

# RELAÇÃO REPRODUÇÃO ANIMAL E OS MINERAIS\*

Camila Pasa<sup>1</sup>

**Resumo** - Nas últimas décadas a revolução tecnológica, derivada de avanços da biologia molecular e da biotecnologia, resultou em benefícios econômicos para os países produtores de animais e melhores condições de preservação da vida para a humanidade. Entretanto, somente o estudo multidisciplinar das características reprodutivas de machos e fêmeas, permitirá o avanço no conhecimento das causas de infertilidade, otimizando as condições experimentais de fertilização “in vitro” e as taxas de concepção. A alimentação exerce influência sobre a reprodução e os nutrientes apresentam mecanismos específicos de atuação sobre a eficiência reprodutiva. Os níveis nutricionais podem afetar o desenvolvimento e a função dos órgãos reprodutivos, além de acarretar alterações do funcionamento do sistema endócrino envolvido com a reprodução. Entretanto, os efeitos da suplementação dos macro e micro minerais sobre os aspectos reprodutivos em bovinos ainda não apresentam consenso na literatura. Alguns autores atribuem a importância de alguns minerais na reprodução por participarem de um sistema antioxidante, protegendo as células do estresse oxidativo, de danos de membrana e DNA. O estresse oxidativo é considerado um dos maiores causadores de disfunção oocitária, além de ser um dos principais fatores associados tanto à perda da qualidade e fertilidade de oócitos e embriões durante sua manipulação e armazenamento e quanto à diminuição do tempo de vida do espermatozóide na fêmea. A biodisponibilidade de um mineral, ou seja, a proporção do elemento presente no alimento, que é absorvida pelo animal e utilizada nas suas funções, depende de vários fatores, incluindo níveis do elemento ingerido, idade e estado nutricional do animal, condições ambientais, pH intestinal, presença de antagonistas e, principalmente, da fonte mineral. O Cobre (Cu), o zinco (Zn) e o selênio (Se) são micro-minerais que atuam no sistema celular antioxidante, melhorando a resposta imunológica, contribuindo para o aumento da resistência às infecções, a manutenção da atividade dos hormônios hipofisário e as sínteses biológicas de degradação oxidativa. Estes nutrientes impedem a ação deletéria de radicais livres, sendo classificados como antioxidantes de prevenção.

Palavras-chave: zinco, cobre, selênio

## Minerals and Animal Reproduction

**Abstract**- In recent decades the technological revolution, derived from advances in molecular biology and biotechnology, has resulted in economic benefits for the countries of animals and better conditions of preservation of life for mankind. However, only the multidisciplinary study of the reproductive characteristics of male and female, will advance knowledge of the causes of infertility by optimizing the experimental conditions of in vitro fertilization and feeding rates concepção. A influence on reproduction and nutrients have specific mechanisms of action on reproductive performance. The nutrient levels may affect the development and function of reproductive organs, and cause changes in the functioning of the endocrine system involved in reproduction. However, the effects of supplementation of macro and micro minerals on the reproductive aspects in cattle have not yet consensus in the literature. Some authors attribute the importance of some minerals in breeding for participating in an antioxidant system protecting cells from oxidative stress, membrane damage and DNA. Oxidative stress refers to cell damage caused by the imbalance between increased production of reactive oxygen species (ROS, Reactive Oxygen Species) and the decrease in antioxidant mechanisms. Oxidative stress is considered one of the biggest causes of dysfunction oocyte, besides being a major factor associated with both the loss of fertility and quality of oocytes and embryos during handling and storage and how to decrease the lifetime of sperm in the female.

The bioavailability of a mineral, ie, the ratio of the element present in food that is absorbed by the animal and used in its tasks depends on several factors, including levels of the element ingested, age and nutritional status of the animal, environmental conditions, pH bowel, presence of antagonists, and especially the mineral source. Copper (Cu), zinc (Zn) and selenium (Se) are minerals that act in the cellular antioxidant system, enhancing the immune response, contributing to increased resistance to infections, maintenance of activity of

<sup>1</sup> Médica Veterinária -Mestre em Ciências Animal-Reprodução Animal- Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – FAMEV- Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT

pituitary hormones and biological synthesis of oxidative degradation. These nutrients prevent the deleterious action of free radicals, and are classified as antioxidants for prevention.

Key words: zinc, copper, selenium

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### Minerais

Os minerais são considerados nutrientes fundamentais por participarem de diversas funções do metabolismo animal, compondo estruturas de biomoléculas, interferindo no crescimento e na manutenção de tecidos, participando como cofatores enzimáticos, ativando ações hormonais, regulando a pressão osmótica e equilíbrio ácido-básico. Estes nutrientes representam apenas cerca de 5% do peso total do corpo, mesmo assim, tem grande influência na produção do animal, acarretando acréscimos ou decréscimos na produtividade do sistema (FILAPPI *et al.*, 2005).

A concentração e as formas de armazenamento dos minerais nos tecidos e fluidos do organismo podem sofrer alterações com a ingestão de dietas deficientes, desbalanceadas ou com excesso de minerais. Em alguns casos as funções fisiológicas são alteradas acarretando lesões e desordens estruturais, as quais variam de acordo com o elemento mineral, grau de duração da deficiência, toxicidade da dieta e fatores intrínsecos dos animais, como idade, sexo e espécie (UNDERWOOD *et al.*, 1999).

Os minerais podem ser classificados de várias formas que levam em consideração seus requerimentos e funções. Os que são necessários em grandes quantidades são denominados macrominerais, enquanto os que são exigidos em menores quantidades são os microminerais ou minerais traços. Os macrominerais são requeridos em quantidades maiores que 100 ppm (partes por milhão) e freqüentemente são mencionados como percentagem da dieta (ou g por kg), enquanto os microminerais são requeridos em quantidades menores que 100 ppm e expressos em ppm ou, muitas vezes, em ppb (partes por bilhão) (MCDOWELL, 2003).

Os microminerais convencionalmente tem sido suplementados nas dietas como sais convencionais. Mais recentemente, a partir do final da década de 1980, tem havido crescente interesse no uso de microminerais quelatados nas dietas de ruminantes (SPEARS, 1996; PEIXOTO *et al.*, 2005).

### Zinco

O zinco desempenha papel fundamental na função reprodutiva das fêmeas. É essencial para todas as fases do processo reprodutivo, desde o estro até o parto e à lactação (SALGUEIRO *et al.*, 1999).

Variadas são as funções biológicas do zinco e das mais de 200 proteínas e enzimas que contém zinco. Algumas dessas enzimas podem ter importância particular na função de tecidos reprodutivos (HAMBIDGE *et al.*, 1986). O zinco também é importante para o desenvolvimento e funcionamento normal do sistema imunológico e a quantidade de zinco necessária para causar toxicidade. A concentração máxima tolerável de zinco no organismo é de 500 mg/kg (SPEARS, 2000).

O zinco é essencial nos processos de crescimento e desenvolvimento, reprodução, imunidade, proteção antioxidante e estabilidade das membranas (SALGUEIRO *et al.*, 1999).

Contudo, poucos trabalhos foram feitos na relação de deficiência de zinco na reprodução da vaca. Um papel no âmbito da reprodução pode envolver zinco como componente essencial ou ativador de enzimas envolvidas na esteroidogênese (HURLEY *et al.*, 1984). Novilhas que foram suplementadas com zinco tiveram maiores taxas de parição (92%) do que novilhas não suplementadas (62%) (PIPER *et al.*, 1982).

Outro ponto a ser considerado é que em algumas regiões do Brasil tem sido encontrados baixos teores de zinco nas pastagens (ABRAÃO *et al.*, 1985). Portanto, devido à sua importância metabólica o zinco deve ser um componente obrigatório nas misturas minerais.

O papel exato do zinco como antioxidante não foi ainda elucidado, mas as evidências indicam ação desse mineral envolvendo vários mecanismos (POWELL, 2000). Esses mecanismos incluem a regulação da expressão de metalotioneína, a atividade da enzima superóxido dismutase (Cu-ZnSOD) e a proteção de grupamentos sulfidril de proteínas de membranas celulares por antagonismo com metais pró-oxidantes como cobre e ferro. A ação antioxidante desse mineral é indireta, uma vez que o íon zinco não é ativo em reações de óxido-redução (KOURY *et al.*, 2003).

