

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO MINERAL E VITAMÍNICA INJETÁVEL
NA QUALIDADE SEMINAL E CONCENTRAÇÃO DE TESTOSTERONA EM
OVINOS**

ESTEVAM RODRIGUES DE SOUZA

Botucatu, SP
Abril – 2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO MINERAL E VITAMÍNICA INJETÁVEL
NA QUALIDADE SEMINAL E CONCENTRAÇÃO DE TESTOSTERONA EM
OVINOS**

ESTEVAM RODRIGUES DE SOUZA

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Biotecnologia Animal para
a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Eunice Oba

Botucatu, SP
Abril – 2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Souza, Estevam Rodrigues de.

Avaliação da suplementação mineral e vitamínica injetável
na qualidade seminal e concentração de testosterona em ovinos
/ Estevam Rodrigues de Souza. - Botucatu, 2023

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia

Orientador: Eunice Oba

Capes: 50504002

1. Ovinos. 2. Elementos-traços na nutrição animal.
3. Alimentos funcionais. 4. Hormônios. 5. Testosterona.
6. Sêmen. 7. Análise do sêmen.

Palavras-chave: Elementos-traço; Hormônios; Nutracêutico;
Ovinos; Sêmen.

Nome do autor: Estevam Rodrigues de Souza

Título: **AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO MINERAL E VITAMÍNICA INJETÁVEL NA QUALIDADE SEMINAL E CONCENTRAÇÃO DE TESTOSTERONA EM OVINOS**

Comissão Examinadora

Profa. Dra. Eunice Oba

Presidente e orientadora

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal FMVZ - UNESP
Botucatu /SP

Dra. Viviane Maria Codognoto

Membro titular

Autônoma

Dra. Ariane Dantas

Membro titular

Departamento de Melhoramento e Nutrição FMVZ - UNESP Botucatu /SP

Data da Defesa, 28 de abril de 2023.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a São Sebastião, que me iluminam desde sempre e me dão força para continuar sonhando e correndo atrás de meus objetivos.

Aos meus pais, Magali e Ciro, meus avós Margarida, Wilson, Basilissa e Dogival, que são minha base e me incentivam a sonhar, além de seu apoio incondicional em cada decisão tomada durante minha trajetória pessoal e acadêmica. Sou grato também pelo exemplo de caráter e de humildade, qualidades estas que me fazem admirar ainda mais cada um de vocês!

A minha irmã, Lorena, a pessoa que me faz sempre querer ser alguém melhor independente das circunstâncias e que sempre está lá, disponível para que eu possa dividir as frustrações e medos vividos.

A minha orientadora, professora Eunice, pela oportunidade dada e acreditar em mim desde o início, junto a mim enfrentar as dificuldades e sempre me aconselhar na resolução dos problemas surgidos ao longo destes dois anos, sempre muito solícita e disposta a cooperar naquilo que for preciso. Por sua pessoa fica minha mais sincera admiração e a imagem de ser humano íntegro, honesto e perseverante, exemplo a ser seguido. Seu conhecimento seja de vida ou em relação a reprodução animal sempre me guiaram por um caminho de fortalecimento e amadurecimento, a senhora sempre me contagiou com sua força de vontade em realizar o desejado, me mostrando que com perseverança é sempre possível alcançarmos os nossos objetivos. À senhora, fica minha eterna gratidão.

Aos meus amigos trazidos pela pós graduação e ao meu lado sempre estiveram: Luan, Beatriz (Sky) e Giovana, fica aqui meu reconhecimento e gratidão por todo o apoio e também ensinamentos transmitidos nessa etapa, Sei que por vezes fui genioso e mal humorado, porém sempre com muita paciência conseguiram driblar minha personalidade e acreditaram que tudo ia dar certo sempre! Juntos, nós sempre mantivemos o verdadeiro espírito de união e parceria seja na realização do meu ou demais experimentos e atividades, com certeza em sua companhia aprendi que sozinho o ser humano não vai a lugar algum.

Aos amigos feitos e os já conhecidos devido as circunstâncias da graduação feita na FMVZ: Professor Nabor, Sérgio (Askaris), Mariana (Kbrita),

Natália (Alô Alô), Flávio (Montanha ou “Zirdona”), Murilo (Daleste), Matheus (Boróca), Isabella (Japunzel) e Rafael (Preguiça), todos vocês foram de extrema importância para que hoje alcançasse tal feito, cada qual chegou em momento distinto mas um a um foram compondo a teia de amigos necessária para levar a vida, afinal o que se leva desse mundo se não os momentos vividos e as boas amizades? A cada um de vocês agradeço imensamente.

Aos funcionários do departamento: Felipe, Edilson, Cabeça e Andréia, que sempre ali estiveram para auxiliar em todo o necessário e nos divertir com seu bom humor. Ao Márcio Sarrat e Sr. Fernando responsável e proprietário da Cabanha guarantã, onde realizei a colheita de dados do experimento. Obrigado por ter me recebido de portas abertas e pronta disponibilidade. Agradeço também aos funcionários da fazenda, Willian e Marco. Aos demais professores do Departamento. Com vocês aprendi e aprendo cada dia mais.

Agradeço ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasil (código de financiamento 001) pelo auxílio financeiro e por tornar possível a realização desse trabalho.

“Os rios não bebem sua própria água; as árvores não comem seus próprios frutos. O sol não brilha para si mesmo; e as flores não espalham sua fragrância para si. Viver para os outros é uma regra da natureza. A vida é boa quando você está feliz; mas a vida é muito melhor quando os outros estão felizes por sua causa”

(Papa Francisco)

RESUMO

DE SOUZA, E. R. (2023).
AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO MINERAL E VITAMÍNICA INJETÁVEL NA
QUALIDADE SEMINAL E CONCENTRAÇÃO DE TESTOSTERONA EM
OVINOS. Botucatu, 2023, 69 p. Defesa (Mestrado) - Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal.

A pecuária brasileira tem destaque acentuado quanto a sua participação no produto interno Bruto nacional (PIB), entretanto, dentro da cadeia produtiva das proteínas de origem animal, a ovinocultura ainda se apresenta como uma atividade com pouca expressividade e tecnificação frente a outras espécies animais domesticas, desta forma seu fomento e próspero desenvolvimento é dependente de inúmeros fatores, sendo que destes o correto manejo reprodutivo da espécies , a escolha de raças autóctones ou do exterior com boa adaptabilidade para serem criadas em regiões de clima tropical e subtropical encontrados no Brasil e a correta seleção quanto a características reprodutivas de matrizes e principalmente de jovens carneiros cujos quais se deseja utilizar como reprodutores em rebanhos que buscam a constante evolução produtiva se faz muito importante. Tal cenário traz à tona a importância da realização de estudos referentes a suplementação de elementos como vitaminas e micro minerais, que embora não sejam os maiores constituintes das dietas ofertadas aos animais de interesse zootécnico, exercem grande influência não só no crescimento e desenvolvimento do tecido muscular como também podem estar positivamente correlacionados quanto aos aspectos reprodutivos . O presente trabalho objetivou a avaliação da qualidade seminal e morfometria testicular de carneiros púberes submetidos a suplementação injetável de minerais e vitaminas , sendo utilizados 30 reprodutores divididos em três grupos de dez animais cada, com delineamento dos grupos inteiramente casualizado. Ao primeiro grupo foi administrada suplementação vitamínica e mineral (Grupo VM), no segundo grupo houve apenas suplementação vitamínica (Grupo VIT) e no terceiro grupo a suplementação mineral (Grupo MIN). No presente trabalho buscou-se avaliar os efeitos da aplicação de complexo vitamínico e mineral sobre a qualidade do sêmen ovino, medidas morfométricas testiculares e alteração nas concentrações dos hormônios cortisol e testosterona.

Palavras chave: elementos-traço, hormônios, nutracêutico, ovinos, sêmen

ABSTRACT

DE SOUZA, E. R. (2023). EVALUATION OF MINERAL AND VITAMIN SUPPLEMENTATION INJECTION ON SEMINAL QUALITY AND TESTOSTERONE CONCENTRATION IN SHEEP.. Botucatu, 2023, 69 p. Defesa (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal.

Brazilian livestock has a strong emphasis in terms of its participation in the Gross National Product (GDP), however, within the production chain of animal proteins, sheep farming still presents itself as an activity with little expressiveness and technology compared to other domestic animal species. in this way its promotion and development depends on the correct methods, which are the reproductive of sheep species, the choice of indigenous or foreign breeds with good adaptability to be created in tropical and subtropical regions found in Brazil and the correct selection of selected animals and selection of products that are very important for the demand for products of constant breeding. This scenario leads to the development of important studies for the supplementation of such vitamins and trace minerals, which, although not the largest components of diets, exert a great influence not only on the growth of muscle tissues but can also be positively correlated with their reproductive aspects. The present evaluation of seminal quality and testicular morphometric of pubertal animals includes an injectable supplement of vitamins and minerals, using 30 sires distributed in three groups of animals each, with a completely random design of the products. The first supplementary group was given the mineral supplement (VM Group) in the second group only vitamin supplementation (VM Group) and the mineral supplementation group (MIN Group).

Key words: nutraceutical, semen, sheep, testosterone, trace elements

Sumário

73		
74		
75	RESUMO.....	iii
76	ABSTRACT	iv
77	2.REVISÃO DA LITERATURA	2
78	2.1 Características morfofuncionais reprodutivas.	2
79	2.2. Espermatogênese	4
80	2.3 Testosterona	6
81	2.4 Cortisol	7
82	2.5 Vitaminas	8
83	2.5.1 <i>Vitamina A</i>	8
84	2.5.2 <i>Vitamina E</i>	9
85	2.6 Minerais	11
86	2.6.1. <i>Cobre (Cu)</i>	11
87	2.6.2 <i>Zinco (Zn)</i>	13
88	2.6.3 <i>Selênio (Se)</i>	15
89	2.6.4 <i>Manganês (Mn)</i>	17
90	2.7 Suplementação injetável	18
91	3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	20
92	4 . HIPÓTESE E OBJETIVOS	20
93	4.1 Hipótese	20
94	4.2 Objetivo geral	20
95	5. REFERÊNCIAS	21
96	Capítulo 1	34
97	Resumo	35
98	1. Introdução	36
99	2.Material e métodos	38
100	2.1 Ética experimental	38
101	2.2 Local do estudo	38
102	2.3 Seleção dos animais	39
103	2.4 Procedimento de eletroejaculação	39
104	2.5 Animais do estudo e delineamento experimental	40
105	2.6 Suplementação injetável	41
106	2.7 Avaliação seminal	41

107	2.8 Morfometria testicular	42
108	2.9 Pesagem dos animais	43
109	2.10 Dosagens hormonais.....	43
110	2.11. Análise estatística	43
111	3. Resultados.....	44
112	4. Discussão	48
113	5. Conclusão.....	52
114	8 Declaração de interesse	53
115	9 Agradecimentos.....	53
116	10 Referencias	53
117		

118 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

119 A produção de proteína animal brasileira destaca-se por diversos produtos,
120 sendo um deles os produtos oriundos do rebanho ovino existente no país. Em
121 2020, segundo IBGE, o Brasil atingiu a marca de aproximadamente 20,6 milhões
122 de cabeças da espécie, valor este 3,28% superior às estimativas do contingente
123 de animais existentes no ano de 2019. Apesar deste aumento significativo e do
124 grande número de animais abatidos, o mercado interno consumidor ainda
125 necessita de importações, a fim de suprir a demanda interna que, segundo o
126 Instituto Nacional de Carnes do Uruguai (INAC), importou cerca de 2.510
127 toneladas equivalente carcaça de carne de cordeiro do Uruguai no ano de 2021,
128 devido à avidez da população brasileira por essa proteína animal.

129 A suplementação mineral tem sido apontada como uma alternativa eficaz
130 para o aumento dos índices reprodutivos em ovinos. De acordo Torres et al.
131 (2018), a adequada suplementação mineral proporciona uma melhora
132 significativa na eficiência reprodutiva, resultando em um aumento na taxa de
133 concepção e na redução da incidência de aborto em ovelhas. Além disso,
134 segundo as conclusões de Aboelenain et al. (2020), a suplementação mineral
135 balanceada, incluindo microminerais como zinco, cobre, selênio e manganês,
136 desempenha um papel essencial na regulação hormonal, desenvolvimento
137 adequado dos testículos e otimização da função reprodutiva em ovinos machos
138 Portanto, se mostrando assim como uma estratégia promissora para melhorar
139 os índices reprodutivos e a saúde reprodutiva desses animais.

140 Para aumentar os índices produtivos de ovinos, uma alternativa é a
141 melhoria em seus índices reprodutivos, Visto que a eficiência reprodutiva está
142 relacionada diretamente com a nutrição do rebanho, alternativas voltadas para a
143 melhoria no estado nutricional dos animais pode ser um ponto importante a se
144 considerar para o aumento dos índices reprodutivos e produtivos em ovinos,
145 dada que a carência nutricional leva a alterações nas concentrações hormonais
146 que irão causar danos a produção espermática (PUNAB et al., 2017), refletindo
147 significativamente na fertilidade do rebanho (GRILLO et al., 2015).

148 Dessa forma se faz necessário a suplementação vitamínico mineral, uma
149 vez que os corretos índices reprodutivos estão ligados as exigências nutricionais
150 de cada espécie, , evitando assim baixos índices reprodutivos e possibilitando

151 que animais de alto mérito genético sejam utilizados na reprodução
152 (STRADAIOLI et al., 2004; GRILLO et al., 2015).

153 A oferta de níveis ideais ou a correção de minerais em sistemas de
154 produção ovina apresenta-se como prática viável, principalmente quando é
155 desejada maximização da produtividade desta espécie animal, a correta
156 administração é de grande valia para as funções vitais, pois a carência destes
157 podem ocasionar prejuízos ao desenvolvimento e manutenção facilitando assim,
158 ocorrência de doenças e problemas reprodutivos devido à queda na fertilidade
159 de reprodutores e matrizes (SILVA SOBRINHO & SILVA, 2000).

160 Contudo, a forma como os minerais e vitaminas são ofertados aos animais
161 ainda é um problema, visto que a suplementação via dieta não é precisa em
162 relação a quantidade de ingestão ideal (referência). Métodos alternativos a
163 aplicação subcutânea ou intramuscular, vem demonstrando bons resultados e
164 tem sido caracterizada como suplementação neutracêutica (CAZAROTTO,
165 2018).

