27/06/03	4	2954	80	4	81	9	1	3	0	5	0
27/06/03	4	2978	80	4	90	2	0	1	1	6	0
27/06/03	4	3023	50	3	80	4	4	1	0	6	5
11/07/03	1	2910	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11/07/03	1	2917	40	2	75	8	3	3	1	8	1
11/07/03	1	2958	10	0	42	8	14	4	1	31	0
11/07/03	1	2968	70	3	91	7	0	2	0	0	0
11/07/03	2	2948	70	3	86	5	5	0	1	2	1
11/07/03	2	2951	80	4	35	3	0	46	0	15	1
11/07/03	2	3016	90	5	59	3	2	0	0	15	21
11/07/03	2	3017	90	2	84	6	1	1	0	8	0
11/07/03	3	2934	60	3	88	2	0	4	0	3	0
11/07/03	3	2956	80	5	82	10	3	3	0	1	1
11/07/03	3	2996	80	4	46	12	0	0	2	30	0
11/07/03	3	3005	60	3	83	11	4	0	0	2	0
11/07/03	4	2953	80	5	94	2	0	0	0	4	0
11/07/03	4	2954	90	5	85	13	1	1	0	0	0
11/07/03	4	2978	50	3	89	3	1	1	0	5	1
11/07/03	4	3023	90	5	83	3	6	0	0	6	2
25/07/03	1	2910	50	3	87	5	3	1	2	1	1
25/07/03	1	2917	70	3	84	13	2	0	0	1	0
25/07/03	1	2958	sptz	mortos	22	1	3	0	0	43	31
25/07/03	1	2968	60	3	87	5	1	2	0	4	1
25/07/03	2	2948	10	2	70	2	5	1	1	19	3
25/07/03	2	2951	20	2	52	4	2	2	1	24	14
25/07/03	2	3016	80	4	62	1	2	1	0	8	26
25/07/03	2	3017	20	3	51	2	3	4	0	18	22

25/07/03	3	2934	80	4	93	3	2	0	0	2	0
25/07/03	3	2956	80	5	62	1	13	0	0	15	9
25/07/03	3	2996	70	4	11	4	9	0	1	16	59
25/07/03	3	3005	30	3	61	4	5	2	1	24	3
25/07/03	4	2953	80	5	48	2	7	3	0	14	26
25/07/03	4	2954	90	5	60	0	5	0	0	21	14
25/07/03	4	2978	20	2	69	0	0	2	0	3	26
25/07/03	4	3023	80	5	92	3	0	1	1	2	1
28/08/03	1	2910	20	2	58	13	15	9	0	3	2
28/08/03	1	2917	60	3	67	8	12	2	0	11	0
28/08/03	1	2958	spz mortos		25	10	36	2	2	24	1
28/08/03	1	2968	60	3	58	10	4	0	1	20	9
28/08/03	2	2948	40	3	82	4	2	6	2	4	0
28/08/03	2	2951	70	4	86	8	0	1	0	0	0
28/08/03	2	3016	60	3	86	6	3	2	0	2	1
28/08/03	2	3017	50	3	73	4	1	1	5	14	0
28/08/03	3	2934	70	4	49	8	3	2	1	7	12
28/08/03	3	2956	60	3	88	3	4	0	0	2	3
28/08/03	3	2996	50	2	46	12	10	4	5	22	0
28/08/03	3	3005	40	2	78	7	4	4	0	4	2
28/08/03	4	2953	60	3	87	3	0	0	0	9	1
28/08/03	4	2954	60	3	88	1	3	5	0	4	1
28/08/03	4	2978	10	2	78	7	10	2	0	2	1
28/08/03	4	3023	70	4	47	1	15	0	0	10	27
12/09/03	1	2910	50	2	75	7	13	3	0	1	1
12/09/03	1	2917	60	2	61	8	13	2	1	7	7
12/09/03	1	2958	10	2	40	5	31	0	2	20	2
12/09/03	1	2968	70	4	85	9	2	1	0	3	0
12/09/03	2	2948	80	4	96	2	2	0	0	0	0
12/09/03	2	2951	60	3	91	1	1	2	0	4	1
12/09/03	2	3016	80	4	90	4	3	1	0	1	0
12/09/03	2	3017	70	3	81	12	2	1	1	2	0
12/09/03	3	2934	80	4	88	6	1	1	0	2	0
12/09/03	3	2956	80	4	61	2	13	0	0	15	9
12/09/03	3	2996	60	3	47	6	7	1	2	33	3
12/09/03	3	3005	60	3	77	15	5	0	0	3	0