O zinco é componente estrutural e catalítico da enzima superóxido dismutase (SOD) presente no citoplasma de todas as células, que possui como centro ativo um íon cobre e um íon zinco (ABRAÃO *et al.*, 1985). Esse mineral também compõe a enzima superóxido dismutase extracelular (EC-SOD), presente no plasma, na linfa e no fluido sinovial (CORDOVA *et al.*, 1995). A ação da SOD é catalisar a conversão de dois radicais íon superóxido a peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular.

Os efeitos da deficiência de zinco na dieta conduzem a uma maior suscetibilidade às infecções, retardo do crescimento e da função reprodutiva, diminuição da tiroxina no plasma do ser humano e animais de experimentação, bem como de alguns animais domésticos (KOURY *et al.*, 2003).

O nível estimado de zinco na dieta é 1000 mg para bovinos adultos, ressaltando que a margem de segurança varia entre o consumo normal e a quantidade tóxica de zinco (ANDRIGUETTO *et al.*, 1990).

### **Relação do Zinco com a fertilidade**

O zinco derivado de fontes quelatadas mostrou-se duas vezes mais biodisponível que o elemento associado a uma fonte não quelatada, e ainda demonstrou uma redução na contagem das

células somáticas e da mastite clínica (CLOSE, 1998). A principal questão seria na comparação entre a forma quelatada e não quelatada, onde se alega que a forma carboquelatada proporcionaria maior disponibilidade do elemento.

Viana *et al.* (2009) verificaram o efeito da suplementação mineral periparto de dietas de bovinos Nelore no desempenho ponderal. O grupo A recebia mistura mineral quelatada (cobre 1.500,0mg, selênio 17,0 mg, zinco 4.500,0mg) grupo B mistura mineral não quelatada e o Grupo C não recebia mistura mineral. Considerando os diferentes suplementos minerais, verificou-se que o peso das novilhas ao nascimento, 60 dias e ao desmame, bem como o ganho de peso corporal durante esse período, foram significativamente ( $p < 0,01$ ) influenciados pelo peso da mãe 30 dias pós-parto. De acordo com os resultados obtidos verificou-se um efeito positivo do peso da vaca ao parto sobre o peso do bezerro ao nascer, aos 30, 60 e 210 dias e no ganho de peso médio do nascimento a desmama, onde o lote de vacas mais pesadas no momento do parto, desmamou bezerros mais pesados.

O zinco é essencial para a síntese do DNA e para o metabolismo dos ácidos nucléicos e proteínas. Deste modo, todos os sistemas do organismo são afetados pela deficiência do mineral, particularmente quando as células estão em acelerado processo de divisão, crescimento ou síntese (TODD *et al.*, 1934). Por estas razões, o crescimento e a reprodução dos animais são as funções mais afetadas pela deficiência dietética de zinco. As alterações observadas no animal com deficiência de zinco estão relacionadas às enzimas das quais o elemento é parte integrante: anidrase carbônica, desidrogenase alcoólica, fosfatase alcalina, carboxipeptidase, timidina quinase, polimerases do RNA, DNA etc (CLOSE, 1998).

A deficiência de zinco é difícil de ser diagnosticada com base em determinações do elemento nos tecidos animais, pois não existem tecidos em que o mineral é estocado em quantidades apreciáveis, e as deficiências dietéticas originam apenas um ligeiro declínio nas concentrações do mineral no fígado, rins, coração, ossos e músculos, sendo esse declínio um pouco mais marcado no soro, pâncreas, pêlos e lã (KOURY *et al.*, 2003). Todavia, segundo Underwood (1981) nenhum desses parâmetros oferece fidedignidade suficiente para permitir um diagnóstico seguro da deficiência do elemento.

## **Cobre**

O estudo do elemento cobre iniciou-se em 1925, quando se descobriu sua importância sinérgica com o ferro na formação da hemoglobina (MAYNARD, 1984). O cobre também está diretamente ligado à maturação da hemácia e no funcionamento do sistema enzimático. Participa da formação do tecido ósseo e conjuntivo e do sistema imunológico. É importante para a integridade do sistema nervoso central e da musculatura cardíaca (SPEARS, 2000).

O cobre é um elemento essencial ao organismo, faz parte de várias enzimas cobre dependentes, desempenha importante papel como biocatalizador do ferro, é utilizado na hematopoiese e na formação

da elastina e do colágeno e contribui para a integridade do sistema nervoso central além de estar presente como co-fator catalítico essencial em importantes metaloenzimas como a Cu-Zn superóxido dismutase, citocromo oxidase, lisil oxidase, dopamina- $\beta$ -hidroxilase e tirosinase (MCDOWELL, 2003).

O cobre transita no organismo animal combinado a algumas proteínas. O nível normal de cobre no sangue, para a maioria das espécies, é de 80 a 120  $\mu\text{g}/100\text{ml}$ , ou 0,8 a 1,2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (ANDRIGUETTO *et al.*, 1999). Níveis críticos no plasma ocorrem a partir de 0,65  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (MCDOWELL, 1992).

A absorção de cobre em ruminantes é baixa (1 a 10%) relativa aos valores reportados para não ruminantes. A baixa absorção de cobre em ruminantes é devido a complexas interações que ocorrem no rúmen. Antes do completo desenvolvimento do rúmen a absorção de cobre é alta (70-85%), mas se reduz a até no máximo 10% após o desmame (SPEARS, 2003).

A excreção do Cu é feita pelas fezes, bile, urina, leite e transpiração (MCDOWELL, 2003), e a disponibilidade em ruminantes é baixa, por sofrer interações com antagonistas formando agentes insolúveis pouco utilizados (SPEARS, 2000). As vantagens fisiológicas da utilização do Cu quelatado podem estar ligadas à sua composição química que permite a rápida formação de compostos solúveis, quimicamente estáveis e que resistem a interação com antagonistas (SPEARS, 2003).

A concentração máxima tolerável de cobre no organismo de bovinos tem sido estimada em 100 mg Cu / kg de ração (ANDRIGUETTO *et al.*, 1990).

O envolvimento do Cu com o sistema antioxidante, pelas enzimas ceruloplasmina e CuZnSOD, o torna importante na defesa da glândula mamária contra infecções. Além disso, a utilização de fontes quelatadas desse mineral torna-se interessante principalmente devido à redução na interação com antagonistas (MCDOWELL, 2003).

### **Relação do Cobre com a fertilidade**

O cobre possui número atômico 29, peso atômico 63,5 e está presente em diversas enzimas e proteínas. Suas funções fisiológicas estão ligadas à respiração celular, formação óssea, funções cardíacas, desenvolvimento do tecido conectivo, mielinização da medula espinhal, processos de queratinização e pigmentação (SPEARS, 2000).

De acordo com Kegley e Spears (1994) o cobre é essencial para o crescimento animal e para a prevenção de grande número de desordens clínicas e patológicas, que ocorrem em várias espécies. Isto decorre da participação do elemento na molécula de algumas metaloenzimas, que exercem atividades variadas no metabolismo animal, tais como: ácido ascórbico oxidase, citocromo oxidase, ceruloplasmina (ferroxidase), que existem nas células e tecidos animais. Devido a sua participação na composição de várias enzimas, a deficiência de cobre, seja ela primária ou induzida, manifesta-se através de alterações diversas no animal, tais como: anemia, alterações ósseas (deformidades, fraturas), ataxia neonatal ou enzoótica, desordens cardiovasculares e falência cardíaca, despigmentação dos pêlos e da lã, queratinização defeituosa dos pêlos e lã, diarreia e infertilidade.

## Selênio

O selênio é um dos elementos do grupo VI localizado imediatamente abaixo do enxofre (S) e assim como este, exibe as valências -2, +4, +6. É menos volátil mais metálico e potencialmente muito mais tóxico. Paradoxalmente, o selênio (+6) é o mais oxidado e menos estável que o sulfato. O selênio pode substituir o enxofre na maioria das substâncias quelatadas, incluindo os aminoácidos que contêm enxofre (VAN SOEST, 1994).