166 Assim, estudos investigando a suplementação mineral e vitamínica sobre
167 parâmetros seminais e outras características reprodutivas se fazem importantes,
168 já que a presença destes elementos, por vezes, é encontrada em quantidades
169 inferiores as exigências nutricionais de cada espécie na dieta ofertada. Por sua
170 vez a suplementação destes é manejo nutricional comum dentre os pecuaristas
171 e pode trazer uma série de benéficos tanto a produção quanto a reprodução
172 animal. A suplementação injetável, ou neutracêutica traz vantagens quanto a sua
173 forma de administração, principalmente relacionas a sua efetividade e garantia
174 da quantidade de composto disponibilizado aos organismos, permitindo assim
175 precisão nas análises de dados e a importância que estes compostos podem
176 trazer de maneira benéfica contribuindo para a reprodução e consequente
177 desenvolvimento da cadeia ovinocultura brasileira.

178

179 **2.REVISÃO DA LITERATURA**

180 **2.1 Características morfofuncionais reprodutivas.**

181 Nas espécies mamíferas de interesse zootécnico, os testículos
182 apresentam subdivisão em dois compartimentos dadas suas características
183 morfológicas funcionais (MURTA, 2013). A primeira subdivisão trata-se de
184 compartimento tubular responsável por cerca de 85% de todo o volume

185 testicular, este é constituído por epitélio germinativo e enovelamento de
186 estruturas internas (Queiroz & Cardoso, 1989; Wrobel al., 1995, Murta, 2013)
187 enquanto que o segundo compartimento trata-se do espaço intertubular,
188 constituído por tecido conjuntivo que abriga vasos linfáticos e sanguíneos,
189 nervos e as células de leydig (SETCHELL, 1991).

190 Na espécie ovina, o período de maior desenvolvimento corpóreo ocorre
191 entre as fases pré-púbere e de maturidade sexual, período marcado também
192 pelo aumento da circunferência escrotal, importante medida associada a
193 precocidade sexual e qualidade do sêmen, fatores estes que são correlatos e
194 de grande importância quanto a avaliação e potencial reprodutivo de machos
195 que se destinam a reprodução (HOCHEREAU-DE-REVIERS et al., 1990).

196 Em comparação a outras espécies ruminantes, a puberdade ocorre de
197 maneira precoce nos borregos, por volta dos 6 meses, e está ligada a fatores
198 como raça, visto que animais lanados tendem a maior precocidade sexual que
199 animais deslanados, grupo genético, linhagem e também ao peso corporal,
200 sendo que para a detecção do início da puberdade se faz necessário uma
201 avaliação andrológica, onde os animais devem apresentar padrões espermáticos
202 mínimos como motilidade superior a 10% e concentração de 50×10^6
203 espermatozoides/ml. (SAAED & ZAID, 2018).

204 A espécie expressa algumas características fenotípicas que podem servir
205 como indicativo das condições reprodutivas, fatores estes que tornam importante
206 a criteriosa seleção dos machos que se deseja utilizar como reprodutores, já que
207 os indivíduos dotados de alto desempenho reprodutivo, provavelmente servirão
208 a maior número de fêmeas em breve período de tempo, aumentando a
209 disseminação de material genético e trazendo maior retorno produtivo e
210 consequentemente financeiro ao produtor (referência).

211 Dentre as características relacionadas ao bom desempenho, aquelas
212 correlacionadas com as medidas testiculares devem ser bem avaliadas, pois são
213 de fácil aferição e podem predizer dados importantes como a produção
214 espermática desses animais (SNOWDER et al., 2002; MAIA et al. 2011). Em
215 bovinos, por exemplo, as medidas de perímetro escrotal não só trazem
216 importantes informações sobre o estado reprodutivo do animal, como tem forte
217 correlação genética com as fêmeas aparentadas em características como
218 precocidade sexual e idade ao primeiro parto (BOLIGON et al., 2008).

Nos ovinos o tamanho da circunferência escrotal tem sido amplamente reconhecido como um importante indicador da capacidade reprodutiva desses animais (MOGHADDAM.,2012). Segundo Silva et al. (2002), a circunferência escrotal está positivamente correlacionada com parâmetros reprodutivos, como a produção de sêmen, o volume ejaculado e a concentração espermática. Além disso, a circunferência escrotal está associada à precocidade sexual, sendo um fator determinante na seleção de reprodutores com maior potencial reprodutivo, dessa forma desempenhando papel crucial na avaliação da qualidade reprodutiva desses animais (MEZA-HERRERA et al, 2022)

Outro fator importante é a qualidade seminal, medidas pertinentes a este requisito devem ser: cor pérola e volume do ejaculado variável de 0,5 a 2,5 mL, enquanto que a concentração espermática pode variar de dois a cinco bilhões de espermatozoides por mL. Sob boas condições de higiene e bom escore corporal, é possível que sejam observados ejaculados com valores acima de 90% de motilidade e concentrações espermáticas acima de 3 bilhões (MAIA et al. 2011).

235

236 **2.2. Espermatogênese**

A espermatogênese é um processo complexo de formação dos espermatozoides nos túbulos seminíferos dos testículos. Em ovinos, essa fase tem uma duração média de 42,3 dias, enquanto o ciclo do epitélio seminífero, que envolve a multiplicação e a diferenciação das células germinativas, tem uma duração média de 10,5 dias (RIVIERIS et al., 1987). A microarquitetura do parênquima testicular desempenha um papel fundamental na regulação desse processo espermatogênico. A relação existente entre os diferentes tipos celulares presentes nos túbulos seminíferos, influenciada diretamente pela dieta do animal, desempenha um papel importante na regulação e no controle do processo espermatogênico (YANG et al., 2020).

A espermatogênese em ovinos segue um processo composto por três etapas distintas, determinadas pelas alterações morfofuncionais das células envolvidas (AMANN e SCHANBACHER, 1983). A primeira etapa é conhecida como fase proliferativa, na qual ocorre a multiplicação celular por meio de mitose das células espermatogoniais do tipo A. Essa multiplicação é essencial para gerar novas células, que podem se diferenciar em espermatogônias tipo B e dar

253 continuidade ao processo espermatogênico, enquanto outra parte é preservada
254 para futuras multiplicações. Ao final dessa etapa, as células do tipo B passam
255 por mitose e dão origem aos espermatócitos primários em pré-leptóteno
256 (JONHSON et al., 2000).

257 Durante a etapa meiótica, que constitui a segunda fase do processo
258 espermatogênico, os espermatócitos primários passam por uma primeira divisão
259 meiótica reducional, resultando na formação de espermatócitos secundários.
260 Esses espermatócitos secundários, por sua vez, sofrem uma nova divisão
261 meiótica, dando origem às espermátides arredondadas (AMANN e
262 SCHANBACHER, 1983). Na terceira fase, conhecida como espermiogênese,
263 cada espermátide arredondada passa por mudanças morfológicas e diferencia-
264 se em espermátides alongadas. Durante esse processo, ocorre o
265 desenvolvimento do flagelo e do acrossoma, transformando as espermátides em
266 espermatozoides funcionais que podem ser liberados no lúmen dos túbulos
267 seminíferos por meio da espermiação (JOHNSON et al., 2000).

268 De acordo com Martins et al. (2008), o peso testicular e a circunferência
269 escrotal em carneiros exercem uma influência direta sobre os aspectos
270 espermatogênicos do animal. Existe uma relação de proporcionalidade entre o
271 volume e o comprimento dos túbulos seminíferos, o número de células de Sertoli,
272 espermatogônias tipo A, espermatócitos em paquíteno, espermátides
273 arredondadas por seção de túbulo seminífero e por testículo, bem como o
274 número de espermátides por célula de Sertoli e por espermatogônia tipo A.
275 Esses fatores são importantes para o entendimento e a avaliação da
276 espermatogênese em ovinos.

277 De acordo com Boujrad et al. (1995), o número de células de Sertoli e
278 espermatogônias desempenham um papel crucial no controle da produção diária
279 de espermatozoides. As células de Sertoli iniciam seu desenvolvimento durante
280 a fase fetal e aumentam em quantidade aproximadamente cinco vezes até a
281 puberdade (RIVIERS et al., 1987). Esse número pode ser influenciado pela
282 composição e quantidade de alimento fornecido à mãe durante a gestação,
283 afetando também a contagem total de células durante a fase adulta do animal e,
284 consequentemente, reduzindo a produção de espermatozoides (CIGANKOVA,
285 1983)

286

287 **2.3 Testosterona**

288 Os hormônios esteroides tem importante função na manutenção e correto
289 funcionamento testicular e conseqüentemente do sistema reprodutor masculino,
290 além de influenciar características fenotípicas como características corporais
291 masculinas típicas de machos adultos (FRIENDEN & LIPNE, 1975).

292 A testosterona é hormônio composto por 19 átomos de carbono e tem sua
293 produção nas células de Leydig presentes nos testículos, sendo controlada pelo
294 hormônio luteinizante (LH), gonadotrofina produzida na hipófise
295 (STABENFELDT & EDQVIST, 1993). Segundo Veeramachaneni et al. (1986) um
296 fator de manutenção e regulação produzido pelas células de Sertoli é
297 responsável pelo controle das células de Leydig, sendo citado fator
298 correlacionado a retroalimentação local dos túbulos seminíferos e interstício
299 testicular, tendo a capacidade de modular em maior ou menor sensibilidade as
300 células de Leydig ao LH circulante. A produção de testosterona se dá a partir de
301 uma relação entre as células de Sertoli e de Leydig no que diz respeito à
302 produção e liberação de testosterona, a qual tem fundamental importância no
303 processo da produção de espermatozoides (PINEDA, 1989).

304 Sua presença estimula o crescimento e desenvolvimento testiculares,
305 além de atuação nos últimos estágios da espermatogênese, prolongando a vida
306 útil das células espermáticas durante sua permanência no epidídimo e
307 promovendo desenvolvimento da atividade secretora dos órgãos acessórios
308 masculinos (AGUIAR et al, 2006)).

309 A testosterona atua também na presença ou não de libido que os machos
310 apresentam e conseqüentemente no número de coberturas que o reprodutor
311 pode realizar em regimes onde a estação de monta é realizada de forma natural
312 (HAFEZ & HAFEZ, 2004; GUYTON & HALL, 2021). Segundo Pacheco e Quirino,
313 (2010), ovinos machos sexualmente maduros tem seu comportamento sexual
314 influenciado em maior parte pelos níveis de testosterona plasmática do que
315 propriamente por estímulos externos, como a exposição a fêmeas. Além disso,
316 animais que contem maiores concentrações de testosterona, investem maior
317 parte do seu tempo junto ao rebanho expressando comportamentos
318 relacionados a reprodução como monta e número de ejaculações efetuadas
319 (PACHECO et al, 2010).

320

321 **2.4 Cortisol**

322 A definição de estresse pode ser dada a partir de alterações na
323 homeostasia do organismo que estão associadas a alterações que podem
324 ocorrer a nível de hormonal, de receptores, enzimas e metabólitos. Tendo como
325 consequência ocorrem alterações bioquímicas, imunológicas, comportamentais
326 e produtivas. De modo geral, a definição de estresse fisiológico é dada como
327 alteração dos níveis plasmáticos de cortisol (MÖST & PALME, 2002).

328 Na espécie ovina, os valores basais de cortisol podem variar entre 6
329 ng/mL e 20 ng/mL (ENCARNAÇÃO, 1989; MINTON et al., 1995). É grande o
330 número de manejos que se pode realizar rotineiramente junto aos animais e que
331 se associam ao estresse e ao aumento da concentração de cortisol
332 (FULKERSON & JAMIESON, 1982; GOREWITT et al., 1992; TANCIN et al.,
333 1995). Pode-se citar entre eles desmame, a vacinação e o casqueamento, e
334 outras atividades, que são correlacionadas negativamente ao incremento de
335 cortisol plasmático (RUSHEN et al., 2001; NEGRÃO et al., 2003).

336 Starling et al., 2005 ao realizar estudo utilizando carneiros da raça
337 Corriedale, verificou que aqueles animais submetidos ao estresse térmico
338 apresentaram maiores concentrações de cortisol (50,5 ng/mL) quando em
339 comparação aos animais que não foram submetidos ao mesmo agente
340 estressor. Já Hargreaves & Hutson (1990), ao se valerem da tosquia como
341 agente estressor, observaram picos de cortisol que chegaram a 26,3 ng/mL,
342 nível inferior ao verificado no estudo com estresse pelo calor. Dentre as diversas
343 formas aferição da capacidade da resposta de animais domésticos frente às
344 situações consideradas estressantes, a administração exógena de hormônio
345 adrenocorticotrófico (ACTH) se mostra a mais eficiente, pois tal hormônio
346 estimula o córtex da adrenal a aumentar a secreção de cortisol, que rapidamente
347 desencadeia uma série de efeitos metabólicos propiciando condições
348 necessárias para que a homeostasia seja restabelecida (MORMÈDE et al.,
349 2007). Diversos experimentos já foram realizados e provaram a associação entre
350 a administração exógena de ACTH e o estresse em animais (NEGRÃO et al.,
351 2004). Diferentes estudos foram executados chegando à conclusão que colheita
352 de sangue realizada 60 minutos após a indução do estresse é interessante para
353 detectar-se a máxima concentração do hormônio (SHAMAY et al, 2000), como

354 verificado para bovinos (PACAK & PALKOVITS, 2001; NEGRÃO et al., 2004),
355 caprinos (TOERIEN et al., 1999) e ovinos (RODRIGUES, 2010).

356

357 **2.5 Vitaminas**

358 As vitaminas, são compostos orgânicos que possuem distintas funções no
359 organismo animal, dentre eles são importantes na atuação de cofatores de
360 enzimas ou elementos reguladores. Muitos dos processos metabólicos que
361 ocorrem são desencadeados ou até mesmo controlados por diferentes grupos
362 vitamínicos (GUILLAND et al., 1995)

363 A depender da ocasião, torna-se necessária a suplementação de vitaminas,
364 aumentando assim seus valores junto ao organismo. Isso ocorre principalmente
365 em casos onde há problemas que atentem contra a higidez e sanidade animal.
366 Ao realizar ensaios ou experimentos onde se tem como foco respostas
367 imunológicas a fim de dimensionar o efeito das vitaminas, as exigências se
368 mostram superiores as utilizadas apenas medidas de produção ou reprodução
369 (MAVROMICHALIS et al, 1999).

