

## SUPLEMENTOS MINERAIS QUELATADOS PARA VACAS NELORE: DESEMPENHO CORPORAL, QUALIDADE OOCITÁRIA E ESTRESSE OXIDATIVO

Camila Pasa<sup>1</sup>;  
Luciana K. H. Zervoudakis<sup>2</sup>  
Joanis T. Zervoudakis<sup>2</sup>

**RESUMO:** Objetivou-se neste estudo avaliar o ganho de peso, escore de condição corporal, qualidade oocitária e o nível de estresse oxidativo do líquido folicular de vacas suplementadas com cobre, zinco e selênio na forma quelatada. Cada grupo foi mantido em piquete de *Brachiaria brizantha* cv Marandu, recebendo 1 kg de animal/dia via suplemento proteinado durante o período de 99 dias com duas aspirações foliculares. Os oócitos aspirados foram classificados como: viáveis e não viáveis. No líquido folicular foi mensurado o nível de estresse oxidativo através da concentração de TBARS. Não foi verificado efeito ( $p > 0,10$ ) da suplementação com minerais quelatados sobre o número de oócitos não viáveis e peso corporal. Houve efeito para ECC final ( $p = 0,0592$ ) entre os grupos suplementados (GC  $4,83 \pm 0,7$  e GS  $5,27 \pm 0,14$ ), ganho ECC ( $p = 0,0178$ ) para o GS e GC ( $0,82 \pm 0,18$  e  $0,25 \pm 0,13$ , respectivamente) Houve redução para o nível de estresse oxidativo ( $0,003099 \pm 1,1141 \times 10^{-5}$  VS  $0,003094 \pm 9,7251 \times 10^{-6}$  ng/mL GC e GS, respectivamente). A suplementação oral com mineral zinco, cobre e selênio na forma quelatada não influenciou o número de oócitos aspirados por coleta e reduziu o nível de estresse oxidativo do líquido folicular.

**Palavras-chave:** Fertilidade, Oócitos, Quelato, ROS

## CHELATED MINERAL SUPPLEMENTS FOR COWS NELLORE: GROWTH PER FORMANCE, OOCYTE QUALITY AND OXIDATIVE STRESS

**ABSTRACT:** The objective of this study to evaluate weight gain, body condition score, oocyte quality and level of oxidative stress in follicular fluid from cows supplemented with copper, zinc and selenium chelated during the months April to July 2009 in Cuiabá-MT, using 24 adult Nelore, aged 36 months, average weight of 395 kg initial randomly divided into 2 groups: control group (CG, supplemented with conventional mineral) and supplemented group (GS, animals supplemented with zinc, copper and selenium chelated). Each group was kept in a paddock of *Brachiaria brizantha* cv Marandu animal received 1 kg per day via protein supplement during the period of 99 days with two follicular aspirations. The oocytes were classified as viable and non viable. In follicular fluid was measured the level of oxidative stress by TBARS concentration. There was no effect ( $p > 0.10$ ) of supplementation with chelated minerals on the number of non-viable oocytes and body weight. Effect was observed for final BCS ( $p = 0.0592$ ) between the supplemented groups ( $4.83 \pm 0.7$  GC and  $5.27 \pm 0.14$ ), ECC gain ( $p = 0.0178$ ) for SG and CG ( $0.82 \pm 0.18$  and  $0.25 \pm 0.13$ , respectively) were reduced to the level of oxidative stress ( $0.003099 \pm 1.1141 \times 10^{-5}$  VS  $0.003094 \pm 9.7251 \times 10^{-6}$  ng / mL GC and GS, respectively). Oral supplementation with mineral zinc, copper and selenium chelated not influence the number of oocytes per collection and reduced the level of oxidative stress in follicular fluid.