Durante muitos anos o selênio foi considerado como sendo tóxico para os animais. Porém, na última década de 2003 a compreensão de sua importância na nutrição de bovinos aumentou significativamente. Provavelmente, nenhum dos minerais envolvidos em nutrição animal sofreu tantas mudanças de conceito, quanto a sua real importância na nutrição dos animais quanto o selênio. (CARVALHO *et al.*, 2003).

Apesar da sua grande importância e essencialidade, seu papel no metabolismo ainda não foi elucidado, sendo relacionado com a síntese de complexos Se-aminoácidos, Se-proteínas e funcionando como antioxidante eficiente (MOREIRA *et al.*, 2001).

A função antioxidante do selênio foi descrita após a descoberta de que esse mineral agia por intermédio da enzima glutatona peroxidase, quando se verificou que esta possuía quatro átomos de selênio e era de fundamental importância para a destruição dos peróxidos formados no organismo animal (ZANETTI *et al.*, 1998).

Ceballos *et al.* (1999) trabalhando com bovinos leiteiros mantidos a pasto, observaram que a atividade sanguínea da GPx, apresentou alta correlação com a concentração de selênio no sangue ( $r=0,97$ ;  $p<0,05$ ), plasma ( $r=0,89$ ;  $p<0,05$ ) e forragem ( $r=0,93$ ;  $p<0,05$ ), demonstrando que existe uma dependência, para a atividade enzimática, do aporte de selênio a partir da dieta.

Para ruminantes o selênio é encontrado em diversos alimentos como cereais, leguminosas e forragens. No Brasil ele não se encontra facilmente disponível para os bovinos criados em regime de pastejo, pois como a grande maioria dos nossos solos é altamente lixiviado e com baixo teor de matéria quelatada, o selênio se perde facilmente (CARVALHO *et al.*, 2003). Além disso, apesar dos poucos trabalhos no Brasil que buscaram estudar os níveis de selênio presentes nas principais forrageiras e alimentos fornecidos para animais já foram identificadas regiões deficientes desse mineral. Stringhini *et al.* (1997) em um experimento conduzido em Brasília encontraram teores de selênio variando entre 0,025 e 0,075 ppm para as pastagens estudadas. Estes resultados estão abaixo do mínimo requerido, que seria acima de 0,1 ppm (ZANETTI *et al.*, 1998).

Gierus (2007) ressaltou que a concentração de selênio em volumosos e concentrados é baixa, e que sua ingestão através do conteúdo natural das plantas e componentes da dieta é insuficiente para atender a exigência nutricional deste elemento em qualquer fase. Uma suplementação com misturas minerais contendo selênio é, portanto, indispensável.

De acordo com o NRC (1996) a exigência de selênio para o bovino de corte nas fases de crescimento é de 0,1 mg/kg de MS ingerida. Já teores acima de 2 mg/kg de MS ingerida podem ser tóxicos. (GIERUS, 2007)

### **Relação do selênio com a fertilidade**

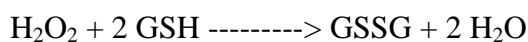
Em todas as espécies animais atribui-se influência do selênio na performance reprodutiva tanto de fêmeas como de machos (SMITH e AKINBAMIJO, 2000). Segundo Carvalho et al. (2003) em fêmeas este mineral se concentra nos ovários e exerce funções metabólicas, como:

- Função antioxidante: na formação dos ovócitos e na maturação dos folículos que promovem a ovulação, pela ação da enzima glutathione peroxidase, que é vital para a proteção da membrana lipídica dos ovócitos, para que não sofra peroxidação pelos radicais livres, que causam a ruptura da membrana e danos irreversíveis. A sua ação evita os cistos ovarianos, que são folículos que não ovularam e causam problemas reprodutivos nas vacas;
- O Se possui ação direta no metabolismo hormonal da progesterona, pois é uma selenoproteína que estimula a síntese de prostaglandina E, que protege o corpo lúteo, produtor de progesterona.

Deve-se se dar atenção à suplementação para fêmeas gestantes, para que não tenham suas reservas corporais de selênio esgotadas, o que poderia prejudicar a sua cria, por não possuir nível adequado do elemento no leite, a qual nasceria com deficiência de Se, podendo ser fatal.

Outra função do selênio é sua participação na produção de hormônios da tireóide, pois este é componente da enzima iodotironina deiodinase tipo I, responsável pela conversão de T<sub>4</sub> em T<sub>3</sub>, que é a forma fisiologicamente ativa (McDONALD *et al.*, 2002).

A glutathione-peroxidase contém quatro átomos de selênio e forma a segunda linha de defesa de proteção das membranas plasmáticas contra a ação tóxica dos peróxidos lipídicos, depois da vitamina E (MacDONALD *et al.*, 2002). Há remoção de peróxido de hidrogênio pela conversão de glutathione oxidada (GSH) em glutathione reduzida (GSSG), pela seguinte reação:



O selênio, micronutriente essencial presente nos tecidos do corpo, caracteriza-se por uma versátil capacidade de oxiredução, sendo tal característica fundamental para sua atuação no centro ativo da enzima glutathione-peroxidase, responsável pela eliminação de peróxidos (radicais livres) (ORTOLANI, 2002), atuando no citosol celular convertendo peróxido de hidrogênio (composto tóxico) em H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub> (COMBS e COMBS, 1986 citados por SILVA e CORSI, 2003).

A deficiência de Selênio causa acúmulo de peróxidos nas membranas celulares causando necrose,

com posterior fibrose e calcificação, principalmente nos músculos esquelético e cardíaco. De acordo com o NRC (2001) estudos mostraram que a prevalência de retenção de placenta, metrite, ovários císticos e edema de úbere foi diminuída pela suplementação de selênio em vacas leiteiras durante a gestação.

### **Minerais Quelatados**

Ao final da década de 1980, surgiram os denominados “minerais quelatados” ou quelatos, uma forma de suplemento mineral no qual aumentariam a produtividade dos animais (KIEFER, 2005). Os quelatos são compostos formados por íons metálicos seqüestrados por substâncias quelatadas como aminoácidos, peptídeos ou complexos polissacarídeos que proporcionam a esses íons alta disponibilidade biológica, alta estabilidade e solubilidade. A palavra "quelato" vem do grego "chele" que significa "garra ou pinça", um termo adequado para descrever a forma pela qual os íons metálicos polivalentes são ligados aos compostos quelatados ou sintéticos (MELLOR, 1964).

O resultado do compartilhamento de elétrons entre um metal e um ligante são denominados de quelato. Ligante é a substância quelatada que está ligada ao metal (LEESON e SUMMERS, 2001). O ligante geralmente é um ânion ou uma molécula que tenha um átomo com um par de elétrons em valências disponíveis. Os ligantes comuns contêm nitrogênio, oxigênio, enxofre, halogênios ou uma combinação deles devido às suas estruturas eletrônicas. Os ligantes são não metálicos, portanto; quelatados (VIEIRA, 2004).

Segundo Leeson e Summers (2001) existem três grupos de quelatos que são reconhecidos pelo sistema biológico:

-Grupo I: Quelatos que servem de transportadores e de estoque para íons metálicos. Com este tipo de quelato o metal requer um ligante com propriedades químicas e físicas que o quelato é capaz de ser absorvido, transportado no sangue e passar pela membrana celular, enquanto o íon metal é utilizado no local em que é exigido. Ex: aminoácidos, especialmente a cisteína e a histidina e o EDTA (ácido etilenodiaminotetracético).

-Grupo II: Quelatos que são essenciais ao metabolismo. Existe um número de quelatos no organismo com estrutura composta por um íon metal na forma quelatada, a qual é necessária para desempenhar funções metabólicas. A hemoglobina é um exemplo deste grupo de quelatos.

-Grupo III: Quelatos que interferem na utilização de cátions essenciais e não possuem valor biológico. Dentre estes quelatos está o ácido fítico (quelato de zinco) que pode interferir com o metabolismo normal por tornar esse mineral essencial indisponível para as funções metabólicas.