370

371 **2.5.1 Vitamina A**

372 A vitamina A desempenha papel crucial na saúde e no funcionamento
373 adequado de organismos animais. É essencial para a visão, o crescimento, a
374 reprodução e a saúde imunológica. Embora seja encontrada em alimentos de
375 origem animal, como fígado, ovos e laticínios, também pode ser obtida a partir
376 de fontes vegetais, uma vez que as plantas contêm carotenoides, precursores
377 da vitamina A (MEDEIROS & PAULINO, 1999)

378 Segundo Tanumihardjo (2015), os carotenoides encontrados em vegetais
379 são convertidos em retinol pelo organismo, suprimindo as necessidades de
380 vitamina A. Além disso, a ingestão de carotenoides está associada a benefícios
381 à saúde, como a redução do risco de doenças crônicas e o fortalecimento do
382 sistema imunológico (KRINSKY et al., 2003)

383 Nos organismos vegetais, que são as principais fontes de alimento para
384 ruminantes, não existe retinol e sim seus precursores, dentre eles o mais
385 comum é o betacaroteno. Infelizmente apresenta-se muito sensível ao
386 processamento como, por exemplo, a ensilagem e fenação, bem como longos
387 períodos de armazenagem das plantas reduz seu teor, sendo sua quantidade

388 variável dentre os diferentes grupos de alimentos utilizados na alimentação
389 animal (CLEMENS et al.,1982)

390 Medeiros & Paulino (1999), descreveram a vitamina A como essencial a
391 multiplicação e desenvolvimento das células epiteliais, enquanto Livera et al.
392 (2002) observaram que esta vitamina tem importante atuação de proteção junto
393 ao epitélio germinativo de machos e na estabilização da integridade de
394 membranas celulares, quando combinada com vitaminas do complexo D e E tais
395 ações são reforçadas, havendo também evidências que o precursor da vitamina
396 A, o betacaroteno, quando em atuação junto aos microminerais zinco e
397 manganês estão envolvidos na esteroideogênese (MARTIN-RILLO, 1982; SMITH
398 & AKINBAMIJO, 2000).

399 Dentre as desordens reprodutivas que estão relacionadas a deficiência de
400 vitamina A em animais de produção, podemos notar inibição da
401 espermatogênese, redução no tamanho testicular, alta mortalidade embrionária,
402 diminuição da produção de hormônios esteroides e redução da libido,
403 principalmente em animais jovens, uma vez que a deficiência destas vitaminas
404 pode atrapalhar o seu correto desenvolvimento corporal (SMITH &
405 AKINBAMIJO, 2000).

406 Experimentos utilizando machos suínos deficientes em vitamina A, foi
407 possível observação de atrofia testicular e mudanças qualitativas relacionadas a
408 espermatogênese, chegando inclusive a sua interrupção total (PALLUDAN,
409 1963). Appling e Chytil (1981), puderam observar que camundongos que
410 apresentavam essa avitaminose, sofreram drástica diminuição nos níveis basais
411 de testosterona.

412 Em ratos, tal deficiência levou a uma paralisação total no processo de
413 espermatogênese, o que resultou em túbulos seminíferos que apresentaram em
414 seu conteúdo apenas células de Sertoli, espermatogônia e alguns
415 espermatócitos, sendo o quadro reversível a partir da administração de retinol,
416 fazendo com que a espermatogênese fosse reestabelecida e voltando a taxas
417 idênticas a de ratos machos que não foram privados de vitamina A (VAN PELT
418 & ROOIJ, 1990).

419

420 2.5.2 *Vitamina E*

421 Também pertencente ao grupo das vitaminas lipossolúveis, a vitamina E
422 apresenta alta sensibilidade a tratamentos térmicos e processos de
423 armazenagem e fermentação. Nas silagens de milho, por exemplo, têm-se
424 reduções variáveis de 20 a 80% nos teores deste composto orgânico após o
425 processo de ensilagem (SILVA, 2021), sendo que na soja tostada há perdas
426 quase que totais de seus tores de vitamina E.

427 O complexo vitamínico E inclui um grupo de compostos lipossolúveis,
428 tocoferóis e tocotrienóis, que tem função antioxidante e auxiliam na defesa do
429 organismo contra a ação do estresse oxidativo (BATISTA et al, 2007)., Na família
430 desta vitamina, o α -tocoferol é o que se se encontra em maior abundância, além
431 de nutricionalmente ser o membro mais importante do grupo da vitamina E,
432 apresentando maior atividade biológica quando comparado aos demais
433 compostos, devido ao maior índice de absorção intestinal, maior deposição nos
434 tecidos, menor excreção fecal, além de ser oxidado mais lentamente
435 (MACPHERSON,1994). Este composto é importante antioxidante com ação
436 direta sobre a quebra de cadeias que impedem a reação e propagação de
437 espécies reativas de oxigênio (ROS) (MARDONES et al., 2002).

438 Segundo Surai et al. (1998) as vitaminas do grupo E são constituintes
439 primários do sistema antioxidante dos espermatozoides, além de fornecer
440 proteção as membranas contra a peroxidação lipídica. Sua suplementação
441 injetável mostrou ter forte correlação com o aumento significativo na produção e
442 concentração de espermatozoides em diferentes espécies como os suínos
443 (BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA et al., 1995), coelhos (YOUSEF et al., 2003) e
444 carneiros (LIU et al., 2005).

445 Quando há deficiência de vtamina E, pode ocorrer sérios danos nos órgãos
446 reprodutivos como degeneração de espermatogônias e túbulos seminíferos,
447 além de danos testiculares (WU et al., 1973; WILSON et al., 2003). O acúmulo
448 excessivo de espécies reativas de oxigênio nas estruturas das membranas leva
449 a mudança na permeabilidade da mesma e conseqüentemente a desintegração
450 de importantes organelas celulares como, por exemplo, mitocôndrias e retículo
451 endoplasmático, dessa forma levando a prejuízos da estrutura celular e até
452 mesmo destruindo as membranas pela interação com biomoléculas que também
453 podem induzir ao estresse oxidativo devido à alta reatividade (MULLER &
454 OHNESORGE, 1982; YUE et al, 2009).

Os testículos são exemplos de órgão que podem ser drasticamente afetados por esta ação, uma vez que em sua composição está a alta prevalência de ácidos graxos poli-insaturados e por terem defesas antioxidantes consideradas deficientes, tornando-se assim muito mais vulneráveis a lesões por peroxidação do que outros tecidos (JACKSON et al., 1989)

Estudos realizados por Liu et al. (2005), e demonstraram a importância e efetividade da suplementação da vitamina E como antioxidante natural atuante na prevenção de anormalidades de caráter funcional relacionadas ao estresse oxidativo testicular. Além disso, quando falamos da espécie ovinas a suplementação dietética de vitamina E consegue melhorar a qualidade seminal da espécie tanto em sêmen fresco quanto congelado, atuando também junto ao maior desenvolvimento dos órgãos reprodutores em animais jovens (OZER KAYA et al, 2020)

2.6 Minerais

Os minerais são considerados matéria inorgânica, sendo dessa forma não sintetizados pelos organismos animais, de modo que suas necessidades básicas sejam atendidas a partir da nutrição (JARDIM, 1976), Estes nutrientes são fundamentais pela sua participação em 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 representam muito pouco, apenas cerca de 5% do peso total do corpo, mesmo assim, tem grande influência na produção animal, acarretando acréscimos ou decréscimos nas atividades de desenvolvimento e reprodução (FILAPPI et al., 2005).

2.6.1. Cobre (Cu)

O cobre é mineral essencial para o funcionamento adequado de organismos animais. Ele desempenha diversas funções vitais, incluindo o metabolismo energético, a síntese de colágeno, a formação de pigmentos e a função do sistema imunológico. Embora seja encontrado em alimentos de origem animal, também pode ser obtido a partir de fontes vegetais, uma vez que as plantas contêm quantidades variáveis de cobre. (DURAN et al., 2010)

488 Segundo Pesch et al. (2017) a deficiência de cobre pode levar a distúrbios
489 no desenvolvimento ósseo, diminuição da atividade antioxidante e
490 comprometimento da função imunológica em animais. Além disso, a falta de
491 cobre pode resultar em distúrbios reprodutivos e afetar negativamente a
492 qualidade do leite e da carne (TVRDA et al., 2015).

493 A deficiência de este mineral representa grave problema na nutrição
494 animal ao nível mundial, principalmente em sistemas onde os animais são
495 criados de maneira extensiva, consumindo como principal fonte de alimento as
496 forragens. Estudo realizado pelo *National Animal Health Monitoring Service*
497 classificou que em média 40,6% do gado de corte componente do rebanho dos
498 EUA se enquadra como deficiente em cobre. Valores semelhantes a este até
499 superiores foram relatados por Ramirez et al (1998), na Bacia do Rio Salado na
500 Argentina, em uma área de aproximadamente 55.793 km² com rebanho de 6,5
501 × 10⁶ bovinos de corte.

502 De Brum (1980) encontrou níveis aproximados de 3,5ppm em amostras de
503 capim oriundas da região brasileira do pantanal mato-grossense, tal localidade
504 apresenta baixos níveis deste mineral, conseqüentemente levando a baixas
505 concentrações presentes nas graminhas ali existentes, sejam elas nativas ou
506 introduzidas.

507 Em ovinos, o excesso de Cu pode levar a quadros de intoxicação, visto sua
508 menor exigência quanto a esse mineral em sua dieta (BOROBIA, et al 2022) As
509 necessidades requeridas diárias de cobre em carneiros e ovelhas é variável de
510 3 a 4 ppm a depender da categoria animal, sendo que sua absorção se dá no
511 duodeno com aminoácidos ou pequenas proteínas (NRC, 2007).

512 Quando ofertado em altos níveis na dieta, este tende a se acumular no
513 fígado, pois os ovinos não possuem capacidade de aumentar a excreção biliar
514 de Cu, atingido em certo momento o limiar de saturação e a partir deste , além
515 de danos hepáticos, o excesso deste pode penetrar as hemácias e causar
516 hemólise e conseqüente liberação de hemoglobinas, levando a insuficiência
517 renal e, em casos mais severos, ao óbito (ORTOLANI, 2002). Apesar de altos
518 níveis de cobre ser tóxico aos ovinos, problemas nutricionais e
519 conseqüentemente reprodutivos por vezes podem ocorrer em situação onde há
520 carência deste mineral nas dietas ofertadas, sendo que diferentes raças ovinas
521 apresentaram alterações quanto ao metabolismo deste elemento, enquanto

522 algumas raças têm maior facilidade para seu acúmulo no organismo, outras
523 mostraram menor capacidade para sua retenção (FERREIRA et al. 2008)

524 O cobre tem grande importância na pecuária, uma vez que está envolvido
525 em vários processos biológicos, especialmente como parte integrante de
526 enzimas que funcionam em vários processos importantes, incluindo produção de
527 energia, defesa oxidante, reticulação de proteínas da matriz extracelular, função
528 imunológica e mobilização (TURSKI & THIELE, 2009). Além disso, possui
529 correlação com componentes estruturais de macromoléculas que atuam como
530 centro de coordenação motora, e também como componente de diversas
531 enzimas com função catalítica, enzimas estas que incluem superóxido-
532 desmutase cujo papel na reprodução dos machos já foi citado, o cobre está
533 envolvido em reações bioquímicas, especialmente nos processos de oxidação-
534 redução (PROHASKA, 2006).

535 A deficiência de cobre tem sido associada a distúrbios reprodutivos,
536 incluindo baixa fertilidade, longo período pós-parto de retorno ao estro e aumento
537 do número de serviços por concepção (TURSKI & THIELE, 2009). Entretanto,
538 muitos dos efeitos tóxicos do Cu, incluindo o aumento dos níveis de LPO nas
539 membranas celulares e danos ao DNA, estão relacionados ao seu papel na
540 geração de ROS (BREMNER, 1998). A influência negativa de altas
541 concentrações de Cu no sêmen foi relatada na motilidade e viabilidade de
542 espermatozoides em outras espécies de ruminantes como os búfalos
543 (TABASSOMI & ALAVI-SHOUSHTARI, 2013).

544

545 2.6.2 Zinco (Zn)

546 Dos elementos intracelulares, o Zn é considerado o mais abundante e o
547 segundo maior em abundância no corpo das espécies, ficando atrás apenas do
548 ferro (Fe). Este micromineral é componente de diversas enzimas além de ter
549 funções catalíticas, participar da estruturação, regulação do organismo e ter
550 também importância quanto a divisão celular e interpretação do código genético
551 e sistema imunológico.

552 Dentre as espécies de interesse zootécnico, os monogástricos
553 (principalmente aves e suínos) têm maior tendência a apresentarem deficiências
554 de tal mineral em razão do fitado que é adicionado junto a sua dieta e
555 especialmente quando combinado com excessos de cálcio, havendo assim

importantes reduções na disponibilidade de Zn dietético (HERDT & HOFF, 2011).

Em ruminantes, sua deficiência não chega a ser problema clínico uma vez que o fitato tem sua digestão feita pela microbiota ruminal, sendo o risco de tal deficiência geralmente associado em maior proporção com animais criados em sistemas extensivos (HILL & SHANNON, 2019).

Sua principal fonte em alimento são as forrageiras, fontes de alimento estas que caso não tenham sido devidamente manejadas quanto ao solo em que se encontram, podem apresentar severas deficiências deste importante micromineral. Além disso, cortes sucessivos de culturas forrageiras sem o correto manejo de correção e reposição de nutrientes do solo parecem ter associação com a diminuição crescente nas concentrações de Zn (WHITE, 1994)

O zinco tem reconhecida função junto a reprodução animal, principalmente no que se refere a machos, sendo que sua correta suplementação na dieta animal confere aos indivíduos função reprodutiva normal, principalmente durante a espermatogênese e formação testicular (MAYASULA et al, 2020). Essa atuação no sistema reprodutor masculino se dá principalmente devido à maturação das células germinativas nos espermatozoides, expressão de receptores de hormônios esteroides e a síntese de proteínas atuantes como cofator de metaloenzimas envolvidas na transcrição de DNA, além da produção de hormônios sexuais como testosterona e hormônio liberador de gonadotrofinas (HAMBIDGE et al., 1986; BEDWAL et al., 1991; FAVIER, 1992; HAMDÍ et al., 1997).