**Keywords:** Chelate, Fertility, Oocyte, ROS

---

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, UFMT/Cuiabá, MT, Brasil. [camila\\_pasa@hotmail.com](mailto:camila_pasa@hotmail.com)  
<sup>2</sup>Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMEV), Cuiabá, MT, Brasil. [lukeiko@yahoo.com.br](mailto:lukeiko@yahoo.com.br);  
[joanisz@yahoo.com.br](mailto:joanisz@yahoo.com.br)

## INTRODUÇÃO

Os minerais convencionais e mesmo os proteinados já não conseguem atender todas as exigências nutricionais dos animais de alto potencial produtivo. Em outras palavras, é preciso substituir, ao menos parcialmente, a suplementação tradicional com minerais convencionais por minerais quelatados. A proporção que tem trazido melhores resultados econômicos é a de 30% de substituição. Ou seja, troca 30% dos minerais convencionais por quelatados (LIMA *et al.*, 2007).

O zinco é vital para o funcionamento saudável de muitos sistemas do organismo. Seu papel é crucial no crescimento e na divisão das células quando é necessário na síntese de proteínas e de DNA, na atividade da insulina, no metabolismo dos ovários e testículos e no funcionamento do fígado (OLIVEIRA, 2006). O Cobre foi identificado como um elemento essencial para aumentar a resistência ao estresse e às doenças, desempenhando um papel primordial na saúde e no funcionamento adequado de cada célula do organismo. O selênio possui funções antioxidantes que protegem as sínteses biológicas de degradação oxidativa. É um constituinte da enzima de glutathiona peroxidase que protege o organismo combatendo a formação de peróxidos (KOURY *et al.*, 2003).

O presente trabalho avaliou a influência da suplementação de zinco, cobre e selênio na forma de quelato e na forma convencional sobre o peso corporal, escore de condição corporal, qualidade oocitária e estresse oxidativo do líquido folicular de vacas Nelore em regime de suplementação a pasto.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Fazenda Luar que está localizada na Baixada Cuiabana durante o período de transição águas-seca do ano, entre os meses de abril a julho de 2009. A temperatura máxima média chega aos 35°C, mas as máximas absolutas podem chegar aos 40°C nos meses mais quentes e abafados; em dias chuvosos, a temperatura máxima não passa de 20° Celsius (INMET). Os dados das temperaturas máxima e mínima coletados durante o experimento podem ser vistos na Tabela 1.

**TABELA 1. Valores médios das temperaturas máxima e mínima observado durante o período de abril a julho de 2009.**

Mês	Temperatura Média (°C)	
	Máxima	Mínima
Abril	34,0	21,1
Maiο	34,0	19,4
Junho	32,5	17,8
Julho	33,7	16,7

Foram utilizadas 24 vacas da raça Nelore, multíparas, com média de 36 meses de idade, ciclando normalmente, com peso corporal (PC) médio inicial de 395 kg e média de condição e escore corporal (ECC) inicial de 4,5 (escala de 1-9). Foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos:

- **Grupo Suplementado (GS)** – Animais recebendo suplemento proteinado contendo zinco, cobre e selênio na forma quelatada, constituído de 12 animais. O nível de inclusão do quelato foi de 100% de selênio e 30% para zinco e cobre.

- **Grupo Controle (GC)** – Animais recebendo suplemento proteinado contendo zinco, cobre e selênio na forma convencional, constituído de 12 animais (Tabelas 2);

**TABELA 2. Composição percentual do proteinado comercial: Mistura Mineral (MM), Farelo de Soja (FS), uréia e Milho do suplemento proteinado, fornecido aos animais experimentais**

Ingrediente	Composição Percentual
MM	9,0
FS	21,0
Uréia	5,0
Milho	65,0

\*Mistura mineral comercial - níveis de garantia: zinco 2,83 mg/kg; cobre 1,44 mg/kg; selênio 5,40 mg/kg; iodo 6,26 mg; ferro 42,8 mg; cobalto 9,0 mg; manganês 89,8 mg; flúor 81,0 mg; cromo 1,0 mg; cálcio 18,0g; fósforo 8,1 g; sódio 9,87g; magnésio 0,82 g;

O proteinado comercial foi formulado para atender as exigências de fêmeas em reprodução sendo fornecidos em quantidades equivalentes a 1 kg/animal/dia, às 10 horas, a fim de minimizar as interferências no comportamento de pastejo dos animais, mais pronunciado no início da manhã e fim da tarde (ADAMS,1985). Os grupos recebiam a mesma quantidade de suplemento proteinado diferenciando apenas na fonte oferecida: forma de quelato para o GS e forma convencional para o GC contendo o fabricante 22% de PB e 87% de NDT.