Para a formação dos quelatos pode-se lançar mão de numerosas moléculas como ligantes que têm função específica no metabolismo. Elas são de baixo peso molecular e a capacidade oxidativa ou "ligante" depende do tamanho da molécula e da presença de radicais carboxílicos. As principais são os ácidos aminados, ascórbico, cítrico, glucônico e etilenodiaminotetracético (EDTA). Normalmente, um mineral pode fazer a ligação com uma, duas ou várias dessas moléculas para formar um "composto mineral organicamente ligado" ou quelato, podendo assim ser vendido como fonte de mineral (KIEFER, 2005).

### **Absorção dos minerais quelatados**

No intestino, o transporte dos íons para o interior das células dá-se pela difusão passiva ou pelo transporte ativo, ou seja; para que esses íons sejam absorvidos, e atinjam a corrente sanguínea, órgãos e tecidos, eles necessitam estar atrelados a um agente ligante ou molécula transportadora, que permita a passagem através da parede intestinal. Muitas vezes estes íons não encontram o agente ligante e acabam sendo excretados. Nessas condições podem ocorrer perdas pela reação com compostos, como colóides insolúveis ou no processo de competição pelos sítios de absorção entre os elementos minerais, com interações antagônicas que inibem a absorção (HERRICK, 1993).

Na tentativa de aumentar a disponibilidade para o animal, uma suplementação extra de minerais pode causar efeitos prejudiciais, como diarreia e desequilíbrios, que podem levar a redução da biodisponibilidade de outros minerais, além de não melhorarem sua concentração no sangue e causarem poluição ambiental. Um exemplo disso é o que ocorre com o sulfato de manganês, cuja disponibilidade é baixa, e, quando se aumenta a inclusão deste na dieta o problema é solucionado, mas causa efeito negativo na disponibilidade do fósforo, cálcio e ferro (LEESON e SUMMERS, 1997).

Por sua vez, os minerais quelatados apresentam absorção superior ao convencional, pois, geralmente, usam as vias de absorção das moléculas quelatadas que os ligam, o que faz com que não tenham problemas de interações com outros minerais. A absorção dos minerais quelatados pode ocorrer sob duas formas: o mineral pode ser ligado à borda em escova sendo absorvido pela célula epitelial ou como ocorre na maioria das vezes onde o agente quelante é absorvido levando junto a si o metal (KIEFER, 2005).

No caso dos aminoácidos quelatados, o elemento mineral metálico na molécula é quimicamente inerte por causa da forma de ligação. Esta ligação é estável, não sofrendo dissociação das moléculas quando atingem o estômago.

No jejuno, o aminoácido do mineral quelatado, age como agente transportador, permitindo a passagem do mineral através da parede intestinal para a corrente sanguínea (diretamente para o

plasma). A separação do aminoácido quelante dá-se no local onde o elemento mineral metálico será utilizado (LEESON e SUMMERS, 1997).

Alguns estudos têm demonstrado resposta positiva de quelatos quando comparados com fontes inquelatadas (McDOWELL, 1996).

<sup>2</sup>Spears (1989), citado por McDowell (1996), concluiu em seus estudos que certos complexos quelatados na dieta de ruminantes aumentam o desempenho (crescimento e produção de leite), a qualidade de carcaça e resposta imune, e decresce a contagem de células epiteliais no leite comparada aos animais suplementados com as formas não quelatada. Spears (1989) não encontrou nenhuma diferença no crescimento de novilhos recebendo óxido de zinco (ZnO) e o quelato de zinco com metionina, embora houvesse tendência à melhor resposta nesse último tratamento.

Kropp (1993) avaliou a fertilidade de fêmeas de diferentes raças (Angus, Hereford, Brangus e Simental) que tiveram acesso a sal mineral contendo zinco, manganês, cobre e cobalto quelatados com aminoácidos comparados à fórmula contendo sais convencionais, por um ano. O autor verificou que 77,4% das fêmeas que recebiam os quelatos apresentaram estro, contra 42,1% das que recebiam sais convencionais. As que conceberam no primeiro serviço foram 71,4% das suplementadas com quelatos e 25% das com sal convencional. Eles concluíram que a suplementação de microelementos minerais quelatados, particularmente o Cu, teve influência positiva na melhoria do cio e na taxa de concepção.

### **Biodisponibilidade dos quelatos**

A biodisponibilidade de um nutriente é um termo relativo, sempre se referindo ao valor de outro produto usado como padrão. E pode ser definida como a medida da habilidade de um suplemento sustentar os processos biológicos nos animais (McGIILLIRAY, 1978). A biodisponibilidade também pode ser definida como a fração do mineral que realmente é absorvida e utilizada pelo animal.

Existem muitos fatores que influenciam a biodisponibilidade dos minerais, especialmente dos minerais traço, tais como: nível de consumo do mineral, forma química, digestibilidade da dieta, tamanho da partícula, interações com outros minerais e nutrientes, agentes quelantes, inibidores, estado fisiológico do animal, qualidade da água, condições de processamento, idade e espécie animal (MILES e HENRY, 2000).

Além disso, as respostas aos minerais quelatados são mais aparentes quando os níveis de fitatos das dietas são elevados. Desta forma, a vantagem dos minerais quelatados sobre as fontes inquelatadas pode não ser tão evidente em todas as situações, o que pode confundir a interpretação dos resultados. Da mesma forma, quando oferecidos na forma inquelatada, os minerais passam a ter forte interferência entre si (WEDEKIND *et al.*, 1992).

Em geral a biodisponibilidade dos minerais na forma quelatada é dependente de três condições básicas na estrutura do composto (LEESON e SUMMERS, 1997):

1. -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 quelatada;
2. -Peso molecular do quelato - O baixo peso molecular é a chave para a absorção como molécula intacta. Se o peso molecular de um quelato for maior do que 800 dáltons, certamente sofrerá prévia hidrólise na luz do trato digestivo e a absorção pela mucosa não será garantida;
3. -Constante de estabilidade do quelato - Deve ser constituído 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, liberando o átomo de metal na molécula.

A biodisponibilidade dos minerais também varia de acordo com o tipo de fonte mineral (LEESON e SUMMERS, 1997).

Os minerais quelatados geralmente são mais caros do que as fontes inquelatadas. Assim, convencionalmente, o uso de fontes inquelatadas é considerado mais econômico. Entretanto, há indicações de que em algumas situações, os minerais quelatados podem atingir fins biológicos que os convencionais não podem (KIEFER, 2005).

Conforme Patton (1997) os estudos com minerais quelatados sugerem que o uso destes produtos deve ter uma visão diferenciada, pois a simples observação da digestibilidade e absorção através da parede intestinal podem não estar exercendo os questionamentos corretos, e desta forma deve ser avaliado o que ocorre após a absorção sob o ponto de vista metabólico. Na realidade, a determinação das exigências de nutrientes está diretamente relacionada com o tipo de resposta observada. Ganho de peso e conversão alimentar são as medidas tradicionais de investigação das exigências para os macronutrientes. Entretanto, quando se trata de micronutrientes que estão envolvidos em funções específicas, a nível celular, estas medidas nem sempre são as melhores.

### **Biodisponibilidade do Zinco**

A biodisponibilidade é definida como a parte do nutriente ingerido que possui potencial de suprir as demandas fisiológicas nos tecidos alvo (MOURÃO *et al.*, 2005). Existe uma grande variedade de agentes quelantes utilizados nos processos de complexação ou quelação do zinco, os quais podem afetar a biodisponibilidade do zinco (SPEARS *et al.*, 2004). Outra característica que afeta a biodisponibilidade do mineral quelatado e que deve ser levada em consideração, é o grau de ligação ou intensidade na qual o ligante permanece vinculado ao metal em condições de pH fisiológico (CAO *et al.*, 2000).

Fatores que podem modificar a absorção de zinco, sendo que podem ser considerados como

ativadores ou inibidores deste processo. Entre os ativadores da absorção estão o ácido picolínico, secretado pelo pâncreas, a Vitamina B6 que aumenta a secreção de ácido picolínico, o citrato e aminoácidos como glicina, histidina, lisina e metionina. No grupo dos inibidores da absorção estão os ácidos: oxálico e fítico, os taninos, a fibra, o selênio, o ferro e o cálcio. A eficiência do processo de absorção está entre 15 a 40%. Portanto, o zinco é pouco absorvido, sendo excretado em grande proporção pelas fezes (KIEFER, 2005).