Ovinos machos tratados com suplementação injetável de Zn, apresentaram efeito crescente de motilidade, proporção de espermatozoides vivos em seus ejaculados e maior proporção de membranas acrossomais intactas (KENDALL et al. 2000) Além disso, a adição de 150 ppm de Zn na forma de sulfato na ração de carneiros teve forte correlação com aumento do volume ejaculado, motilidade progressiva, contagem de espermatozoides e diminuição de espermatozoides com defeitos maiores após período experimental de 60 dias, tempo da espermatogênese completa em machos da espécie ovina (FADL et al, 2022)).

Kumar et al. (2006) ao utilizar 30 ppm de sulfato de zinco em adição a dieta de touros cruzados, obtiveram aumento significativo no volume de sêmen,

590 elevação da qualidade seminal e concentração sérica de testosterona quando
591 em comparação a animais que compunham o grupo controle.

592 A ação do zinco junto as características reprodutivas ocorrem através da
593 ativação e manutenção do epitélio germinativo dos túbulos seminíferos,
594 estimulando assim a produção e secreção de testosterona que, exerce influência
595 na espermatogênese (WONG et al., 2002). Cordeiros suplementados junto a sua
596 dieta com 17,4 e 32,4 mg de Zn/kg de ração em aumentaram significativamente
597 o desenvolvimento de seus testículos e sua produção espermática
598 (UNDERWOOD; SOMERS, 1969).

599 Segundo Fraker e King (2004) e Nagalakshmi e colaboradores (2009), os
600 sinais clínicos iniciais de deficiência de zinco em ovinos geralmente são o baixo
601 consumo alimentar, crescimento diminuto ou sua estagnação, levando a animais
602 de pequeno porte, lesões do tegumento, distúrbios no sistema imune, bem como
603 anormalidades na pele que geralmente incluem a perda de pelo e espessamento
604 da pele, rachaduras e fissuras.

605

606 2.6.3 Selênio (Se)

607 Nos animais que se destinam a produção animal, a dosagem de Se pode
608 ser determinada em amostras de sangue total ou pelo soro sanguíneo, sendo
609 nas amostras de sangue total possível a quantificação das suas frações séricas
610 e seus padrões cinéticos e homeostáticos de cada fração diferentes.

611 Nos eritrócitos o selênio da maioria das espécies está presente
612 principalmente na forma de Glutathione peroxidase (GPx), sendo a
613 suplementação deste mineral capaz de melhorar a atividade desta glutamina,
614 cuja concentração é diretamente afetada pela disponibilidade de Se dietético
615 (KOLLER et al., 1984; SHI et al. 2010).

616 O Se um elemento essencial na realização de variadas e importantes
617 funções do organismo tais como crescimento, reprodução, atividade
618 imunológica, prevenção de doenças e manutenção da integridade das células e
619 dos tecidos (MCDOWELL, 1992; BOLAND, 2003).

620 Tanto em ruminantes como em não ruminantes, a absorção das diversas
621 formas de Se disponíveis se dão de maneira facilitada, digeridas no intestino
622 delgado, as várias formas de selênio são facilmente absorvidas no intestino
623 delgado. Selenocisteína e selenometionina são absorvidos através de um

624 mecanismo de transporte aminoácido ativo, enquanto o selenito é absorvido por
625 difusão simples e o seleneto de sódio por transportador partilhado com sulfato
626 (BARCELOUX, 1999). Nenhum controle homeostático da absorção de selênio
627 foi identificado ou presumivelmente existe porque as concentrações de selênio
628 na dieta ou o status do selênio no corpo não tem nenhum efeito aparente sobre
629 a sua eficiência de absorção (VENDELAND et al., 1994). Dentre os ruminantes,
630 bovinos e ovinos são aqueles que tem menor absorção de selênio, com maior
631 variação do que espécies não ruminantes. As dietas ofertadas a estes animais e
632 que contém elevados teores de enxofre, chumbo e cálcio são causadoras da
633 redução de absorção do selênio (SPEARS, 2003).

634 Interessante é a correlação do Se para com vitaminas do complexo A e,
635 uma vez que ambos têm ação antioxidante, as deficiências simultâneas destes
636 podem amplificar os sinais deficitários do mineral. Além disto, sua deficiência
637 afeta diretamente o sistema de captura dos radicais livres, podendo ser
638 facilmente notado já que se expressa na forma de distrofia muscular, doença
639 nutricional “selênio-sensível” acometendo com maior facilidade animais jovens,
640 tal miopatia é tipicamente associada com a peroxidação excessiva de lipídios,
641 resultando em degeneração e necroses (ARTHUR, 1998). Segundo Spears,
642 (2000) as mastites originárias em ruminantes demonstraram ser responsivas ao
643 selênio.

644 A suplementação de selênio pode melhorar a qualidade seminal, proteger
645 a integridade do sistema de membrana e a proliferação de células-tronco
646 espermatogônias (SHI et al. 2010). Shi et al., (2010), relataram que a
647 suplementação dietética de curto prazo de levedura enriquecida com Se em
648 machos caprinos adultos melhorou os parâmetros do sêmen (volume,
649 motilidade, viabilidade e concentração), status antioxidante do plasma seminal e
650 diminuiu a taxa de anormalidade dos espermatozoides. Em outro experimento,
651 a suplementação de Se aumentou o nível testicular de Se, as atividades de GSH-
652 px e ATP-ase no sêmen, mas não teve efeito significativo na qualidade do
653 sêmen, como volume, densidade, motilidade e pH do sêmen observado em
654 bodes (SHI et al., 2010).

655 Mahmoud et al. (2013), mostraram que a quantidade e qualidade do sêmen
656 (movimento de massa e porcentagem de células vivas e mortas) e a quantidade
657 (volume e concentração do sêmen) melhoraram com a adição de Se na dieta.

Além disso, a injeção da combinação de selenito de sódio e vitamina E dada duas vezes por semana durante 1 mês resultou em maior GSH-px e testosterona sérica em carneiros (MAHMOUD et al, 2013).

661

2.6.4 Manganês (Mn)

O manganês tem acentuada atuação no sistema enzimático, afetando uma abundância de processos bioquímicos, incluindo nutrientes como carboidratos, gorduras e disponibilidade e utilização de proteína. Tal componente inorgânico também está ligado no processo de desenvolvimento do tecido ósseo e de sua manutenção, atuando principalmente nas glicotransferases que estão envolvidas na síntese de glicoaminoglicanos e glicoproteínas dos ossos e da matriz cartilaginosa (LEACH et al., 1997). Por meio de sua atuação na enzima Superóxido Dismutase mitocondrial, o Mn desempenha importante papel na extinção de radicais livres e a proteção contra danos oxidativos nos tecidos, incluindo aqueles presentes no sistema reprodutor (ABDALLA, 2016).

Apesar de ser um dos elementos encontrados em menor quantidade, tem ampla distribuição por todo o organismo animal, sendo que suas maiores concentrações podem ser notadas junto ao fígado, rins e pâncreas, tendo sua homeostase controlada a partir de absorção e excreção (ROMERO et al, 2019)

Dada no intestino, a absorção de manganês normalmente atinge baixas taxas, de no máximo 10% para a maioria das espécies, porém com alta variabilidade a depender das concentrações dietéticas ofertadas, sendo a efetividade de absorção altamente influenciável pelas necessidades fisiológicas do indivíduo. Quando absorvido em excesso, sua excreção se dá principalmente por via biliar. (MARQUES, 2017)

Gramíneas e leguminosas geralmente ofertam bons valores de Mg disponível, sendo que o contrário ocorre com silagens de milho, uma vez que a maioria dos grãos de cereais são pobres desse elemento em sua composição (Da Silva, 2021). A deficiência de Mn nas espécies de produção está relacionada a crescimento e desenvolvimento corpóreo inadequado, ataxia de recém-nascidos, defeitos no metabolismo lipídico e de carboidratos, e problemas de produtividade (KEEN et al., 2000). A deficiência severa também foi demonstrada por deprimir o estado imunitário (HURLEY & KEEN, 1987).

691 O manganês desempenha importante papel para o perfeito desempenho
692 reprodutivo do rebanho ovino e sua deficiência pode causar falhas na
693 manifestação de cio e na ovulação, redução de taxa de concepção, aumento da
694 incidência de abortos ou nascimento de crias fracas e com deformidades ósseas.
695 Já os machos apresentaram perdas na produção espermática, diminuição da
696 produção e motilidade dos espermatozoides (HURLEY & DOANE, 1989).
697 Os fatores dietéticos que podem influenciar na biodisponibilidade do manganês
698 têm recebido pouca atenção, provavelmente porque a deficiência de manganês
699 não é considerada um grave problema na nutrição de ruminantes (SPEARS,
700 2003).

701

702 **2.7 Suplementação injetável**

703 Na pecuária comercial, a suplementação de minerais e vitaminas se faz por
704 meio do manejo nutricional comum junto a dieta das mais diferentes espécies de
705 interesse zootécnico, sendo que sua apresentação se dá principalmente na
706 forma de misturas (premix ou núcleo) junto a ração ofertada (PASCHOAL et al.,
707 2006; ABUELO et al., 2014;).

708 A suplementação micromineral e vitamínica via dieta em animais é uma
709 prática comum para suprir as necessidades nutricionais específicas e garantir o
710 bom desempenho e saúde dos animais, no entanto, estudos têm demonstrado
711 que a ingestão desses suplementos pode ser desigual entre os animais, levando
712 a variações na absorção e utilização dos nutrientes. Conforme relatado por
713 Carvalho et al. (2019), a suplementação mineral em ovinos pode resultar em
714 diferenças individuais na ingestão, pois alguns animais podem apresentar maior
715 consumo em relação a outros. Isso pode levar a desequilíbrios nutricionais e
716 impactar negativamente a eficiência produtiva e reprodutiva dos animais. Além
717 disso, Melo & Almeida (2020), destacam que a biodisponibilidade dos nutrientes
718 pode variar dependendo da interação entre os compostos da dieta e outros
719 fatores, como a composição da microbiota ruminal. Essas variações na ingestão
720 e biodisponibilidade dos nutrientes reforçam a importância de estratégias
721 nutricionais adequadas para garantir uma suplementação equilibrada e eficiente
722 para todos os animais.

723 Frente a isso, a aplicação de minerais e vitaminas de maneira injetável,
724 apesar de ser pouco utilizada, apresenta-se como uma alternativa ao método

725 tradicional de oferta destes componentes, podendo inclusive contribuir na
726 melhora do desempenho animal (ABUELO et al., 2014; COLLET et al., 2017).

727 Uma vez utilizada, sua aplicação ocorre via subcutânea e por vezes o
728 produto a ser aplicado é composto por vitaminas e microminerais (OMUR et al.,
729 2016). Dentre as várias vantagens existentes nesse método de suplementação,
730 a principal consiste no fato de assegurar dose conhecida e desejável com
731 aplicação individual, transmitindo assim ao pecuarista ou técnico o conhecimento
732 preciso da quantidade suplementada em cada indivíduo, fazendo com que sejam
733 evitadas oscilações de ingestão comumente observadas quando os animais
734 acabam por realizar o consumo voluntário (ARTHINGTON et al., 2014; OMUR et
735 al., 2016)

736 Além disso, é possível que sejam evitadas interações entre componentes
737 da ração ou antagonismos entre os componentes minerais ali existentes, pois a
738 aplicação injetável disponibiliza os nutrientes diretamente no sistema sanguíneo,
739 facilitando seu metabolismo (ABUELO et al., 2014; ARTHINGTON et al., 2014).
740 Ao serem absorvidos, os nutrientes são direcionados para determinadas
741 prioridades estabelecidas. São essas: metabolismo basal, atividades,
742 crescimento, reservas corporais básicas, lactação, acúmulo de reservas
743 corporais, ciclo estral e início da gestação (MAGGIONI et al., 2008). Por essa
744 sequência de prioridades se observa que o animal só direcionará nutrientes para
745 a atividade reprodutiva quando todas as prioridades anteriores tiverem sido
746 atendidas (SANT et al., 2018).

747 Em animais onde o consumo de matéria seca é reduzido, como o que
748 ocorre em animais ainda em aleitamento, o fornecimento de vitaminas e
749 microminerais injetáveis é apresentado como excelente opção para atender as
750 exigências nutricionais específicas da categoria animal (ARTHINGTON et al.,
751 2014; SANTOS et al., 2018). Outra vantagem é a possibilidade de fornecimento
752 destes nutrientes especificamente em indivíduos que se encontram em estado
753 crítico, ou animais que se deseja individualmente suplementar devido a outros
754 critérios como machos reprodutores durante a estação de monta, por exemplo,
755 e trazendo benefícios econômicos ao produtor rural (ABUELO et al., 2014). Em
756 contrapartida, este tipo de suplementação aumenta significativamente os
757 manejos estressantes junto ao rebanho, necessário para sua correta realização

a disponibilidade de infraestrutura adequada junto a propriedade (COOKE et al., 2017).

Segundo estudos realizados por Neiva Júnior et al. (2020) , a escolha dos suplementos nutracêuticos deve levar em consideração o custo-benefício, garantindo que o investimento na suplementação seja compensatório em relação aos benefícios obtidos em termos de saúde e produtividade dos ovinos. Além disso, a durabilidade dos suplementos também é um fator importante a ser considerado, uma vez que a degradação ou perda de eficácia ao longo do tempo pode comprometer sua eficácia. Nesse sentido, estudos como o de Ensley (2020) têm investigado diferentes formas de suplementação, buscando formulações mais estáveis e duráveis, a fim de garantir a eficácia e a qualidade dos suplementos nutracêuticos para ovinos.

770

771 **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Considerando a suplementação nutracêutica de microminerais e vitaminas, é evidente seu papel crucial na melhoria das características produtivas e reprodutivas em ovinos, particularmente na qualidade espermática. O conhecimento aprofundado sobre as funções desses nutrientes em ovinos é de extrema importância. A utilização adequada dessa técnica de suplementação, juntamente com seus elementos, pode potencialmente contribuir para o aprimoramento dos índices reprodutivos da espécie, impulsionando, conseqüentemente, o crescimento e a expansão da ovinocultura.