A área experimental destinada aos animais foi constituída de dois piquetes de 12 hectares cada, cobertos uniformemente com *Brachiaria brizanha* cv. Marandu, providos de bebedouros e cochos cobertos com 5 metros para fornecimento do suplemento. Os animais foram pesados sem jejum no início do experimento e a cada quinze dias totalizando oito pesagens durante os meses de abril a julho, foram realizados o rodízio dos animais entre piquetes a cada 15 dias e a cada rotação os animais eram avaliados quanto o peso e escore de condição corporal (ECC) baseado na escala de 1 a 9 pontos (1= muito magra e 9= muito gorda; JEFFERIES, 1961).

No primeiro dia de cada período experimental foram realizadas coletas de amostras de forragem nos diferentes piquetes, através do corte, a 5 cm do solo, de 5 áreas delimitadas por um quadrado metálico de 0,5 x 0,5 m, escolhidos aleatoriamente para a determinação da massa de forragem seca total (MFST).

Após a coleta, as amostras de cada piquete foram pesadas e homogeneizadas, e a partir dessa forma retiradas alíquotas compostas para avaliação da MFST. A amostragem da forragem consumida pelos animais foi obtida via simulação manual do pastejo, realizada na primeira quinzena dos meses de abril a julho. As determinações da MS, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM), foram realizadas de acordo com descrições de Silva e Queiroz (2002). As análises dos teores dos microelementos Zn e Cu foram feitas em espectrofotômetro de absorção atômica, por meio de espectrofotometria reflexiva com infravermelho proximal (NIRS) (PRATES, 1998).

O período experimental teve duração total de 99 dias. Foram realizadas duas aspirações foliculares, sendo a primeira aos 59 dias (maio) de suplementação e a segunda aos 99 dias (julho) de suplementação.

Foram aspirados todos os folículos com diâmetro entre dois e oito milímetros. A lavagem da agulha e o meio de recebimento dos oócitos foi composto de DPBS (Dulbecco Modificado - Nutricell) acrescido de 5,0 UI/mL de heparina sódica (Liquemine®) e 50 mg/mL de Gentamicina (Gentocin®).

O material aspirado foi transferido para o filtro de colheita de embriões (porosidade de 75µm de diâmetro- EmCom®) e lavado com a mesma solução utilizada na aspiração. O sedimento restante no filtro foi observado em placas de *Petri* e efetuada a busca e contagem dos oócitos e posterior classificação da qualidade.

Os oócitos foram classificados de acordo com sua morfologia (número de camadas

de células do *cumulus* e aspecto do citoplasma) em Grau I (ótimo), Grau II (bom), Grau III (regular), Grau IV (ruim), atrésico (péssimo) e degenerado (morto) em função da sua morfologia e qualidade, segundo Leibfried e First (1979). Para efeito de análise estatística os oócitos foram agrupados em oócitos viáveis (grau I e II) e oócitos não viáveis (graus III e IV, oócitos atrésicos e degenerados)

O líquido folicular aspirado foi centrifugado à 1200g por 10 minutos e congelado a -15°C para posterior avaliação do estresse oxidativo através da determinação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS). As determinações de TBARS têm como fundamento a reação de duas moléculas de ácido tiobarbitúrico com uma molécula de malondialdeído, produzindo um complexo de coloração rósea, que é quantificado por espectrofotometria em comprimento de onda de 532nm (nanômetros). Esta reação ocorre à temperatura entre 90 e 100°C e em pH ácido. A metodologia utilizada foi descrita por Ohkawa, et al. (1979).