Por outro lado, na forma quelatada o zinco está protegido do ácido clorídrico, passa para o duodeno, onde é eficientemente absorvido pelas células da mucosa, carregadas negativamente. Os complexos quelatados são prontamente absorvidos para a corrente sanguínea, tornando-os altamente biodisponíveis às necessidades quelatadas e funcionais (KIEFER, 2005).

Os resultados de biodisponibilidade de fontes quelatadas e não quelatada são variados. Pimentel *et al.* (1991) não observaram diferença na biodisponibilidade de zinco, na forma de zinco metionina, quando comparada com a forma não quelatada de zinco, entretanto Wedekind *et al.* (1992) realizando estudo sobre a biodisponibilidade de diversas fontes de zinco, observaram uma biodisponibilidade do zinco de 117%, na forma de zinco metionina, em uma dieta purificada, 177% em uma dieta com soja isolada e 206% em uma dieta composta por milho e soja, comparada com 100% de biodisponibilidade do zinco para o sulfato de zinco. Este trabalho demonstra que as vantagens do uso de quelatos em relação à suplementação de minerais convencional parecem não ser necessariamente evidentes em todas as circunstâncias. Aoyagi e Baker (1993) verificaram que a biodisponibilidade aparente do quelato de zinco foi de 106% quando comparada à forma não quelatada de sulfato de zinco (100%).

### **Biodisponibilidade do Cobre**

O aumento na biodisponibilidade do cobre de fontes quelatadas, comparadas às fontes não quelatada foi observado por Baker *et al.* (1991) por meio de comparações da quantidade de cobre acumulado no fígado. Aoyagi e Baker (1993) também demonstraram melhor biodisponibilidade do cobre na forma quelatada, principalmente devido à molécula do quelato proteger o mineral contra interações com outras substâncias como a L-cisteína e glutatona reduzida, que são capazes de reduzir a absorção de cobre no intestino. Em outro estudo, Aoyagi e Baker (1993) concluíram que a biodisponibilidade aparente do quelato de cobre foi de 120% quando comparada à forma inquelatada de sulfato de cobre (100%).

Guo *et al.* (2001) verificaram biodisponibilidade de 111 e 109% para cobre lisina e cobre proteinato, respectivamente, quando comparados com o sulfato de cobre (100%).

### **Biodisponibilidade do Selênio**

O selênio na forma quelatada de selenometionina é absorvido pelo trato digestivo através de mecanismo ativo, semelhante ao da absorção de metionina, enquanto o selênio convencional e o

selenocisteína não são ativamente transportados (LEESON e SUMMERS, 2001). O seleniomietionina é rapidamente absorvido e retido no organismo, mas ele é vagorosamente convertido em selenocisteína, a qual é necessária para a síntese de proteínas funcionais (UNDERWOOD, 1999).

<sup>3</sup>Ammerman *et al.*, (1995) citado por Kiefer (2005) relata que a biodisponibilidade relativa de selênio, avaliada através da atividade da glutathione peroxidase, não demonstrou diferença entre fontes quelatadas e o selenito de sódio. Contudo, Close (1998) verificou que o selênio quelatado apresenta maior biodisponibilidade (120 a 150%) em relação ao selenito de sódio (100%).

### **Nutrição na fertilidade da fêmea**

Dentre os fatores que exercem influência na reprodução, a nutrição tem um papel reconhecidamente importante por afetar diretamente aspectos da fisiologia e do desempenho reprodutivo na fêmea bovina.

Uma das principais razões do baixo desempenho produtivo e reprodutivo é a baixa disponibilidade de alimento e o inadequado manejo nutricional (SANTOS e SANTOS, 2003). As forrageiras tropicais raramente contêm, em quantidades adequadas, todos os nutrientes essenciais ao bom desempenho reprodutivo dos bovinos, sendo necessária uma suplementação (CARVALHO *et al.*, 2003)

A nutrição pode influir sobre a função ovariana por efeitos sistêmicos: (i) ao nível hipotalâmico, através da síntese e liberação de GnRH; (ii) hipófise anterior, através do controle da síntese e liberação de FSH, LH e hormônio de crescimento (GH); e (iii) ao nível ovariano por regulação do crescimento folicular e síntese de esteróides (DISKIN *et al.*, 2003).

Williams & Cumming (1982) observaram que ovelhas superalimentadas durante o início da gestação apresentaram uma redução na proporção de embriões produzidos. O autor acredita que isso seja resultante do aumento do metabolismo da progesterona, em consequência de uma elevação na atividade de oxidação hepática devido ao maior fluxo sanguíneo porta-hepático em animais bem alimentados, já que o fígado é o principal local de metabolismo de esteróides, metabolizando aproximadamente 95% da progesterona circulante durante uma única passagem, resultando em uma redução das concentrações plasmáticas periféricas de progesterona.

Nos ruminantes, a nutrição influencia a fertilidade, diretamente através do fornecimento de nutrientes específicos, que são necessários para os processos de desenvolvimento do folículo, ovulação, maturação oocitária, fertilização, sobrevivência embrionária e o estabelecimento da gestação; e, indiretamente, atuando sobre as concentrações circulantes dos hormônios e outros metabólitos sensíveis aos nutrientes que são requeridos para o sucesso destes processos (ROBINSON *et al.*, 2006).

O potencial reprodutivo é influenciado pelos efeitos nutricionais a curto e a longo prazo sobre o estro e durante os diferentes estados fisiológicos, quando a fertilidade e a fecundação nos animais podem ser grandemente condicionadas (SCARAMUZZI e MURRAY, 1994).

O consumo alimentar atua sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano, em vários níveis. Os fatores de crescimento, hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH) são importantes no crescimento inicial do folículo, considerando que gonadotrofinas são essenciais para as fases finais de crescimento folicular. Nesta fase, o folículo dominante troca sua exigência de FSH para LH. Evidências afirmam que as gonadotrofinas podem influenciar o desenvolvimento folículo pré-antral e os fatores de crescimento podem influenciar o desenvolvimento do folículo continuamente (SCARAMUZZI e MURRAY, 1994).

Mudanças em curto-prazo no plano nutricional de minerais têm demonstrado influenciar o recrutamento de pequenos folículos antrais (1 a 4 mm), sem afetar as concentrações circulantes de FSH, resultando em um maior número de ovulações após um tratamento superovulatório (GONG *et al.*, 2002). A dieta é positivamente relacionada, por diversos autores à taxa de crescimento e tamanho do folículo ovulatório (BOSSIS *et al.*, 2000).

Jorritsma *et al.* (2004) observaram que altas concentrações de ácidos graxos não-esterificados (AGNEs), que ocorrem em casos de subnutrição, reduzem a proliferação *in vitro* de células da granulosa, retardando a maturação do oócito, prejudicando, desta forma, a produção de blastocistos. Assim, o efeito nutricional sobre a qualidade do oócito pode contribuir para a baixa fertilidade de vacas leiteiras de alto rendimento (ROYAL *et al.*, 2000). Leroy *et al.* (2004) sugerem que também pode haver um componente genético específico para esse efeito adverso.

Embora se conheça a existência dos efeitos da nutrição energética sobre a reprodução de ruminantes, constatam-se muitas controvérsias sobre os reais mecanismos neuroendócrinos que regulam os efeitos da nutrição energética sobre a reprodução (ROBINSON *et al.*, 2006).

### **Estresse oxidativo**

A importância de estudar o estresse oxidativo está relacionado com a diminuição da viabilidade e à capacidade de desenvolvimento dos embriões tanto *in vitro* quanto *in vivo*, é o estresse oxidativo. Já foi comprovado o efeito negativo ocasionado pelo estresse oxidativo, em diferentes células de mamíferos, inclusive embriões, proporcionado pela alta tensão de oxigênio (BAVISTER, 1995).

O estresse oxidativo é uma condição biológica em que ocorre desequilíbrio entre a produção de reactive oxygen species (ROS) e a sua desintoxicação através de sistemas biológicos que as removam ou reparem os danos por elas causados.