780

781 **4. HIPÓTESE E OBJETIVOS**

782 **4.1. Hipótese**

As suplementações vitamínicas e minerais contribuem para a melhora na qualidade seminal em ovinos e aumento nos níveis de testosterona circulante.

785 **4.2 Objetivo geral**

Avaliar os efeitos da aplicação do complexo vitamínico e mineral sobre a qualidade seminal e níveis hormonais testosterona em ovinos.

788

789 *4.2.1. Objetivos específicos*

- 790 • Avaliar o efeito do suplemento micromineral e vitamínico (SVM) no peso de
- 791 carneiros;

- 792 • Avaliar o efeito do SUVM sobre a qualidade seminal em ovinos;
- 793 • Verificar o efeito SUVM sobre a morfometria testicular em ovinos;
- 794 • Avaliar os níveis de testosterona e cortisol em animais suplementados e suas
- 795 possíveis alterações.

796

797 **5. REFERÊNCIAS¹**

798 A. PACHECO; C.R. QUIRINO. Comportamento sexual em ovinos. **Revista**
 799 **Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, n. 2, p. 87–97, 2010.

800 ABDALLA, R. P. **Efeito do alumínio e manganês, em pH ácido, nos**
 801 **parâmetros de estresse oxidativo em machos de *Astyanax altiparanae***
 802 **(Characiformes: Characidae)**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 29 jan.
 803 2016.

804 ABUELO, A. et al. The importance of the oxidative status of dairy cattle in the
 805 periparturient period: revisiting antioxidant supplementation. **Journal of Animal**
 806 **Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 6, p. 1003–1016, dez. 2015.

807 AGUIAR, G. V.; ARAÚJO, A. A.; MOURA, A. de A. A. Desenvolvimento testicular,
 808 espermatogênese e concentrações hormonais em touros Angus. **Revista**
 809 **Brasileira de Zootecnia**, [s. l.], v. 35, n. 4 suppl, p. 1629–1638, 2006.

810 AMANN, R.P.; SCHANBACHER, B.D. Physiology of male reproduction. **Journal**
 811 **of 7 Animal Science**, v. 57, p.380-403, 1983.

812 APPLING, D. R.; CHYTIL, F. Evidence of a Role for Retinoic Acid (Vitamin A-
 813 Acid) in the Maintenance of Testosterone Production in Male Rats*.
 814 **Endocrinology**, v. 108, n. 6, p. 2120–2123, jun. 1981.

815 ARTHINGTON, J. D. et al. Effects of trace mineral injections on measures of
 816 performance and trace mineral status of pre- and postweaned beef calves1.
 817 **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 6, p. 2630–2640, 1 jun. 2014.

818 ARTHUR, J. R. Free radicals and diseases of animal muscle. Em: **Oxidative**
 819 **Stress in Skeletal Muscle**. Basel: Birkhäuser Basel, 1998. p. 317–326.

820 BARCELOUX, D. G.; BARCELOUX, D. Selenium. **Journal of Toxicology:**
 821 **Clinical Toxicology**, v. 37, n. 2, p. 145–172, 6 jan. 1999.

822 BATISTA, E. da S.; COSTA, A. G. V.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Adição da
 823 vitamina E aos alimentos: implicações para os alimentos e para a saúde humana.
 824 **Revista de Nutrição**, [s. l.], v. 20, n. 5, p. 525–535, 2007.

¹Referências organizadas de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 6023 informação e documentação – Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p

- 825 BEDWAL, R. N. N. M. R. EFFECTS OF ZINC-DEFICIENCY AND TOXICITY ON
826 REPRODUCTIVE-ORGANS, PREGNANCY AND LACTATION - A REVIEW .
827 **Trace Elements in Medicine**, v. 8, n. 2, p. 89–100, 1991.
- 828 BINDARI, Y. R. et al. Effects of nutrition on reproduction - a review. **Advances**
829 **in Applied Science Research**, v. 4, n. 1, p. 421–429, 2013.
- 830 BOLAND, M. P. Trace minerals in production and reproduction in dairy cows.
831 **Advances in Dairy Technology**, v. 15, p. 319–330, 2003.
- 832 BOLIGON, A. A.; ALBUQUERQUE, L. G. DE; RORATO, P. R. N. Associações
833 genéticas entre pesos e características reprodutivas em rebanhos da raça
834 Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 596–601, abr. 2008.
- 835 BOROBIA, M. et al. Copper Poisoning, a Deadly Hazard for Sheep. **Animals**, [s.
836 l.], v. 12, n. 18, p. 2388, 2022.
- 837 BOUJRAD, N.; REVIERS, T.H.; CARREAU, S.; 1995. Evidence for germ cell
838 control of Sertoli cell function in the three models of germ cell depletion in adult
839 rat. **Biology of Reproduction**, v. 19, n.53, p.1345-1352, 1995.
- 840 BREMNER, I. Manifestations of copper excess. **The American Journal of**
841 **Clinical Nutrition**, v. 67, n. 5, p. S1069–S1073, maio 1998.
- 842 BRZEZIŃSKA-ŚLEBODZIŃSKA, E. et al. Antioxidant effect of vitamin E and
843 glutathione on lipid peroxidation in boar semen plasma. **Biological Trace**
844 **Element Research**, v. 47, n. 1–3, p. 69–74, jan. 1995.
- 845 CARVALHO, D. M. G.; PORTELLA, M. C. L.; MENEZES, L. T.; et al.
846 Suplementação energética, protéica ou múltipla para ovinos alimentados com
847 forragem tropical de baixa qualidade. **Boletim de Indústria Animal**, v. 76, 2019.
- 848 CAZAROTTO, C. J. et al. Metaphylactic effect of minerals on immunological and
849 antioxidant responses, weight gain and minimization of coccidiosis of newborn
850 lambs. **Research in Veterinary Science**, v. 121, p. 46–52, dez. 2018.
- 851 CHANG, S. I. et al. Arsenic-induced toxicity and the protective role of ascorbic
852 acid in mouse testis. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 218, n. 2, p.
853 196–203, jan. 2007.
- 854 CHENG, C. Y.; MRUK, D. D. The Blood-Testis Barrier and Its Implications for
855 Male Contraception. **Pharmacological Reviews**, v. 64, n. 1, p. 16–64, jan. 2012.
- 856 CIGANKOVA, V. 1983. Prenatal and postnatal development of Sertoli cells in
857 rams. **Veterinarni Medicina**. V. 28, p.613-620, 1983.
- 858 CLEMENS, T. L.; HENDERSON, S. L.; ADAMS, J. S.; HOLICK, M. F.
859 INCREASED SKIN PIGMENT REDUCES THE CAPACITY OF SKIN TO
860 SYNTHESISE VITAMIN D3. **The Lancet**, v. 319, n. 8263, p. 74–76, 1982.

- COLLET, S. G. et al. Effect of injectable trace mineral supplement and vitamins A and E on production and milk composition of Holstein cows. **Revista de Ciencias Agroveterinarias**, v. 16, n. 4, p. 463–472, 2017.
- COOKE, R. F. et al. Effects of temperament on physiological, productive, and reproductive responses in beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 1, p. 1, 2017.
- DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro.** Nutrição Sobre a Reprodução e Fertilidade dos Bovinos. **Emanuel Isaque Cordeiro da Silva, 2021.**
- DARGATZ, D. A. et al. Serum copper concentrations in beef cows and heifers. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 215, n. 12, p. 1828–1832, 1999.
- DE MENDONÇA JÚNIOR, A. F. et al. MINERAIS: IMPORTÂNCIA DE USO NA DIETA DE RUMINANTES. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 7, n. 1, p. 1–13, 2011.
- DE MOURA FERNANDES, D. A. et al. Response of rams to electroejaculation following the administration of oxytocin and cloprostenol with or without GnRH. **Theriogenology**, v. 173, p. 32–36, out. 2021.
- DURAN, A.; TUZEN, M.; SOYLAK, M. Trace element concentrations of some pet foods commercially available in Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, [s. l.], v. 48, n. 10, p. 2833–2837, 2010.
- EMBRAPADE BRUM, P. A. R. et al. **Níveis de manganês, zinco e cobre nas forrageiras e no fígado de bovinos na sub-região dos Paiguás, Pantanal Mato-Grossense.** [s.l: s.n.].
- ENCARNAÇÃO, R. O. **Estresse e produção animal.** Ciclo Internacional de Palestras sobre Bioclimatologia Animal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1989.
- ENSLEY, S. Evaluating Mineral Status in Ruminant Livestock. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 36, n. 3, p. 525–546, 2020.
- FADL, A. M.; ABDELNABY, E. A.; EL-SHERBINY, H. R. Supplemental dietary zinc sulphate and folic acid combination improves testicular volume and haemodynamics, testosterone levels and semen quality in rams under heat stress conditions. **Reproduction in Domestic Animals**, [s. l.], v. 57, n. 6, p. 567–576, 2022.
- FAVIER, A. E. The role of zinc in reproduction. **Biological Trace Element Research**, v. 32, n. 1–3, p. 363–382, jan. 1992.
- FERREIRA M.B.; ANTONELLI A.C.; ORTOLANI E.L. Intoxicação por cobre, selênio, zinco e cloreto de sódio. Em: SPINOSA HS; GÓRNIAC SL; PALERMONETO J) (Eds.). **Toxicologia aplicada a medicina veterinária**. [s.l.] Manole, 2008. p. 665–697.

- 899 FILAPPI, A.; PRESTES, D.; CECIM, M. Suplementação mineral para bovinos de
900 corte sob pastejo . **Veterinária Notícias**, v. 11, n. 2, p. 91–98, 2005.
- 901 FRAKER, P. J.; KING, L. E. Reprogramming of the immune system during zinc
902 deficiency. **Annual review of nutrition**, , v. 24, p. 277, 2004.
- 903 FRANÇA, L. R.; RUSSELL, L. D. The testis of domestic animals. Em:
904 MARTÍNEZGARCÍA, F.; REGADERA, J. (Eds.). **Male reproduction: a**
905 **Multidisciplinary Overview**. [s.l.] Churchill Communications, 1998. p. 197–219.
- 906 FRIENDEN, E.; LIPNE, H. **Endocrinologia bioquímica dos vertebrados**. 1. ed.
907 São Paulo: Edgard Blücher, 1975.
- 908 FULKERSON, W.; A JAMIESON, P. Pattern of Cortisol Release in Sheep
909 following Administration of Synthetic ACTH or Imposition of Various Stressor
910 Agents. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 35, n. 2, p. 215, 1982.
- 911 GANONG WF. **Review of Medical Physiology**. Los Altos: Lange Medical Books,
912 2003. v. 21
- 913 GEARY, T. W. et al. Effect of supplemental trace mineral level and form on
914 peripubertal bulls. **Animal Reproduction Science**, v. 168, p. 1–9, maio 2016.
- 915 GOREWIT, R. C. et al. Current Concepts on the Role of Oxytocin in Milk Ejection.
916 **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 10, p. 2236–2250, out. 1983.
- 917 GRILLO, G. F. et al. **As Vitaminas: Do Nutriente ao Medicamento** . Sao Paulo:
918 Tec & Doc Lavoisier, 1995.
- 919 GUILLAND, J. C.; LEQUEU, B.; OLIVEIRA, E. G. **As vitaminas: do nutriente**
920 **ao medicamento**. 1995.
- 921 GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Medical physiology**. 14. ed. [s.l.] Guanabara
922 Koogan , 2021.
- 923 HAFEZ . B; HAFEZ. E.S.E. **REPRODUÇÃO ANIMAL**. 7. ed. [s.l.] Manole, 2004.
- 924 HAILING, L. et al. Effect of vitamin E on the qualities of fresh and frozen-thawed
925 Ram Semen. **China Herbivores**, n. 5, p. 14–16, 2004.
- 926 HAMBIDGE, K. M.; CASEY, C. E.; KREBS, N. F. **Zinc. Ed, Trace elements in**
927 **human and animal nutrition**. 5. ed. Orland: Academic Press, 1986. v. 2
- 928 HAMDÍ, S. A.; NASSIF, O. I.; ARDAWI, M. S. M. Effect of Marginal or Severe
929 Dietary Zinc Deficiency on Testicular Development and Functions of the Rat.
930 **Archives of Andrology**, v. 38, n. 3, p. 243–253, 9 jan. 1997.
- 931 HARGREAVES, A. L.; HUTSON, G. D. The stress response in sheep during
932 routine handling procedures. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 26, n. 1–
933 2, p. 83–90, mar. 1990.

- 934 HEMALATHA, K. et al. Effect of dietary supplementation of organic zinc and
935 copper on in vitro semen fertility in goat. **Small Ruminant Research**, v. 161, p.
936 68–72, abr. 2018.
- 937 HERDT, T. H.; HOFF, B. The Use of Blood Analysis to Evaluate Trace Mineral
938 Status in Ruminant Livestock. **Veterinary Clinics of North America: Food**
939 **Animal Practice**, v. 27, n. 2, p. 255–283, jul. 2011.
- 940 HESS, R. A. SPERMATOGENESIS, overview. Em: **The Physiology of**
941 **Reproduction**. New York: Raven Press Ltd, 1999. v. 4p. 39–545.
- 942 HILL, G. M.; SHANNON, M. C. Copper and Zinc Nutritional Issues for Agricultural
943 Animal Production. **Biological Trace Element Research**, v. 188, n. 1, p. 148–
944 159, 2019.
- 945 HOCHEREAU-DE REVIERS, M. T. et al. Comparisons of endocrinological and
946 testis parameters in 18-month-old Ile de France and Romanov rams. **Domestic**
947 **Animal Endocrinology**, v. 7, n. 1, p. 63–73, jan. 1990.
- 948 HOWELL, J. M.; HALL, G. A. Infertility associated with experimental copper
949 deficiency in cattle, sheep, guinea pigs and rats. Em: LIVINGSTONE. E;
950 LIVINGSTONE. S (Eds.). **Trace element metabolism in animals**. 1. ed.
951 Edinburgh: [s.n.]. v. 1p. 106–109.
- 952 HURLEY, L. S.; KEEN, C. L. Manganese. Em: UNDERWOOD, E. J.; MERTZ, W.
953 (Eds.). **Trace elements in human and animal nutrition**. San Diego : Academic
954 Press, 1987. v. 1p. 185–214.
- 955 HURLEY, W. L.; DOANE, R. M. Recent Developments in the Roles of Vitamins
956 and Minerals in Reproduction. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 3, p. 784–804,
957 mar. 1989.
- 958 JACKSON, M. J. Muscle damage during exercise: possible role of free radicals
959 and protective effect of vitamin E. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 46,
960 n. 1, p. 77–80, 28 fev. 1987.
- 961 JARDIM, W. R. **ALIMENTOS E ALIMENTAÇÃO DO GADO BOVINO**. 1. ed.
962 Piracicaba: Editora Agronômica Ceres Ltda, 1976. v. 1
- 963 JOHNSON, L. Increased daily sperm production in the breeding season of
964 stallions is 26 explained by an elevated population of spermatogonia. **Biology of**
965 **Reproduction**, v. 32, p.1181– 27, 1985.
- 966 JONHNSON, T. **Indigenous people are now more cambative**, organized.
967 Miami Herald, 1994. 23 Disponível em: . Acessado em: 24 5 dez. 1994.
- 968 KEEN. C. L.; ENSUNSA. J. L; CLEGG. M. S. Manganese metabolism in animals
969 and humans including the toxicity of manganese. **Metal Ions in Biological**
970 **Systems**, v. 37, p. 89–121, 2000.