Após o descongelamento, em temperatura ambiente, alíquotas de 700 µL do líquido folicular e 1.400 µL solução de ácido tricloroacético a 10% (TCA 10%) foram centrifugadas a 1800g por 15 minutos e à temperatura de 15°C, para que ocorresse a precipitação de proteínas. Alíquotas de 1.800 µL do sobrenadante foram colocadas em tubos de ensaio juntamente com 1.800 µL de ácido tiobarbitúrico a 1% (TBA, 1%), dissolvido em hidróxido de sódio (NaOH) 0,05N, recém preparado. Os tubos contendo esta mistura foram incubados em banho fervente a 100°C por 10 minutos e resfriados depois em banho de gelo a 0°C. Os TBARS foram quantificados em espectrofotômetro, e o comprimento de onda utilizado foi de 532nm.

Este foi um experimento inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram analisados, com o auxílio do programa estatístico SAS (1999) e a análise de covariância foi feita utilizando o ganho médio diário como covariável (SNEDECOR et al., 1989), todos com nível de significância de 10%. Como não houve efeito significativo o modelo foi reparametrizado deslocando-se o grau de liberdade associado a esta fonte ao resíduo. Foram avaliados os efeitos de suplemento, coleta e as interações entre esses fatores. Os dados foram expressos na forma de média, mais ou menos erro padrão da média.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

O teor médio de PB (proteína bruta) das amostras de pastejo, obtidas via pastejo simulado durante o período experimental foi de 8,15% na MS (Tabela 3). De acordo Van Soest (1994), o crescimento dos microrganismos ruminais é comprometido quando as exigências de compostos nitrogenados deixam de ser atendidas em níveis dietéticos de PB inferiores a 7%. Sendo assim, o valor médio de PB apresentado pela forragem durante todo o experimento não foi fator limitante para o crescimento microbiano, e conseqüentemente para a utilização da fração potencialmente degradável da fibra em detergente neutro.

**TABELA 3. Composição bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv Marandu, com base na matéria seca durante o período experimental.**

Mês	MS* (%)	MM* (%)	PB* (%)	FDA* (%)	FDN* (%)	EE* (%)	Zn* (mg/kg)	Cu* (mg/kg)
Abril	33,0	6,0	8,6	36,0	69,0	1,0	21,0	8,0
Maió	34,0	6,2	8,4	36,5	70,0	1,1	20,0	6,0
Junho	35,7	6,4	7,9	37,2	71,3	1,4	15,0	5,0
Julho	37,0	6,7	7,7	37,9	72,0	1,6	15,0	5,0

\*MS (matéria seca); MM (matéria mineral); PB (proteína bruta); FDA (fibra detergente ácido); FDN (fibra detergente neutro); EE (extrato etéreo); Zn (zinco); Cu (cobre)

Em abril, o teor de PB foi de 8,6% e em julho caiu para 7,7%. Na época das águas os animais selecionam dietas mais digestíveis do que na época da seca, principalmente por terem preferência por folhas, que é a parte menos fibrosa em relação à planta inteira e ao caule. Os baixos teores de PB podem ser atribuídos à queda de produção de MS, ao mesmo tempo em que os tecidos vão se tornando de baixa qualidade, o que diminui o valor nutritivo da forragem.

Foram observadas disponibilidades de MS de 7,26 t/ha; 6,80 t/ha; 6,42 t/ha e 5,55 t/ha nos respectivos meses de abril, maio, junho e julho. Verificou-se diminuição das desses componentes no decorrer do experimento, provavelmente em virtude das condições climáticas não favoráveis. A disponibilidade média total de MS foi de 6,5 t/ha, não limitando a seletividade dos animais, uma vez que a quantidade considerada por Euclides et al. (1992) como satisfatória para não suprimir a seletividade animal é de 4,26 t de MS/ha.

Foi observado que à medida que diminuíram os teores de PB, os teores de FDN, FDA (Tabela 3) aumentaram e este fato pode ser atribuído ao processo de senescência da forragem com aumento no teor de fibra e perda de seu valor nutritivo (VAN SOEST, 1994).