Todos os organismos vivos possuem um ambiente intracelular de natureza redutora, existindo um equilíbrio entre as formas oxidada e reduzida de moléculas como o nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH), equilíbrio esse mantido por enzimas à custa de energia metabólica.

Perturbações neste equilíbrio redox podem provocar a produção de peróxidos e radicais livres que danificam todos os componentes celulares, incluindo proteínas, lipídeos e o DNA (LENNON *et al.*, 1991).

Os efeitos do estresse oxidativo dependem da dimensão de tais variações. Uma célula é normalmente capaz de superar os efeitos deletéricos do estresse oxidativo se as perturbações no equilíbrio redox forem pequenas, restabelecendo o equilíbrio normal intracelular, mas perturbações de maior escala podem levar à morte celular (LENNON *et al.*, 1991).

### **Radicais livres e espécies reativas ao oxigênio**

Os primeiros estudos a respeito de radicais livres se deram por volta de 1924. No entanto, só nos anos setenta, começaram a surgir trabalhos, relatando a importância dos radicais livres para os seres vivos, particularmente os aeróbicos (VANNUCHI *et al.*, 1998).

Um radical livre nada mais é do que qualquer átomo, molécula ou íon que possui um ou mais que um elétron livres na sua órbita externa. Essas partículas, formadas por elétrons livres ou não pareados tem instabilidade elétrica muito grande e, por esta razão, mesmo tendo meia vida muito curta, apresentam grande capacidade reativa, o que pode acontecer com qualquer composto que esteja próximo, a fim de captar um elétron desse composto para sua estabilização, independente de ser uma molécula, uma célula, ou tecido do organismo, a partir do que, acontecem reações em cadeia de lesão celular. Devido a esta característica, é denominado de substância oxidante (ALVAREZ *et al.*, 1996).

O oxigênio tem a sua atividade fundamental no metabolismo celular aeróbico. Desta forma, a formação de radicais livres pelo organismo em condições normais é inevitável, pois são necessários no processo de respiração celular que ocorre nas mitocôndrias ("usinas energéticas") das células, a fim de gerar o ATP (energia) (VANNUCHI *et al.*, 1998).

De acordo com Ferreira e Matsubara (1997) radical livre não é o termo ideal para designar os agentes reativos patogênicos, pois alguns deles não apresentam elétrons desemparelhados em sua última camada. Como em sua maioria eles são derivados do metabolismo do O<sub>2</sub>, o ideal é referir-se a eles como espécies reativas a oxigênio (ROS).

As concentrações intracelulares de ROS são maiores em sistemas de produção *in vitro* quando comparadas à produção *in vivo*. Quantidades elevadas de O<sub>2</sub><sup>-</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> têm sido detectadas em embriões de camundongos em estágio inicial de clivagem, produzidos *in vitro*, quando comparadas à produção *in vivo* desses mesmos animais (NASR-ESFAHANI *et al.*, 1990; NASR-ESFAHANI e JOHNSON, 1991 e GOTO *et al.*, 1993) e têm sido relacionadas ao atraso no desenvolvimento inicial de embriões (NODA, 1992).

Os ROS são encontrados em todos os sistemas biológicos. Em condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbio, o O<sub>2</sub> sofre redução tetravalente, com aceitação de quatro elétrons,

resultando na formação de  $H_2O$  (VANNUCHI *et al.*, 1998). Durante esse processo, são formados intermediários reativos e segundo Sikka (1996) as ROS que apresentam implicações na biologia são: ânion superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical peroxil ( $LOO^-$ ) e o radical hidroxila ( $OH^-$ )

### **ROS e infertilidade**

Vários fatores podem contribuir para aumentar a produção das ROS, entre eles pode-se destacar: a concentração de oxigênio, o contato com a luz, o excesso de manipulação dos embriões em laboratório (CORRÊA, 2006).

A tensão de  $O_2$  utilizada nos sistemas de cultivo de embriões pode ser até quatro vezes maior que a do oviduto, elevando a atividade das oxidases, e conseqüentemente a quantidade de radicais  $O_2^-$  no meio (GUÉRIN *et al.*, 2001), o que pode afetar a quantidade dos embriões produzidos.

Para avaliar o efeito da tensão de oxigênio na produção de embriões suínos, Kitagawa *et al.* (2004), avaliando a fragmentação do DNA de embriões suínos sob diferentes tensões de  $O_2$  e na presença de antioxidantes ( $\beta$ -mercaptoetanol e vitamina E), utilizaram 5% e 20% de  $O_2$  no cultivo *in vitro* e encontraram maiores taxas de produção de ROS quando a tensão foi menor. Neste mesmo estudo, a produção de ROS também foi avaliada nos dois ambientes de cultivo através da quantificação de  $H_2O_2$  produzida no meio, que se apresentava em menor concentração quando o cultivo foi feito sob 5% de  $O_2$ .

Yuan *et al.* (2003) também avaliaram a produção de embriões, porém em bovinos, sob 5% e 20% de  $O_2$ , e em seus resultados mostraram maior taxa de produção até a fase de mórula, sob alta tensão de oxigênio, sendo que em D7 os resultados se inverteram, resultando numa maior produção de blastocistos sob baixa tensão de  $O_2$ . Além disso, a quantidade de células apoptóticas nos embriões produzidos sob 20% de  $O_2$  foi maior.

O excesso de exposição à luz visível durante a manipulação também pode induzir a produção de ROS pelas células dos embriões (GUÉRIN *et al.*, 2001). Goto *et al.* (1993) observaram um aumento na produção de  $H_2O_2$  em embriões de camundongo expostos à luz por mais de cinco minutos, ou seja, o tempo gasto para qualquer procedimento no laboratório de produção *in vitro* (PIV).

Uma alteração na produção de ROS também pode ocorrer durante a fecundação, prejudicando o desenvolvimento dos zigotos e embriões. O período de incubação dos gametas masculino e feminino pode desencadear um aumento na produção de ROS pelos espermatozoides, prejudicando a formação dos pronúcleos (ALVAREZ *et al.*, 1996).

O estresse oxidativo é responsável por diferentes tipos de danos nas células dos embriões devido à produção de ROS, e estes danos podem alterar várias moléculas, como lipídios, proteínas e ácidos nucléicos. O aumento na produção de ROS induz à peroxidação lipídica (com efeito direto nas divisões celulares, no transporte de metabólitos e disfunção mitocondrial); leva à oxidação de



proteínas, e automaticamente à inativação de enzimas, além de induzir a fragmentação das fitas de DNA nuclear. As conseqüências desses danos oxidativos podem ser evidenciados no desenvolvimento retardado dos embriões, nas disfunções metabólicas e até mesmo no aumento e aceleração da apoptose (GUÉRIN *et al.*, 2001).

## REFERÊNCIAS

- ABRAÃO, J. J. S.; RITTER, M. Levantamento dos níveis de minerais do solo, planta e animal no planalto catarinense. II. Micro elementos. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 22. Balneário Camboriú. **Anais**. Balneário Camboriú, SBZ, p. 181, 1985.
- AITKEN, R. J.; CLARKSON, J.S.; FISCHER, S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. **Biology of reoroduction**, v. 41, p. 183-197, 1989.
- ALVAREZ, J.G.; MINARETZIS, D.; BARRET, C.B. The sperm stress test: a novel test that predicts pregnancy in assisted reproductive technologies. **Fertilidade Steril** v. 65, p.400-405, 1996.
- ALVAREZ, C. A.; MORAES, G. V. Efeitos da selenometionina e vitamiva C sobre o sêmen. **Revista de Saúde e Biologia**, v. 1, n.1, p. 42-46, 2006.
- ANDRIGUETTO, J. M.; PERLY, L.; MINARD, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J. S.; SOUZA, G. A.; BONA FILHO, A. **Nutrição animal**. v.1. São Paulo: Nobel, 1990.
- AOYAGI, S., BAKER, D.H. Nutritional evaluation of copper-methionine complex for chicks. **Poultry Science**, v.72, p.2309-2315, 1993.
- ARROYO, Rafael José Otero. **Classificação de ovócitos imaturos de bovinos pela utilização do azul cresil brilhante**. 2008, 45f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008.
- BAKER, D.H., ODLE, J., FUNK, M.A. Bioavailability of copper in cupric oxide, uprous oxide, and in a copper-lysine complex. **Poultry Science**, v.10, p.177-179, 1991.
- BAVISTER, B. D. Culture of preimplantation embryo: facts and artifacts. **Human Reproduction Update**, v. 1,n. 1, p. 91-148, 1995.
- BOSSIS, I.; WETTEMANN, R.P.; WELTY, S.D.; VIZCARRA, J.; SPICER, L.J. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: Ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. **Biology of Reproduction**, v. 62: p.1436-1444, 2000.
- CAO, J.; HENRY, P. R.; GUO, R.; HOLWERDA, R. A.; TOTH, J. P.; LITTELL, R. C.; MILES, R. D.; AMMERMAN, C. B. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 8, p. 2039-2054, 2000.
- CARVALHO, F. A. N.; BARBOSA, F. A.; McDOWELL, L. R. **Nutrição de bovinos a pasto**. Belo Horizonte: Papelform, 2003, 438p.