12/09/03	4	2953	60	3	87	7	0	0	0	6	0
12/09/03	4	2954	80	4	83	9	4	2	1	0	1
12/09/03	4	2978	60	3	89	2	7	0	0	2	0
12/09/03	4	3023	60	3	91	2	0	0	0	5	2
29/09/03	1	2910	70	4	40	2	10	2	0	14	32
29/09/03	1	2917	70	3	63	6	19	0	0	8	4
29/09/03	1	2958	20	2	45	5	17	1	1	26	5
29/09/03	1	2968	80	4	93	1	3	1	0	2	0
29/09/03	2	2948	80	4	84	7	2	2	2	2	1
29/09/03	2	2951	70	4	91	2	2	3	0	2	0
29/09/03	2	3016	50	2	85	11	3	0	1	0	0
29/09/03	2	3017	70	4	74	12	1	5	5	0	0
29/09/03	3	2934	80	4	79	3	4	2	0	6	6
29/09/03	3	2956	50	3	82	8	1	1	0	5	3
29/09/03	3	2996	60	3	71	4	13	2	0	9	1
29/09/03	3	3005	60	3	63	9	10	16	0	2	0
29/09/03	4	2953	70	3	52	9	14	2	1	13	9
29/09/03	4	2954	80	4	74	6	9	0	0	7	4
29/09/03	4	2978	60	3	65	2	5	3	0	2	23
29/09/03	4	3023	70	4	88	6	2	1	0	3	0
09/10/03	1	2910	50	3	83	4	3	4	5	1	0

09/10/03	1	2917	70	4	67	12	9	1	2	9	0
09/10/03	1	2958	40	2	13	3	8	0	5	23	43
09/10/03	1	2968	60	3	55	1	0	4	0	4	36
09/10/03	2	2948	60	3	88	4	3	0	1	0	2
09/10/03	2	2951	60	3	93	2	1	1	0	2	1
09/10/03	2	3016	70	3	84	9	3	0	0	0	0
09/10/03	2	3017	70	3	65	3	0	6	1	11	5
09/10/03	3	2934	50	3	50	0	1	1	0	2	42
09/10/03	3	2956	80	4	69	6	3	0	0	2	5
09/10/03	3	2996	80	4	49	2	5	2	1	33	8
09/10/03	3	3005	50	3	62	6	4	2	1	3	1
09/10/03	4	2953	80	4	89	8	1	2	0	0	0
09/10/03	4	2954	70	3	84	3	1	1	0	10	1
09/10/03	4	2978	70	4	95	2	2	1	0	0	0
09/10/03	4	3023	50	3	89	3	4	0	0	1	3
24/10/03	1	2910	70	4	79	2	6	7	2	3	1
24/10/03	1	2917	70	3	83	1	4	0	0	10	2
24/10/03	1	2958	50	2	20	5	24	1	6	27	17
24/10/03	1	2968	80	4	86	6	4	2	0	2	0
24/10/03	2	2948	70	3	92	6	2	0	0	0	0
24/10/03	2	2951	70	4	93	1	3	0	0	3	0
24/10/03	2	3016	70	3	84	11	1	2	2	0	0
24/10/03	2	3017	80	4	88	5	2	1	1	1	0
24/10/03	3	2934	80	4	85	1	7	1	0	5	1
24/10/03	3	2956	80	4	77	12	4	2	2	0	1
24/10/03	3	2996	70	3	63	7	5	1	0	20	4
24/10/03	3	3005	50	3	86	6	4	0	0	3	1
24/10/03	4	2953	80	4	50	1	2	1	0	9	37
24/10/03	4	2954	70	4	85	11	3	0	1	0	0
24/10/03	4	2978	80	4	87	10	2	0	0	1	0
24/10/03	4	3023	70	4	95	1	1	0	0	3	0
17/11/03	1	2910	60	3	63	4	21	3	0	1	7
17/11/03	1	2917	60	3	85	5	2	0	1	6	1
17/11/03	1	2968	60	3	90	4	1	3	1	1	0
17/11/03	2	2948	70	4	89	1	2	2	0	4	2
17/11/03	2	2951	70	3	87	9	2	0	0	1	1
17/11/03	2	3016	60	3	85	6	6	0	0	1	2
17/11/03	2	3017	70	4	81	2	0	1	0	2	0
17/11/03	3	2934	70	4	89	3	4	1	1	0	0
17/11/03	3	2996	60	3	58	6	6	1	0	27	1
17/11/03	3	3005	70	3	87	7	4	1	0	0	0
17/11/03	4	2953	70	3	81	6	4	0	0	6	3
17/11/03	4	2954	70	4	47	2	2	1	0	28	20
17/11/03	4	2978	80	4	87	7	3	0	0	1	2