Os teores de zinco e cobre das amostras da gramínea forrageira ao longo do estudo apresentaram variação (Tabela 3), com valores mais elevados no período de abril quando comparado a julho, possivelmente em decorrência de maior produção de folhas nesta época. Oliveira (2006) trabalhando com touros jovens criados a pasto com o intuito de comparar o efeito de duas fontes de zinco (quelatado e não quelatado) em diferentes concentrações (30 e 60 mg) avaliou o desempenho e características seminais durante 12 meses, em clima tropical úmido e encontrou resultados semelhantes ao do presente estudo para em gramíneas de *Brachiaria Brizantha* cv Marandu, com níveis de 17mg Zn/kg de MS na época das águas e 13 mg Zn/kg de MS de forragem na época da seca. No presente trabalho constatou-se valores próximos ao de Oliveira (2006) para época chuvosa e época da seca (20 mg/kg e 15 mg/kg respectivamente).

Em relação aos valores obtidos para o ganho médio diário não houve efeito do suplemento, todavia o ECC final ( $p=0,0592$ ) e o ECC ganho ( $p=0,0178$ ) obtiveram efeito nos animais do GS (Tabela 4), sendo esta avaliação de fundamental importância para a vida reprodutiva do animal (OSORO; WRIGHT, 1992).

**TABELA 4. Média e erro padrão (p) do peso inicial e final; ganho de peso total, ganho de peso diário, escore de condição corporal (ECC) inicial e final e ECC ganho avaliadas de vacas nelore suplementadas com minerais quelatados (GS) e suplementadas com mineral convencional (GC).**

Variável	GS	GC	p
Peso Inicial (Kg)	396,91 ± 8,48	391,00 ± 6,80	0,5895
Peso Final (Kg)	449,36 ± 10,85	436,83 ± 8,04	0,3580
Ganho de Peso Total (Kg)	2,45 ± 5,03	45,83 ± 3,08	0,2660
Ganho Médio Diário (Kg)	0,53 ± 0,05	0,46 ± 0,03	0,2660
ECC inicial	4,45 ± 0,16	4,58 ± 0,15	0,5581
ECC final	5,27 ± 0,14	4,83 ± 0,17	0,0592
ECC ganho	0,82 ± 0,18	0,25 ± 0,13	0,0178

A avaliação do ECC tem sido mais eficiente do que o peso corporal na correlação com a eficiência reprodutiva, pois o peso corporal é influenciado pela raça, horário de pesagem, tamanho do animal e estado fisiológico, enquanto que o escore corporal permite comparar animais de diferentes tipos com reduzida margem de erro (Dias, 1991).

Viana et al. (2009) relataram que o ECC/peso corporal está relacionado ao estado fisiológico dos animais. O desempenho reprodutivo de vacas de corte é altamente influenciado pelo peso e condição corporal ao parto. A nutrição em período anterior ao parto, que se reflete no ECC/peso ao parto, é o fator mais importante determinante do intervalo parto e primeiro cio/ovulação (Osoro; Wright, 1992).

Kropp et al. (1993) verificaram que fêmeas suplementadas com sal mineral contendo microelementos quelatados, como Zn, Mn, Cu e Co, apresentaram melhoria no cio e na taxa de concepção quando comparadas a outros animais que só receberam Zn, Mn, Cu e Co de sal convencional. O'Donogue (1995) encontrou efeitos significativos em vacas suplementadas com Cu e Zn quelatados na reprodução de vacas leiteiras, como, melhoria no intervalo de partos e na primeira ovulação pós-parto. Oliveira (2003) também constatou que animais suplementados com quelatos de Zn, Mn, Co e Cu, apresentaram maiores taxas de estro e concepção ao primeiro serviço, em relação aos animais que foram suplementados com Zn, Mn, Co e Cu na forma convencional.