- CASTRO, V.S.D.C, BARRETTO L.S.S., GARCIA J.M., MINGOTI G.Z. Influência do suplemento de macromoléculas e da atmosfera gasosa na maturação de oócitos bovinos. **Acta Science Veterinary** v.31, supl., p.272-273, 2003.
- CEBALLOS, A.; WITWER, F. G.; CONTRERAS, P. A.; QUIROZ, E.; BOHNWALD, H. L. Actividad de glutathione peroxidase en bovinos lecheros a pastoreo correlacionada con la concentración sanguínea y plasmática de selenio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 12, p. 2331-2338, 1999.
- CLOSE, W.H. The role of trace mineral proteinates in pig nutrition. In: LYONS, T.P., JACQUES, K.A. **Biotechnology in the Feed Industry**. Nottingham University Press. Nottingham, UK, p.469-483. 1998.
- CORDOVA, A., MON-ALVAREZ, M. Behaviour of zinc in physical exercise: a special reference to immunity and fatigue. **Revista Neurosci Biobehav.** 19: 439-45. 1995.
- CORRÊA, G. A. **Tensão de oxigênio durante o cultivo in vitro de embriões bovinos: efeito na produção e expressão de genes relacionados ao estresse oxidativo.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2006, 61 p. Dissertação de Mestrado.
- DISKIN, M.G.; MACKAY, D.R.; ROCHE, J.F., SREENAN, J.M. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78: p.345-370, 2003.
- FERREIRA, A.L.A. e MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista Associação Médica Brasileira.** V. 43, n.1, p.1-16, 1997.
- FILAPPI, A.; PRESTES, D.; CECIM, M. Suplementação mineral para bovinos de corte sob pastejo - revisão. **Veterinária Notícias**, v. 11, n. 2, p. 91-98, 2005.
- FROTA, Mário Luis Conte da. **Ação extra nuclear do ácido retinóico via espécies reativas do oxigênio em células de Sertoli.** Dissertação (Mestrado Ciências Biológicas: Bioquímica) – Universidade do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, 2005.
- GARCIA, J.M., AVELINO, K. B., VANTINI, R.D.M.V.P.R.A. **Estado da arte da fertilização in vitro em bovinos.** Biotecnologia da reprodução em bovinos (1<sup>o</sup> simpósio internacional de reprodução animal aplicada). FCAV/UNESP-Jaboticabal, 2005.
- GIERUS, M. Fontes quelatadas e inquelatadas de selênio na nutrição de vacas leiteiras: digestão, absorção, metabolismo e exigências. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1212-1220, 2007.
- GONG, J.G. Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23: p. 229-241, 2002.
- GOTO, Y.; NODA, Y.; MORI, T.; NAKANO M. Increased generation of reactive oxygen species in embryo cultured *in vitro*. **Free Radical Biology and Medicine**, v.15, p.69–75, 1993.
- GUÉRIN, P.; MOUATASSIM, S. El; MÉNÉZO, Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. **Human Reproduction. Update.** v. 07, n° 02, p. 175-189, 2001.

- GUO, R., HENRY, P.R., HOLWERDA, R.A. et al. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic copper sources for poultry. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1132-1141. 2001.
- HAMBIDGE, K. M.; CASEY, C. E.; KREBS, N. F. **Zinc**. Ed, Trace elements in human and animal nutrition. Vol. 2. 5 th ed. Academic Press, Orland, Florid. P.54. 1986.
- HERRICK, J.B. **Mineral in animal health**. In: ASHMEAD, H.D. (Ed.). The roles of amino acid chelates in animal nutrition. New Jersey: Noyes, p.3-9. 1993
- HURLEY W.C.; DOANE, R.M. Recent developments in the roles of vitamins and minerals in Reproduction. **Journal of Dairy Science**, vol.67, p.1316, 1984.
- JORRITSMA, R.; C'ESAR, M.L.; HERMANS, J.T.; KRINTWAGEN, C.L.J.J.; VOS,P.L.A.M.; KRUIP, T.A.M. Effects of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cells and developmental potential of oocytes in vitro. **Animal Reproduction Science**, v.81, p.225–235, 2004.
- KEGLEY, E. B., SPEARS, J. W. Biovariability of feed-grade copper sources (oxide, sulfate, or lysine) in growing cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 2728-2734, 1994
- KIEFER, C. Minerais quelatados na nutrição de aves e suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n°3, p.206 –220, maio/junho de 2005.
- KITAGAWA, Y.; SUZUKI, K.; YONEDA, A.; WATANABE, T. Effects of oxygen concentration and antioxidants on the *n vitro* developmental ability, production of reative oxygen species (ROS), and DNA fragmentation in porcine embryos.**Theriogenology**. v. 62, p. 1186-1197, 2004.
- KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista Nutrition**. vol.16 no.4 Campinas October./December. 2003
- KROPP, J. R. The role of copper in beef cattle fertility. In: ASHMEAD, H. D. (Ed.). **The roles of amino acid chelates in animal nutrition**. New Jersey: Noyes, 1993. p. 154-169.
- LEESON, S., SUMEERS, J.D. **Commercial Poultry nutrition**. 2ª Edition. Guelph, Ontario: p 57-58 . University Books, 1997.
- LEESON, S., SUMEERS, J.D. **Nutrition of the chicken**. 4ª Edition. Guelph, Ontario: University Books, 591p. 2001.
- LEESON, S. A new look at trace mineral nutrition of poultry: can we reduce the environmental burden of poultry manure? In: LYONS, T.P., JACQUES, K.A. **Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries**. Eds. Nottingham University Press, Nottingham. United Kingdom. 2003.
- LEROY, J.L.M.R.; VANHOLDER, T.; DELANGHE, J.R.; OPSOMER, G.; VAN SOOM,A.; BOLS, P.E.J.; DE KRUIF, A. Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows.**Animal Reproduction Science** v.80, p.201–211 , 2004
- LIMA, L. G.; DOMINGUES, J. L. Uso do Selênio na Produção de Bovinos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.4, n.4, p.462-474, Julho/Agosto 2007
- MAYNARD, L.A. **Nutrição animal**. 3.ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos. p.260-280. 1984.