- 971 KENDALL, N. R. et al. The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass
972 bolus on trace element status and semen quality of ram lambs. **Animal**
973 **Reproduction Science**, v. 62, n. 4, p. 277–283, set. 2000.
- 974 KOLLER, L. D. et al. Comparison of selenium levels and glutathione peroxidase
975 activity in bovine whole blood. **Canadian journal of comparative medicine :**
976 **Revue canadienne de medecine comparee**, v. 48, n. 4, p. 431–3, out. 1984b.
- 977 KOLLER, L. et al. Comparison of selenium levels and glutathione peroxidase
978 activity in bovine whole blood. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v.
979 48, n. 4, p. 431, 1984a.
- 980 KRINSKY, N. I.; YEUM, K.-J. Carotenoid–radical interactions. **Biochemical and**
981 **Biophysical Research Communications**, v. 305, n. 3, p. 754–760, 2003.
- 982 KUMAR, N. et al. Effect of different levels and sources of zinc supplementation
983 on quantitative and qualitative semen attributes and serum testosterone level in
984 crossbred cattle (*Bos indicus* × *Bos taurus*) bulls. **Reproduction Nutrition**
985 **Development**, v. 46, n. 6, p. 663–675, nov. 2006.
- 986 LEACH, R. M.; HARRIS, D. H. Manganese. Em: O'DELL BL, S. R. (Ed.).
987 **Handbook of nutritionally essential mineral elements**. New York: Marcel
988 Dekker, 1997. p. 335–356.
- 989 LIU, H.; LUO, H. Effect of dietary vitamin E concentration on semen quality of
990 goat. **Chinese Journal of Animal Science**, v. 41, n. 10, p. 12, 2005.
- 991 LIVERA, G. et al. Regulation and perturbation of testicular functions by vitamin
992 A. **Reproduction**, p. 173–180, 1 ago. 2002.
- 993 LUTSENKO, S. et al. Function and Regulation of Human Copper-Transporting
994 ATPases. **Physiological Reviews**, v. 87, n. 3, p. 1011–1046, jul. 2007.
- 995 MACPHERSON, A. Selenium, vitamin E and biological oxidation. Em: COLE DJ;
996 GARNSWORTHY PJ (Eds.). **Recent Advances in Animal Nutrition**. [s.l: s.n.].
997 p. 3–30.
- 998 MADRUGA, M. S. et al. Qualidade da carne de cordeiros Santa Inês terminados
999 com diferentes dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 1, p. 309–315,
1000 fev. 2005.
- 1001 MAGGIONI, D. et al. Influência da proteína sobre a reprodução animal. **Campo**
1002 **Digital**, v. 1, n. 2, p. 05-110., 2008.
- 1003 MAHMOUD, G. B.; ABDEL-RAHEEM, S. M.; HUSSEIN, H. A. Effect of
1004 combination of vitamin E and selenium injections on reproductive performance
1005 and blood parameters of Ossimi rams. **Small Ruminant Research**, v. 113, n. 1,
1006 p. 103–108, jun. 2013.
- 1007 MAIA, M. S. ; MEDEIROS, I. M.; LIMA, C. A. C. Características reprodutivas de
1008 carneiros no Nordeste do Brasil: parâmetros seminais. **Rev. Bras. Reprod.**
1009 **Anim**, v. 35, n. 2, p. 175–179, 2011.

- 1010 MARDONES, P. et al. α -Tocopherol Metabolism Is Abnormal in Scavenger
1011 Receptor Class B Type I (SR-BI)-Deficient Mice. **The Journal of Nutrition**, v.
1012 132, n. 3, p. 443–449, mar. 2002.
- 1013 MARQUES, E. C. **Efeitos da administração de um suplemento de**
1014 **microminerais injetável contendo cobre, manganês, selênio e zinco sobre**
1015 **a saúde uterina de vacas leiteiras**; São Paulo: Universidade de São
1016 Paulo, 25 maio 2017.
- 1017 MARTÍN RILLO, S.; ALÍAS PÉREZ, E. **Reproducción e inseminación artificial**
1018 **porcina**. Madrid: Aedos, 1982.
- 1019
- 1020 MARTINS, J.A.M.; SOUZA, C.E.A.; CAMPOS, A.C.N.; AGUIAR, G.V.; LIMA,
1021 A.C.B.; ARAUJO, 43 A.A.; NEIVA, J.N.M. MOURA, A.A.A. Measurements of
1022 reproductive traits and 44 spermatogenesis in crosbread hairy rams. **Archivos**
1023 **de Zootecnia**, v. 222, p. 253-256, 2008.
- 1024 MAVROMICHALIS, I. et al. Effects of omitting vitamin and trace mineral premixes
1025 and(or) reducing inorganic phosphorus additions on growth performance,
1026 carcass characteristics, and muscle quality in finishing pigs. **Journal of Animal**
1027 **Science**, v. 77, n. 10, p. 2700, 1999.
- 1028 MAYASULA, V. K.; ARUNACHALAM, A.; SELLAPPAN, S.; et al. Organic Zn and
1029 Cu supplementation imprints on seminal plasma mineral, biochemical/
1030 antioxidant activities and its relationship to spermatozoal characteristics in bucks.
1031 **Reproductive Biology**, v. 20, n. 2, p. 220–228, 2020.
- 1032 MCDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego:
1033 Academic Press Inc., 1992. v. 1
- 1034 MCDOWELL, L. R. **Vitamins in Animal Nutrition: Comparative Aspects to**
1035 **Human Nutrition**. San Diego: Academic Press, 1989. v. 1
- 1036 MEDEIROS, R. M. T.; PAULINO, C. A. Vitaminas. Em: SPINOSA, H. S.;
1037 GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. (Eds.). **Farmacologia aplicada à medicina**
1038 **veterinária** . 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 541–554.
- 1039 MELO, L.; ALMEIDA, D. J. Relatos do efeito cumulativo de substâncias tóxicas
1040 em bovinos. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3,
1041 n. 2, p. 592–601, 2020.
- 1042 MENDIS-HANDAGAMA, S. M. L. C.; ZIRKIN, B. R.; EWING, L. L. Comparison of
1043 components of the testis interstitium with testosterone secretion in hamster, rat,
1044 and guinea pig testes perfused in vitro. **American Journal of Anatomy**, v. 181,
1045 n. 1, p. 12–22, jan. 1988.
- 1046 MEZA-HERRERA, C. A.; NAVARRETE-MOLINA, C.; LUNA-GARCÍA, L. A.; et al.
1047 Small ruminants and sustainability in Latin America & the Caribbean:

- 1048 Regionalization, main production systems, and a combined productive, socio-
1049 economic & ecological footprint quantification. **Small Ruminant Research**,
1050 v. 211, p. 106676, 2022.
- 1051 MINTON, J. E. et al. Stress-associated concentrations of plasma cortisol cannot
1052 account for reduced lymphocyte function and changes in serum enzymes in
1053 lambs exposed to restraint and isolation stress1. **Journal of Animal Science**, v.
1054 73, n. 3, p. 812–817, 1 abr. 1995.
- 1055 MOGHADDAM, G., POURSEIF, M., ASADPOUR, R., RAFAT, S. A; JAFARI-
1056 JOZANI, R. Relationship between levels of peripheral blood testosterone, sexual
1057 behavior, scrotal circumference and seminal parameters in crossbred rams. **Acta**
1058 **Scientiae Veterinariae**, v. 40, n. 3,p. 1-8, 2012
- 1059 MORANI. E.S.C; RODRIGUES. L. H; RONCOLETTA. M. **manual de**
1060 **reprodução nas espécies domésticas - AVALIAÇÃO E EMPREGABILIDADE**
1061 **DO SÊMEN**. 1. ed. [s.l.] EDITORA MEDVET, 2018. v. 1
- 1062 MORMÈDE, P. et al. Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function
1063 as a tool to evaluate animal welfare. **Physiology & Behavior**, v. 92, n. 3, p. 317–
1064 339, out. 2007.
- 1065 MÖSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress. **Domestic Animal**
1066 **Endocrinology**, v. 23, n. 1–2, p. 67–74, jul. 2002.
- 1067 MÜLLER, L.; KARL OHNESORGE, F. Different response of liver parenchymal
1068 cells from starved and fed rats to cadmium. **Toxicology**, v. 25, n. 2–3, p. 141–
1069 150, jan. 1982.
- 1070 MURTA, D. V. F.; GOMES, V. C. L.; MARTINEZ, L. C. R. A organização celular
1071 dos testículos de mamíferos. **Rev Cient Eletrônica Med Vet**, v. 11, n. 20, p. 1–
1072 12, 2013.
- 1073 NAGALAKSHMI, D.; DHANALAKSHMI, K.; HIMABINDU, D. Effect of dose and
1074 source of supplemental zinc on immune response and oxidative enzymes in
1075 lambs. **Veterinary Research Communications**, v. 33, n. 7, p. 631–644, 13 out.
1076 2009.
- 1077 NARASIMHAIAH, M. et al. Organic zinc and copper supplementation on
1078 antioxidant protective mechanism and their correlation with sperm functional
1079 characteristics in goats. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 53, n. 3, p. 644–
1080 654, jun. 2018.
- 1081 NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Mineral tolerance of animals**. 2. ed. [s.l.]
1082 National Academy Press, 2005.
- 1083 NEGRÃO, J. A.; MARNET, P. G.; KANN, G. **Evolution of oxytocin, prolactin**
1084 **and cortisol release during first milkings of primiparous ewes**. [s.l: s.n.].
- 1085 NEIVA JÚNIOR, A. P.; PIROZZI, P. F.; NOGUEIRA, C. H.; et al. Inclusão de
1086 nutracêuticos na dieta de vacas em lactação e seus efeitos no desempenho

- 1087 animal. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 2,
1088 p. 502–508, 2020.
- 1089 O'DONNELL, L. et al. Estrogen and Spermatogenesis*. **Endocrine Reviews**, v.
1090 22, n. 3, p. 289–318, 1 jun. 2001.
- 1091 OMUR, A. et al. Effects of antioxidant vitamins (A, D, E) and trace elements (Cu,
1092 Mn, Se, Zn) on some metabolic and reproductive profiles in dairy cows during
1093 transition period. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 19, n. 4, p. 697–
1094 706, 1 dez. 2016.
- 1095 ORTOLANI, E. L. Macro e microelementos. Em: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S.
1096 L.; BERNARDI, M. M. (Eds.). **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**.
1097 [s.l: s.n.]. p. 641–651.
- 1098 OZER KAYA, S.; GUR, S.; ERISIR, M.; et al. Influence of vitamin E and vitamin
1099 E-selenium combination on arginase activity, nitric oxide level and some
1100 spermatological properties in ram semen. **Reproduction in Domestic Animals**,
1101 v. 55, n. 2, p. 162–169, 2020.
- 1102 PACÁK, K.; PALKOVITS, M. Stressor Specificity of Central Neuroendocrine
1103 Responses: Implications for Stress-Related Disorders. **Endocrine Reviews**, v.
1104 22, n. 4, p. 502–548, 1 ago. 2001.
- 1105 PACHECO, A.; MADELLA-OLIVEIRA, A. DE F.; QUIRINO, C. R. Puberdade em
1106 ovinos - Revisão. **Pubvet**, v. 6, n. 29, 2012.
- 1107 PALHANO, H. B. Comparação da taxa de prenhez entre novilhas, primíparas e
1108 multíparas da raça Nelore submetidas à inseminação artificial e tempo fixo.
1109 **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37, n. 3, p. 193–197, 2015.
- 1110 PALLUDAN, B. Vitamin A deficiency and its effect on the sexual organs of the
1111 boar. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 4, p. 136–155, 1963.
- 1112 PASCHOAL, J. J.; ZANETTI, M. A.; CUNHA, J. A. Contagem de células
1113 somáticas no leite de vacas suplementadas no pré-parto com selênio e vitamina
1114 E. **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p. 1462–1466, out. 2006.
- 1115 PESCH, B. et al. Cigarette smoking and lung cancer-relative risk estimates for
1116 the major histological types from a pooled analysis of case-control studies.
1117 *International Journal of Cancer*, [s. l.], v. 131, n. 5, p. 1210–1219, 2012.
- 1118 PINEDA, M. H. Male reproduction. . Em: MC DONALD, L. E. (Ed.). **Veterinary
1119 endocrinology and reproduction**. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1989. p.
1120 261–302.
- 1121 PROHASKA, J. R. Impact of copper deficiency in humans. **Annals of the New
1122 York Academy of Sciences**, v. 1314, n. 1, p. 1–5, maio 2014.