A interação coleta e suplemento para número de oócitos totais (OOCTOT,  $p=0,07$ ) e número de oócitos viáveis (OOCVIAV,  $p=0,05$ ) mostrou efeito e quando avaliadas separadamente foi notado efeito ( $p>0,10$ ) da suplementação com minerais quelatados (zinco, cobre e selênio) para essas variáveis (Tabela 5).

Os valores obtidos na segunda coleta para a variável OOCTOT (Tabela 5) são inferiores a primeira devido ao estresse sofrido pelos animais provavelmente por estarem em época da seca e devido ao estresse nutricional do animal. Segundo Seneda *et al.*, (2000) animais submetidos a situações de estresse seriam doadores de oócitos menos competentes. Estes resultados demonstram que a suplementação com minerais quelatados se mantiveram estáveis para as variáveis OOCTOT ( $19,58 \pm 2,36$  e  $19,60 \pm 3,29$ ) e OOCVIV ( $10,91 \pm 1,98$ ) durante a primeira e segunda coleta em comparação com os animais do grupo controle respectivamente (OOCTOT  $27,2 \pm 4,3$  e  $17,6 \pm 3,1$  / OOCVIV  $17,2 \pm 3,4$  e  $8,1 \pm 1,7$ ).



**TABELA 5. Média, erro padrão da média e nível de significância (*p*) do número total de oócitos aspirados (OOCTOT) e do número de oócitos viáveis (OOCVIAV) aspirados em função da coleta em vacas Nelore criadas a pasto e suplementadas com minerais quelatados (GS) e com minerais convencional (GC).**

Parâmetro	Coleta 1 (59 dias de suplementação)			Coleta 2 (99 dias de suplementação)		
	GS	GC	<i>p</i>	GS	GC	<i>p</i>
OOCTOT	19,5 ± 2,3	27,25 ± 4,36	0,1880	19,60 ± 3,29	17,6 ± 3,1	0,6405
OOCVIAV	10,9 ± 1,9	17,6 ± 3,1	0,1286	9,80 ± 1,97	8,1 ± 1,7	0,5448

Segundo Rubin (2004), vacas nelore produzem em média 25 oócitos por sessão de aspiração folicular, valores bem acima aos encontrados nesse estudo avaliando o número total de oócitos de 24 animais analisados no presente trabalho.

Quando se avaliou o resultado obtido para o número de oócitos não viáveis (OOCNVIA) não foi observado efeito do suplemento ( $p=0,3773$ ) durante as coletas, sendo, o GS  $9,18 \pm 0,99$  e o GC  $9,73 \pm 1,16$  (tabela 6).

O estresse oxidativo mensurado através do TBARS em líquido folicular apresentou diferença de ( $p<0,10$ ). Esses resultados demonstram que animais do GC apresentam um maior nível de estresse oxidativo e provavelmente a suplementação com minerais quelatados foi eficiente na produção/controle das ROS, no qual o selênio tem a função de inativar os radicais livres derivados do oxigênio em consequência do metabolismo (Ceballos et al., 1999). Esses radicais livres causam danos à membrana celular, reduzindo a qualidade dos oócitos (Grabek et al., 1991) e isso poderia explicar a menor ação do estresse oxidativo no líquido folicular dos animais que receberam mineral quelatado.

Tendo em conta que as ROS são continuamente geradas, é crucial a neutralização destas moléculas de modo que a funcionalidade celular seja preservada. O líquido folicular reflete processos hormonais e metabólicos que ocorrem no microambiente que rodeia o oócito antes da ovulação, podendo esse estresse levar a infertilidade do animal (Marques, 2009).