- McDONALD, P.; EDWARDS R.A.; GREENHALGH, J.F.D. et al. **Animal nutrition**. 6th ed. Pearson: Edinburgh, 2002. 693p
- McDOWELL, L.R. **Minerals in animal and human nutrition**. New York: Academic Press, 1992.
- McDOWELL, L. R. Feeding minerals to cattle on pasture. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 60, n. 3/4, p. 247-271, 1996.
- MCDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. 2. ed. Netherlands: Elsevier Science, 2003. 644 p
- McGILLIRRAY, J.J. Biological availability of phosphorus sources. In: ANNUAL INTERNATIONAL MINERALS CONFERENCE, 1., 1978, Petersburg Beach. **Anais...** St. Petersburg Beach: IMC, 1978, p.104-150.
- MELLOR, D. Historical background and fundamental concepts "of chelation". In: DWYER, F., MELLOR, D. (Ed.). **Chelating agents and metal chelates**. New York: Academic Press, 1964.
- MILES, R.D., HENRY, P.R. Relative trace mineral bioavailability. **Ciência Animal Brasileira**, n.1, p.73-93. 2000.
- MOREIRA, J.; SANTOS, C. D.; ABREU, C. M. P.; BERTECHINI, A. G.; OLIVEIRA, A. G.; OLIVEIRA, D. F.; CARDOSO, M. G. Efeito de fontes e níveis de selênio na atividade enzimática da glutatona peroxidase e no desempenho de frangos de corte. **Ciência Agrotécnica**, v. 25, n. 3, p. 645-649, 2001.
- MOURÃO, D. M.; SALES, N. S.; COELHO, S. B.; PINHEIRO-SANTANA, H. M. Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 4, p.529- 539, 2005.
- NASCIMENTO, E. E. **Suplementação de selênio na dieta de caprinos sobre a produção e qualidade do embrião**. 2008, 35 f..Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá. 2008,
- NASR-ESFAHANI, M.H.; JOHNSON, M.H. The origin of reactive oxygen species in mouse embryos cultured *in vitro*. **Development**, v.113, p.551-560, 1991.
- NASR-ESFAHANI, M.H.; AITKEN, J.R.; JOHNSON, M.H. Hydrogen peroxide levels in mouse oocytes and early cleavage stage embryos developed *in vitro* or *in vivo*. **Development**, v.109, p.501–507, 1990.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrients requeriments of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: 244p. 1996.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL NRC – **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th. Ed., National Academy Press: Washington D.C., 381p 2001..
- NODA, Y. Embryo development *in vitro*. **Assisted Reproduction Reviews**, v.2, p.9–15, 1992.
- ORTOLANI, E.L. Macro e microelementos. In: **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. P. 641- 651. 2002.
- PATTON, R. Efficacy of chelated minerals: review of literature. **Proceedings of the Second Conference of the Nutrition Advisory Group of the American Zoo and Aquarium Association on Zoo and Wildlife Nutrition**. Texas, EUA, p.14-31. 1997.

- PEIXOTO, P. V.; MALAFAIA, P.; BARBOSA, J. D.; TOKARNIA, C. H. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 195-200, 2005.
- PIMENTEL, J.L., COOK, M.E., GREGER, J.L. Bioavailability of Zinc-Methionine for Chicks. **Poultry Science**, v.70, p.1637-1639, 1991.
- PIPER, RG, *et al.* , gestão de piscicultura. Washington, DC, EUA Departamento do Interior, peixes e Wildl. Serviço, p. 348-71. 1982
- POWELL, S. R. The antioxidant properties of zinc. **Journal Nutrition**. 130:1447S-54S, 2000.
- ROBINSON, J.J.; ASHWORTH, C.J.; ROOKE, J.A.; MITCHELL, L.M.; MCEVOY, T.G. Nutrition and fertility in ruminant livestock. **Animal Feed Science and Technology**, v.126, p.259–276, 2006.
- ROYAL, M.D.; DARWASH, A.O.; FLINT, A.P.F.; WEBB, R.; WOOLLIAMS, J.A.; LAMMING, G.E. Declining fertility in dairy cattle: Changes in traditional and endocrine parameters of fertility. **Animal Science** (Pencaitland) v.70, p.487–502, 2000.
- SALGUEIRO, J. et al Cinc: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial. **Acta Physiology Pharmacology Ther. Latinoamerica**, v. 49, n. 1, p. 1-12, 1999.
- SCARAMUZZI R. J.; MURRAY J. F. **The nutrient requirements for the optimum production of gametes in assisted reproduction in ruminant animals**. X° Réunion A.E.T.E. 1069-10 September 1994 - Lion (France), 85-103, 1994.
- SILVA, S. C.; CORSI, M. Manejo do pastejo. In: Simpósio sobre manejo de pastagens, 20, 2003, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2003. p. 155-186.
- SPEARS, J. W. Organic trace minerals in ruminant nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 58, n. 1-2, p. 151-163, 1996.
- SPEARS, J. W. Micronutrients and immune function in cattle. In: NUTRITION SOCIETY, 59., 2000, Raleigh. **Proceedings...** p. 587–594 Raleigh: NC, 2000.
- SPEARS, J. W. Trace mineral bioavailability in ruminants. **Journal of Nutrition**, v. 33, p. 1506S–1509S, 2003
- SPEARS, J. W.; SCHLEGEL, P.; SEAL, M. C.; LLOYD, K. E. Bioavailability of zinc from zinc sulfate and different organic zinc sources and their effects on ruminal volatile fatty acid proportions. **Livestock Production Science**, v. 90, n. 2-3, p. 211-217, 2004.
- SIKKA, S. C. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. **Frontiers in Bioscience**. V.1, p 78-86, 1996.
- SIKKA, S. C. Oxidative stress and role of antioxidants and reproduction in farm animals. **Animal Reproduction Science**, 60-61, p. 549-560, 2000.
- SMITH, O. B.; AKINBAMIJO, O. O. Micronutrients and reproduction in farm animals. **Animal Reproduction Science**, 60-61, p. 540-560, 2000.
- SOUZA, Luiz Alberto de. **Mensuração da Sustentabilidade na Agricultura**. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Educação Sustentável) – Universidade Católica de Goiás- UCG, 2007.

STRINGHINI, J. H.; MIRANDA, R. M. de; LOPES, H. O.S. Níveis de selênio em pastagens de cerrado e efeitos da suplementação sobre o desempenho de cordeiros. **Anais** Escola de Agronomia e Veterinária 57 (1): 85-91. 1997.

TODD, W.R.; ELVEHJEM, C.A.; HART, E.B. Zinc in the nutrition of the rat. **American Journal of Physiology**, Washington, v. 107, p. 146-156, 1934

UNDERWOOD, E. J. **A nutrição mineral do gado**. 2. ed. Londres: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1981.

UNDERWOOD, E.J. **The mineral nutrition of livestock**. 3ª Edition. Wallingford: CABI. 614p.1999.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2 ed., Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.

VANNUCCHI, H.; MOREIRA, E. A. M.; CUNHA, D. F.; JUNQUEIRA-FRANCO, M. V. M.; BERNARDES, M. M.; JORDÃO-JUNIOR, A. A. Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no defesa de sistema antioxidante. **Simpósio: Nutrição Clínica**. Medicina, Ribeirão Preto, 31, p 31-44, 1998.

VARAGO, F. C., MENDONÇA, L. F. , LAGARES, M. de A. Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.32, n.2, p.100-109, abr./jun. 2008. Disponível em [www.cbra.org.br](http://www.cbra.org.br)

VIANA, R. B.; BARUSELLI, M. S.; MONTEIRO, B. M.; PANCIERI, M. S.; JUNIOR, P. F. P. B.s; ALTIERI, F., MELO, P. M. A. de; CHAVES, L. C. Suplementação mineral de novilhas da raça nelore no período periparto e o desenvolvimento ponderal de suas crias. *Ciência Animal Brasileira – Suplemento 1*, 2009 – **Anais** do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria 795. , 2009

VIEIRA, S.L. Minerais quelatados na nutrição animal. In: **Simpósio sobre manejo e nutrição de aves e suínos**. CBNA – Campinas, SP, pg. 51-70. 2004.

WEDEKIND, K.J., HORTIN, A.E., BAKER, D.H. Methodology for assessing zinc bioavailability: Efficacy estimates for zinc methionine, zinc sulfate, and zinc oxide. **Journal of Animal Science**, v.70, p.178-187. 1992.

YUAN, Y.Q.; VAN SOOM, A.; COOPMAN, F.O.J.; MINTIENS, K. et al. Influence of oxygen tension on apoptosis and hatching in bovine embryos cultured *in vitro*. **Theriogenology**. v. 59, p. 1585-1596, 2003.

WILLIAMS, A.H.; CUMMING, L.A. Inverse relationship between concentration of progesterone and nutrition in ewes. **Journal of Agriculture Science**. v 98, 1982.

ZANETTI, M. A.; NEUNHAUS, L. E. B.; SCHALCH, E.; MARTINS, J. H. Efeitos da Suplementação de Selênio e Vitamina E em Bovinos Leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 2, p. 405-408, 1998.