17/11/03	4	3023	80	4	92	0	0	0	0	5	2
18/12/03	1	2910	80	5	80	4	7	4	2	2	0
18/12/03	1	2917	60	3	83	7	2	0	0	6	2
18/12/03	1	2958	10	0	24	11	13	1	4	41	6
18/12/03	1	2968	80	5	92	4	3	0	0	0	0
18/12/03	2	2948	80	5	86	5	4	0	1	2	0
18/12/03	2	2951	70	4	81	4	5	0	0	5	5
18/12/03	2	3016	90	5	92	7	1	0	0	0	0
18/12/03	2	3017	60	4	75	9	4	0	1	4	2
18/12/03	3	2934	50	4	85	6	3	2	0	0	0
18/12/03	3	2956	80	5	92	4	1	1	0	2	0
18/12/03	3	2996	30	3	35	4	8	1	2	42	8
18/12/03	3	3005	80	5	80	1	3	0	0	0	14

18/12/03	4	2953	90	4	84	6	4	2	0	2	2
18/12/03	4	2954	90	5	95	2	0	0	0	3	0
18/12/03	4	2978	50	3	93	3	2	0	1	1	0
18/12/03	4	3023	80	5	89	4	1	1	1	4	0
14/01/04	1	2910	70	3	71	16	3	8	2	0	0
14/01/04	1	2917	60	3	66	7	8	0	0	10	9
14/01/04	1	2958	30	2	37	5	9	0	7	41	1
14/01/04	1	2968	70	3	87	8	1	2	0	1	1
14/01/04	2	2948	80	4	91	4	2	2	0	0	1
14/01/04	2	2951	60	3	92	2	1	0	0	4	1
14/01/04	2	3016	70	4	88	7	4	0	0	1	0
14/01/04	2	3017	60	3	85	3	2	0	0	1	1
14/01/04	3	2934	70	4	93	3	3	1	0	0	0
14/01/04	3	2956	80	5	82	0	7	0	0	6	5
14/01/04	3	2996	50	3	30	12	6	1	0	43	7
14/01/04	3	3005	70	3	91	5	2	0	0	0	1
14/01/04	4	2953	60	3	86	4	0	6	0	1	3
14/01/04	4	2954	70	4	84	0	1	3	0	7	5
14/01/04	4	2978	80	4	93	2	0	1	1	2	1
14/01/04	4	3023	80	4	84	9	2	0	0	5	0
03/02/04	1	2910	40	3	85	7	1	3	1	3	0
03/02/04	1	2917	70	4	84	6	4	3	0	2	1
03/02/04	1	2958	20	2	41	5	9	2	10	32	0
03/02/04	1	2968	90	5	94	2	2	1	0	1	0
03/02/04	2	2948	90	5	87	4	3	3	0	0	0
03/02/04	2	2951	80	5	80	6	4	6	0	2	2
03/02/04	2	3016	90	5	87	5	3	1	0	1	1
03/02/04	2	3017	90	5	87	4	0	0	0	0	0
03/02/04	3	2934	90	5	91	7	1	0	0	0	0
03/02/04	3	2956	90	5	88	1	1	4	0	4	1
03/02/04	3	2996	50	3	47	2	6	0	0	43	1
03/02/04	3	3005	90	5	93	3	2	2	0	0	0
03/02/04	4	2953	80	5	81	3	6	2	0	7	1
03/02/04	4	2954	90	5	62	3	13	0	0	10	12
03/02/04	4	2978	90	5	85	3	3	9	0	0	0
03/02/04	4	3023	90	5	92	0	0	0	0	8	0
19/02/04	1	2910	40	3	91	2	1	2	0	4	0
19/02/04	1	2917	30	2	88	7	2	1	0	1	1
19/02/04	1	2958	10	3	35	4	19	0	5	37	0
19/02/04	1	2968	90	5	94	2	3	0	0	0	0
19/02/04	2	2948	90	5	85	2	5	0	0	6	2
19/02/04	2	2951	70	4	43	0	5	0	0	28	24
19/02/04	2	3016	70	3	92	4	0	0	0	4	0
19/02/04	2	3017	80	4	85	4	1	0	0	2	0
19/02/04	3	2934	90	5	97	0	2	0	0	1	0
19/02/04	3	2956	70	5	83	8	4	1	0	3	1
19/02/04	3	2996	50	3	46	4	10	0	3	37	0
19/02/04	3	3005	80	5	92	2	6	0	0	0	0
19/02/04	4	2953	90	5	94	3	0	3	0	0	0
19/02/04	4	2954	90	5	72	0	3	0	0	11	14
19/02/04	4	2978	80	5	95	5	0	0	0	0	0
19/02/04	4	3023	70	4	98	3	0	0	0	1	0