- 1123 PUNAB, M. et al. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre
1124 study on 1737 patients with reduced total sperm counts. **Human Reproduction**,
1125 17 nov. 2016.
- 1126 RAMÍREZ, C. E. et al. Cattle hypocuprosis in Argentina associated with
1127 periodically flooded soils. **Livestock Production Science**, v. 55, n. 1, p. 47–52,
1128 jul. 1998.
- 1129 RAVIERS, M.T.H.; MONET-KUNTZ, C.; COUROT, M. 1987. Spermatogenesis
1130 and Sertoli cell 18 numbers and function in rams and bulls. **Journal of**
1131 **Reproduction and Fertility Supplement**, v. 19,n. 34,p. 101-114,1987.
- 1132 RIDLER, A. L.; WEST, D. M. Examination of teeth in sheep health management.
1133 **Small Ruminant Research**, v. 92, n. 1–3, p. 92–95, ago. 2010.
- 1134 RODRIGUES, A. D. **Respostas zootécnicas, fisiológicas e comportamentais**
1135 **de ovelhas Santa Inês submetidas a diferentes fatores de estresse do início**
1136 **da lactação até o desmame.** . Dissertação —Jaboticabal: Faculdade de
1137 Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 2010.
- 1138 RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, G. L. et al. Maternal protein restriction in pregnancy
1139 and/or lactation affects seminiferous tubule organization in male rat offspring.
1140 **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 3, n. 5, p. 321–
1141 326, 8 out. 2012.
- 1142 ROMERO, I.; DE FRANCISCO, P.; GUTIÉRREZ, J. C.; MARTÍN-GONZÁLEZ, A.
1143 Selenium cytotoxicity in *Tetrahymena thermophila*: New clues about its biological
1144 effects and cellular resistance mechanisms. **Science of The Total Environment**,
1145 v. 671, p. 850–865, 2019.
- 1146 ROSER, J. F. Regulation of testicular function in the stallion: An intricate network
1147 of endocrine, paracrine and autocrine systems. **Animal Reproduction Science**,
1148 v. 107, n. 3–4, p. 179–196, set. 2008.
- 1149 RUSHEN, J.; TAYLOR, A. A.; DE PASSILLÉ, A. M. Domestic animals' fear of
1150 humans and its effect on their welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, v.
1151 65, n. 3, p. 285–303, dez. 1999.
- 1152 RUSSELL, L. D.; DE FRANÇA, L. R. Building a testis. **Tissue and Cell**, v. 27, n.
1153 2, p. 129–147, abr. 1995.
- 1154 SAAED, F. F.; ZAID, N. W. Serum and Testicular Testosterone Levels of Ram
1155 Lamb during Puberty. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v. 7, n.
1156 2, 2018.
- 1157 SAAED, F. F.; ZAID, N. W. Serum and Testicular Testosterone Levels of Ram
1158 Lamb during Puberty. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v. 7, n.
1159 2, 2018.

- 1160 SANT, M. et al. RESPOSTA REPRODUTIVA E CUSTO POR PRENHEZ EM
1161 FUNÇÃO DO ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL DE NOVILHAS AO
1162 ACASALAMENTO. . **Rev. Inic. Cient. ULBRA**, v. 1, n. 16, 2018.
- 1163 SANTOS, G. T.; DAMASCENO, J. C. Nutrição e alimentação de bezerras e
1164 novilhas. Em: IRAN BORGES DE OLIVEIRA; LÚCIO GONÇALVES (Eds.).
1165 **Nutrição de Gado de Leite**. [s.l.] Escola de Veterinária da UFMG, 1999. v. 1p.
1166 39–64.
- 1167 SETCHELL, B. P. Male reproductive organs and semen. Em: CUPPS, P. T. (Ed.).
1168 **Reproduction in Domestic Animals**. New York: Academic Press, 1991. p. 221–
1169 249.
- 1170 SHAMAY, A. et al. Adrenocorticotrophic hormone and dexamethasone failed to
1171 affect milk yield in dairy goats: comparative aspects. **Small Ruminant Research**,
1172 v. 38, n. 3, p. 255–259, nov. 2000.
- 1173 SHARPE, R. M.; SKAKKEBAEK, N. E. Are oestrogens involved in falling sperm
1174 counts and disorders of the male reproductive tract? **The Lancet**, v. 341, n. 8857,
1175 p. 1392–1396, maio 1993.
- 1176 SHI, L. et al. Effect of elemental nano-selenium on semen quality, glutathione
1177 peroxidase activity, and testis ultrastructure in male Boer goats. **Animal**
1178 **Reproduction Science**, v. 118, n. 2–4, p. 248–254, abr. 2010a.
- 1179 SHI, L. et al. Short-term effect of dietary selenium-enriched yeast on semen
1180 parameters, antioxidant status and Se concentration in goat seminal plasma.
1181 **Animal Feed Science and Technology**, v. 157, n. 1–2, p. 104–108, abr. 2010b.
- 1182 SILVA SOBRINHO, A. G.; SILVA, A. M. A. Produção de carne ovina. . **Revista**
1183 **Nacional da Carne**, v. 285, p. 32–44, 2000.
- 1184 SILVA, A. E. D. F.; UNANIAN, M. M.; CORDEIRO, C. M. T.; FREITAS, A. R. DE.
1185 Relação da circunferência escrotal e parâmetros da qualidade do sêmen em
1186 touros da raça Nelore, PO. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p.
1187 1157–1165, 2002.
- 1188 SMITH, O. B.; AKINBAMIJO, O. O. Micronutrients and reproduction in farm
1189 animals. **Animal Reproduction Science**, v. 60–61, p. 549–560, jul. 2000.
- 1190 SNOWDER, G. D.; STELLFLUG, J. N.; VAN VLECK, L. D. Heritability and
1191 repeatability of sexual performance scores of rams. **Journal of Animal Science**,
1192 v. 80, n. 6, p. 1508–1511, 1 jun. 2002.
- 1193 SPEARS, J. W. Micronutrients and immune function in cattle. **Proceedings of**
1194 **the Nutrition Society**, v. 59, n. 4, p. 587–594, 28 nov. 2000.
- 1195 SPEARS, J. W. Trace Mineral Bioavailability in Ruminants. **The Journal of**
1196 **Nutrition**, v. 133, n. 5, p. S1506–S1509, maio 2003.

- 1197 STABENFFLDT, G. H.; EDQVIST, L. E. Male reproductive processes. Em:
1198 SWENSON, M. J.; REECE, W. O. (Eds.). **Dukes' physiology of domestic**
1199 **animais**. [s.l.] Cornell University Press, 1993. p. 665–677.
- 1200 STARLING, J. M. C. et al. Variação estacional dos hormônios tireoideanos e do
1201 cortisol em ovinos em ambiente tropical. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34,
1202 n. 6, p. 2064–2073, dez. 2005.
- 1203 STRADAIOLI, G. et al. Effect of L-carnitine administration on the seminal
1204 characteristics of oligoasthenospermic stallions. **Theriogenology**, v. 62, n. 3–4,
1205 p. 761–777, ago. 2004.
- 1206 SURAI, P. et al. Effect of vitamin E and selenium supplementation of cockerel
1207 diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in
1208 sperm, testes, and liver. **Biological Trace Element Research**, v. 64, n. 1–3, p.
1209 119–132, jun. 1998.
- 1210 TABASSOMI, M.; ALAVI-SHOUSHTARI, S. M. Effects of in vitro copper sulphate
1211 supplementation on the ejaculated sperm characteristics in water buffaloes
1212 (*Bubalus bubalis*). **Veterinary research forum: an international quarterly**
1213 **journal**, v. 4, n. 1, p. 31, 2013.
- 1214 TANČIN, V. et al. Effect of suckling during early lactation and changeover to
1215 machine milking on plasma oxytocin and cortisol levels and milking
1216 characteristics in Holstein cows. **Journal of Dairy Research**, v. 62, n. 2, p. 249–
1217 256, 1 maio 1995.
- 1218 TANUMIHARDJO, S. A. Vitamin a Fortification Efforts Require Accurate
1219 Monitoring of Population Vitamin A Status to Prevent Excessive Intakes.
1220 **Procedia Chemistry**, v. 14, p. 398–407, 2015.
- 1221 TOERIEN, C. A. et al. Adrenocortical response to ACTH in Angora and Spanish
1222 goat wethers. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 6, p. 1558, 1999.
- 1223 TURSKI, M. L.; THIELE, D. J. New Roles for Copper Metabolism in Cell
1224 Proliferation, Signaling, and Disease. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284,
1225 n. 2, p. 717–721, jan. 2009. TVRDA, E. et al. Iron and copper in male
1226 reproduction: a double-edged sword. *Journal of Assisted Reproduction and*
1227 *Genetics*, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 3–16, 2015.
- 1228 TVRDA, E.; PEER, R.; SIKKA, S. C.; AGARWAL, A. Iron and copper in male
1229 reproduction: a double-edged sword. **Journal of Assisted Reproduction and**
1230 **Genetics**, v. 32, n. 1, p. 3–16, 2015.
- 1231 UNDERWOOD, E.; SOMERS, M. Studies of zinc nutrition in sheep. I. The relation
1232 of zinc to growth, testicular development, and spermatogenesis in young rams.
1233 **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 20, n. 5, p. 889, 1969.
- 1234 UNLU, N. Z. et al. Carotenoid Absorption from Salad and Salsa by Humans Is
1235 Enhanced by entrye Addition of Avocado or Avocado Oil. **The Journal of**
1236 **Nutrition**, [s. l.], v. 135, n. 3, p. 431–436, 200

- 1237 VAN PELT, A. M. M.; DE ROOIJ, D. G. Synchronization of the Seminiferous
1238 Epithelium after Vitamin A Replacement in Vitamin A-Deficient Mice. **Biology of**
1239 **Reproduction**, v. 43, n. 3, p. 363–367, 1 set. 1990.
- 1240 VEERAMACHANENI, D. N. et al. Pathophysiology of small testes in beef bulls:
1241 relationship between scrotal circumference, histopathologic features of testes
1242 and epididymides, seminal characteristics, and endocrine profiles. **American**
1243 **journal of veterinary research**, v. 47, n. 9, p. 1988–99, set. 1986.
- 1244 VENDELAND, S. C. et al. Uptake of selenite, selenomethionine and selenate by
1245 brush border membrane vesicles isolated from rat small intestine. **Biometals**, v.
1246 7, n. 4, out. 1994.
- 1247 VENKATA KRISHNAIAH, M. et al. Organic Zn and Cu interaction impact on
1248 sexual behaviour, semen characteristics, hormones and spermatozoal gene
1249 expression in bucks (*Capra hircus*). **Theriogenology**, v. 130, p. 130–139, maio
1250 2019.
- 1251 WHITE, J. G.; WELCH, R. M.; NORVELL, W. A. Soil Zinc Map of the USA using
1252 Geostatistics and Geographic Information Systems. **Soil Science Society of**
1253 **America Journal**, v. 61, n. 1, p. 185–194, jan. 1997.
- 1254 WILSON, M. J. et al. Effect of vitamin E deficiency on the growth and secretory
1255 function of the rat prostatic complex. **Experimental and Molecular Pathology**,
1256 v. 74, n. 3, p. 267–275, jun. 2003.
- 1257 WONG, W. Y.; MERKUS, H. M. W. M.; THOMAS, C. M. G.; et al. Effects of folic
1258 acid and zinc sulfate on male factor subfertility: a double-blind, randomized,
1259 placebo-controlled trial. **Fertility and Sterility**, v. 77, n. 3, p. 491–498, 2002.
- 1260 WROBEL, K.-H.; REICHOLD, J.; SCHIMMEL, M. Quantitative morphology of the
1261 ovine seminiferous epithelium. **Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger**,
1262 v. 177, n. 1, p. 19–32, jan. 1995.
- 1263 WU, S. H. et al. Effect of Selenium, Vitamin E, and Antioxidants on Testicular
1264 Function in Rats¹². **Biology of Reproduction**, v. 8, n. 5, p. 625–629, 1 jun. 1973.
- 1265 YANG, H.; MA, J.; WAN, Z.; WANG, Q.; WANG, Z.; ZHAO, J.; WANG, F.;
1266 ZHANG, Y. . 19 Characterization of sheep spermatogenesis single-cell RNA
1267 sequencing. **The Faseb Journal**, v. 20, p. 35:1-13, 2020
- 1268 YOUSEF, M. I.; ABDALLAH, G. A.; KAMEL, K. I. Effect of ascorbic acid and
1269 Vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of
1270 male rabbits. **Animal Reproduction Science**, v. 76, n. 1–2, p. 99–111, mar.
1271 2003.
- 1272 YUE, D. et al. Effect of Vitamin E supplementation on semen quality and the
1273 testicular cell membranal and mitochondrial antioxidant abilities in Aohan fine-
1274 wool sheep. **Animal Reproduction Science**, v. 118, n. 2–4, p. 217–222, abr.
1275 2010.

Capítulo 1

1 **1. A suplementação vitamínica e mineral injetável pode afetar**
2 **beneficamente os índices reprodutivos em ovinos?**

3 **2. (Este trabalho será submetido ao periódico da Revista Livestock**
4 **Science)**

5
6 Estevam Rodrigues de Souza, Luan Sitó-Silva^a , Beatriz Lippe De Camillo^a ,
7 Isabella Lissa Iwashita de Souza^a , e Eunice Oba^{a§} .

8
9 ^a Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal , Universidade
10 Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” ,Botucatu , Brasil

11 [§] Autor para correspondência: eunice.oba@unesp.br

13 **Resumo**

14
15 O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação mineral e
16 vitamínica injetável sobre a morfometria testicular, parâmetros seminaise
17 testosterona em ovinos púberes. Para isso, foram utilizados 30 carneiros jovens ,
18 com peso corporal médio inicial de 36 kg e idade média de 12 meses. Os animais
19 foram divididos em 3 grupos contendo 10 animais, sendo um suplementado via
20 subcutânea com vitaminas e minerais, o segundo suplementado com minerais
21 apenas e o terceiro teve administrações apenas de vitaminas. Posteriormente a
22 fim de que se procedesse a avaliação dos efeitos de tal suplementação, a
23 qualidade seminal teve parâmetros analisados referentes a aspecto, coloração,
24 volume, turbilhonamento, concentração e morfologia espermática, bem como
25 aferição dos níveis séricos de testosterona, medidas de ganho de peso e
26 testiculares colhidas. Para o desenho estatístico foram ajustados modelos de

equações de estimativas generalizadas para cada variável resposta. Os diferentes tratamentos avaliados não alteraram os parâmetros seminais em sua maioria, concluindo que maiores níveis suplementares de microminerais e vitaminas não causam efeitos antagônicos na absorção de outros nutrientes ou na qualidade seminal, sendo ainda benéficos quanto a redução de defeitos espermáticos e possibilidade do aumento dos níveis séricos de testosterona.