**TABELA 6. Média, erro padrão da média e nível de significância (*p*) da concentração de TBARS (substância reativa ao ácido tiobarbitúrico) no líquido folicular de vacas nelore criadas a pasto e suplementadas com minerais quelatados (GS) e suplementadas com mineral convencional (GC).**

<b>Parâmetro</b>	<b>GS</b> ng/mL	<b>GC</b> ng/mL	<b><i>p</i></b>
TBARS	0,003094 ± 9,7251 x 10 <sup>-6</sup>	0,003099 ± 1,1141 x 10 <sup>-5</sup>	< 0,10

## CONCLUSÃO

O fornecimento de minerais quelatados (zinco, cobre e selênio) via suplementos proteinados para vacas Nelore influenciou positivamente o escore corporal e diminuiu o nível de estresse oxidativo mensurados no líquido folicular dos animais suplementados durante o período de transição águas-seca.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, D. C. Effect of time of supplementation on performance, forage intake and grazing behavior of yearling beef steers grazing Russian wild ryegrass in the fall. *Journal of Animal Science*. v.61, n.5, p.1037-1042, 1985.

CEBALLOS, A. Blood activity of glutathione peroxidase and its correlation with blood selenium concentration in grazing dairy cattle. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 34, n. 12, p. 2331-2338, 1999.

DIAS, F. M. G. N. **Efeito da condição corporal, razão peso/altura e peso vivo sobre o desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte zebuínas.** 1991. 100 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 1991.

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de diferentes métodos para se estimar o valor nutritivo de forragens sob pastejo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.21, n.4, p.691-702, 1992.

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 (1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada)*. FCAV/UNESP-Jaboticabal, p. 33, 2005.

GRABEK, M.; SWIES, Z.; BORZECKI, A. The influence of selenium on the reproduction of rats.1991. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>> Acesso em: 18/02/2011

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em: <http://inmet.gov.br/>, Acessado em: 18 de outubro de 2010.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. *Revista Nutricional*. v.16 no.4 Campinas Oct./Dec. p. 63, 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. p. 154-169. **New Jersey: Noyes**, 1993.

MARQUES, M. G. *Efeito da tensão de oxigênio e do meio na maturação oocitária in vitro e sua influencia no desenvolvimento embrionário em suínos*. Tese (Doutorado Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia) Universidade de São Paulo. SP. 112 f. 2009.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.

OLIVEIRA, A. R. *Efeito de Diferentes Fontes e Concentrações de Zinco na Mistura Mineral Sobre Desempenho e Características Seminais de Touros Jovens Criados em Campo*. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) Universidade Federal de Mato Grosso do Sul- MS. 37f. 2006.

OSORO, K.; WRIGHT, I. A. The effect of body condition, line weight, breed, age, calf performance and calving date on reproductive performance of Spring-calving beef cows. *Journal Animal Science*, v.70, n.6, p.1661-1666, 1992.

PRATES, P. Uso da técnica da espectrometria de reflectância no infravermelho próximo (NIRS) na predição da composição química da alfafa (*Medicago sativa* L.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.27, n.6, p.1076-1081, 1998.

RUBIN, K. C. P.; RIGO, A. G.; SCHROEDER, R. V.; SILVA, R. C. P.; MARQUES, M. O.; SENEDA, M. M. Avaliação de uma bomba de infusão contínua como geradora de vácuo para obtenção in vivo de oócitos bovinos. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões*. Barra Bonita. **Resumos**. Porto Alegre: UFRGS, 2004. v.32. p.121. 2004.

SAS. *The statistical analyze systems for windows*: version 8. **Cary**, 1999-2001. CD-Rom.

SENEDA, M.M.; ESPER, C.R.; GARCIA, J.M.; PUELKER, R.Z.; OLIVEIRA, J.A. Obtenção de embriões bovinos em um caso de obstrução uterina. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*, v.28, n.1, p.331, 2000.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. *Análise de alimentos (Métodos químicos e biológicos)*. 3ª ed. p. 235. Viçosa: UFV, 2002.

VAN SOEST, P. J. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: voluntary intake relation to chemical composition and digestibility: voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. *Journal of Animal Science*, 24:834, 1965.

VIANA, R. B.; BARUSELLI, M. S.; MONTEIRO, B. M.; PANCIERI, M. S.; BASTOS, P. F. P. J.; 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. *Revista de Ciência Animal*, v. 3, 2009.