Palavras chave: nutracêutico, sêmen, ovinos, testosterona

1. Introdução

A produção de proteína animal brasileira destaca-se por diversos fatores, dentre eles podemos citar os produtos oriundos do rebanho ovino existente no país. Em 2020, segundo IBGE, o Brasil atingiu a marca de aproximadamente 20,6 milhões de cabeças da espécie, valor este 3,28% superior às estimativas do contingente de animais existentes no ano de 2019.

Tal aumento nos índices produtivos pode ser observado a partir da década de 1990, momento em que o mercado de lã natural começou a entrar em crise devido à chegada de lã sintética com valores competitivos (Bindari et al., 2013). Madruga et al. (2005) consideram a ovinocultura, principalmente aquela voltada para animais de corte, uma atividade promissora no agronegócio nacional, uma vez que a mesma apresenta características importantes como, a grande disponibilidade de terras em território brasileiro, a presença de diferentes raças autóctones ou não, e que podem se adaptar aos diferentes climas existentes no país, disponibilidade e facilidade para produção de insumos da alimentação animal, mão de obra relativamente barata e a produção de animais com baixo custo.

Segundo Geary (2016) a eficiente produção animal, dentre outros fatores é subsidiada pelo desempenho reprodutivo, sendo este, afetado diretamente pela a nutrição e escore corporal. Entretanto, no Brasil, principalmente devido ao sistema extensivo de criação adotado na maior parte das propriedades ovinocultoras, faz-se necessária a suplementação vitamínica e mineral, uma vez que o ganho de peso dos animais pode ser limitado devido ao baixo teor destes elementos disponível nas forragens utilizadas (GOULART et al., 2008). Fatores nutricionais influem por exemplo sobre o peso dos órgãos reprodutivos, sendo que estes exercem forte influência na atividade reprodutiva, uma vez que podem indicar alterações nas concentrações de hormônios sexuais, refletindo significativamente na fertilidade do rebanho (FERNANDES et al., 2012; GRILLO et al., 2015; PUNAB et al., 2017). Dessa forma, dada a importância do correto manejo alimentar e suprimento das exigências alimentares requeridas é importante salientar a necessidade de suplementação vitamínico mineral, bem como formas alternativas de sua utilização que possam garantir a direta atuação destes elementos sobre diferentes aspectos que envolvem a reprodução ovina, evitando baixos índices reprodutivos e possibilitando que animais de alto mérito genético sejam utilizados como progenitores (STRADAIOLI et al., 2004; GRILLO et al., 2015).

Dentre os microminerais, Zn e Cu, por exemplo, desempenham papel fundamental no desenvolvimento de órgãos reprodutores, bem como na atividade reprodutiva masculina devido a sua correlação com crescimento testicular, síntese e produção de hormônios reprodutivos (testosterona, hormônios liberadores de gonadotropina, etc.), produção de espermatozoides, motilidade espermática, criotolerância e aumento da atividade de enzimas

antioxidantes (GEARY et al. 2016 ; NARASIMHAIAH et al. 2018 ; KRISHNAIAH et al. 2019). Além disso, em experimento realizado por Hemalatha et al. (2018) onde foi realizada suplementação dos microminerais Zn e Cu na dieta de bodes, foi possível observar o aumento da capacidade de fertilização *in vitro* do sêmen congelado e aumento da ligação e a taxa de clivagem da zona pelúcida dos espermatozoides.

Estudos investigando a suplementação mineral e vitamínica sobre parâmetros seminais e outras características reprodutivas se fazem importantes já que a presença destes elementos, por vezes, é encontrada em quantidades inferiores as exigências nutricionais de cada espécie na dieta ofertada. Por sua vez a suplementação destes é manejo nutricional comum dentre os pecuaristas e pode trazer uma série de benéficos tanto a produção quanto a reprodução animal (GOULART et al., 2008; MUNGAI CHACUR et al., 2010)

Portanto o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação de complexo vitamínico e mineral sobre a qualidade do sêmen ovino e alteração do hormônio testosterona.

2.Material e métodos

2.1 Ética experimental

O experimento ocorreu de acordo com os princípios éticos no uso de animais do Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Unesp de Botucatu (Protocolo 0245/2022).

2.2 Local do estudo

O estudo foi conduzido na Cabanha Guarantã, onde foram colhidas as amostras e após isso, as mesmas foram conduzidas para análise no “Laboratório de Estudos de Biotecnologia Aplicada a Reprodução de Ovinos e Caprinos” do Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, da FMVZ – UNESP, no município de Botucatu-SP.

2.3 Seleção dos animais

Foram selecionados indivíduos clinicamente saudáveis ao exame físico e com idade média de 12 meses, sendo a avaliação realizada a partir da visualização da arcada dentária, e não havendo ainda a primeira muda dos incisivos na data de início das atividades experimentais (RIDLER; WEST, 2015). Análises reprodutivas foram realizadas baseando-se na avaliação andrológica completa dos animais. Testículos e epidídimos foram palpados em busca de assimetrias, nódulos, granulomas e consistências anormais. Durante a seleção dos animais, após a colheita por eletroejaculação, os ejaculados foram classificados em aptos e inaptos para utilização. Aqueles animais classificados como aptos e selecionados para o experimento apresentavam características como circunferência escrotal ≥ 28 cm, turbilhonamento ≥ 3 (0-5), vigor ≥ 3 (0-5) motilidade total $\geq 70\%$, concentração espermática $\geq 2 \times 10^9$, espermatozoides totais com anormalidades $\leq 30\%$ (CBRA, 2013). Ejaculados contaminados com urina ou não higiênicos foram descartados. Todos os processos foram repetidos durante o experimento.

2.4 Procedimento de eletroejaculação

O sêmen foi colhido por eletroejaculação, e o procedimento consistiu na contenção com os animais posicionados “sentados”, onde tiveram o pênis

exposto e envolto por gaze, a fim de garantir sua exposição durante os estímulos elétricos, foram posteriormente posicionados em decúbito lateral sendo necessários dois auxiliares para colocação dos animais na posição adequada e realizar a contenção dos membros pélvicos, torácicos e cabeça, um terceiro auxiliar se posicionou frente a região ventral para que o ejaculado fosse colhido via mucosa artificial. O transdutor foi lubrificado com gel à base de carboximetilcelulose, e então inserido no reto de forma que os eletrodos ficassem voltados para a região ventral do animal.

O procedimento de eletroejaculação foi realizado utilizando eletroejaculador de pulso elétrico (ELETROJET®) e sonda retal para pequenos ruminantes de 17 cm e dois eletrodos longitudinais de 10 cm cada, com pulsos elétricos se iniciando em 2V e aumento 1V a cada 10 pulsos sendo a voltagem máxima atingida a de 5V. Cada pulso durou entre três e cinco segundos, com intervalos de dois segundos (FERNANDES et al., 2021).

2.5 Animais do estudo e delineamento experimental

Foram utilizados 30 ovinos, machos, cruzados 1/2 Dorper - Santa Inês, contemporâneos, com idade média de 12 meses e peso médio de 36 kg. Para o esgotamento das reservas epididimárias foram realizadas três colheitas de sêmen com intervalo de dois dias. Na dinâmica escolhida os animais foram grupo controle de si, com três colheitas em intervalo de uma semana entre elas, realizadas antes do início da suplementação. Após isso, os animais foram divididos em três grupos constituídos de dez animais cada, com delineamento dos grupos inteiramente casualizado. Ao primeiro grupo foi administrada suplementação vitamínica e mineral (Grupo VM), no segundo grupo houve

156 apenas suplementação vitamínica (Grupo VIT) e no terceiro grupo a
157 suplementação mineral (Grupo MIN).

158 Após a primeira aplicação (D0) foram colhidos ejaculados dos carneiros
159 em nove momentos distintos, sendo as colheitas realizadas com intervalo de sete
160 dias, correspondentes aos D07, D14, D21, D28, D35, D42, D49, D56 e D63,
161 período da espermatogênese (ORTAVANT, 1958).

162 Os carneiros foram mantidos em baias coletivas com alimentação a base
163 de silagem de milho, concentrado para a manutenção de reprodutores ovinos
164 com 16% de proteína bruta (PB) e 85% de nutrientes digestíveis totais (NDT),
165 água e sal mineral *ad libitum*.

166

167 2.6 Suplementação injetável

168 Para a suplementação vitamínica e mineral injetável foi utilizado o kit
169 adaptador Min-Vit- 500 ML® (Biogenésis Bagó), composto por dois frascos, um
170 vitamínico e um mineral, recomendada pelo fabricante (1 mL para 50kg de peso
171 vivo), recebendo cada grupo três aplicações do produto correspondentes ao
172 intervalo de 21 dias entre cada administração (D0, D21, D42).

173

174 2.7 Avaliação seminal

175

176 Para avaliação macroscópica do sêmen foram observados aspecto
177 (aquoso, leitoso ou cremoso), odor, coloração e volume.

178 A avaliação da cinética espermática foi realizada por técnico treinado,
179 levando em consideração a análise de cinco campos distintos em lâmina pré-
180 aquecida sob microscopia óptica. O turbilhonamento (0-5) foi avaliado com gota
181 de 10 µL (microlitros) de sêmen com aumento de 40x, para motilidade total (%)

182 e vigor (0-5), 10µL de sêmen foram diluídos em 250 µL de
183 Botubov®(Botupharma) e visualizados no aumento de 100x com lâmina e
184 lamínula pré-aquecida.

185 Para análise da concentração espermática, uma amostra de cinco
186 microlitros de sêmen foi diluída em 1500µL de água destilada (1:300) e os
187 espermatozoides foram contados em câmara de Neubauer com aumento de
188 400x. Para avaliação da morfologia espermática, uma alíquota de 20 µL foi
189 diluída em 250 µL de formol salina e avaliada em câmara úmida, em um aumento
190 de 1000x sob microscopia de interferência de contraste (DIC), contando-se 200
191 células, conforme o CBRA (2013).

192

193 2.8 Morfometria testicular

194

195 A mensuração da morfometria testicular foi realizada em quatro
196 momentos distintos, sendo o primeiro antes da primeira aplicação e os demais
197 nos momentos D20, D41 e D62) após as aplicações vitamínicas e minerais,
198 visando a avaliação de ambos os testículos, analisando a circunferência escrotal
199 (CE), largura testicular (LT), comprimento (COMP) e volume testicular (VT). A
200 CE foi medida com auxílio de uma fita métrica em círculo própria para tal. A
201 largura testicular e comprimento mensuradas com auxílio de um paquímetro
202 universal. Para o COMP, considerado os testículos, foi excluído a cauda dos
203 epidídimos, sendo a largura (LARG) mensurada na porção média do testículo no
204 sentido látero-medial, segundo Louvandini et al. (2008). O VT foi calculado
205 segundo metodologia usada por El-Zelaky et al. (2011): $0,0396 \times (\text{Comprimento}$
206 $\text{médio}) \times (\text{CE})^2$.

207

2.9 Pesagem dos animais

A medição de peso corporal dos animais ocorreu sincronizadamente e individualmente. Para tal, foi utilizada balança própria para pesagem de ovino, sendo realizadas quatro pesagens totais, com intervalo de 15 dias entre elas.

2.10 Dosagens hormonais

Foram colhidas amostras contendo 4 mL de sangue por venopunção jugular em 4 momentos distintos, utilizando tubos vacutainer estéreis. A primeira colheita foi realizada anterior a primeira aplicação e as três restantes nos dias D20, D41 e D62. As amostras foram centrifugadas a 800 xg durante 15 minutos para obtenção do soro e armazenada em tubos plásticos tipo eppendorf em duplicatas a -20°C, procedendo-se posterior dosagem das concentrações séricas de cortisol e testosterona.

As análises de cortisol e testosterona foram analisadas por radioimunoensaio (1470 Automatic Gama Conter, Perkin Elmer, USA), utilizando-se kit comercial em fase sólida (RIA Testosteron; Cortisol RIA kit, Bechman Coulter®, USA), seguindo as instruções do fabricante.

2.11. Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas através do software R versão 4.1.3 (R Core Team, 2022).

Para testar as diferenças entre grupo, levando em consideração o tempo, foram ajustados modelos de equações de estimativas generalizadas para cada variável resposta. Estes modelos de regressão são adequados a dados com realização de medidas repetidas no mesmo indivíduo ao longo do tempo, sendo

bastante flexíveis quanto à distribuição de probabilidade da variável resposta (Guimarães & Hirakata, 2012). Foi ajustado um modelo separado para cada variável resposta mensurada, sendo que o grupo e o tempo, juntamente com a interação entre essas duas variáveis, foram utilizados como preditores (variáveis independentes). Para variáveis resposta bem-comportadas e com distribuições de probabilidade aproximadamente simétricas, utilizou-se a distribuição gaussiana, já para variáveis com distribuições assimétricas e presença de valores discrepantes, utilizou-se a distribuição gama. Para todas as variáveis foi utilizada uma estrutura de autocorrelação de simetria composta. Após o ajuste do modelo, testaram-se os efeitos dos grupos, do tempo e da interação de forma global e calcularam-se os valores médios e seus respectivos intervalos de 95% de confiança para cada grupo e para cada tempo. Para verificar a significância da diferença entre grupos para cada tempo, ou da diferença entre tempos para cada grupo, foi necessária a aplicação de testes de comparações múltiplas. Para estes testes aplicou-se a correção de Sidak.

Para avaliar a associação entre variáveis, ajustou-se uma regressão linear clássica e calculou-se o coeficiente de determinação (R^2) e o valor p da regressão. Para avaliar a correlação entre volume testicular e volume de sêmen, o volume testicular foi interpolado para cada uma das datas nas quais o volume de sêmen foi mensurado.

3. Resultados

Nenhum efeito dos tratamentos pode ser observado em relação a características seminais dos animais de diferentes grupos durante o período experimental (D0 a D62) para as características de Vol. ($p=0,76$), Conc. ($p=0,18$), Turb ($p=0,395$), Vig. ($p = 0,291$), Mot ($p=0,06$) (tabela 1).

261

262 **Tabela 1.** Média $\pm$ erro padrão para as características seminais.

Grupo	Vol (ml)	Conc	Turb	Mot	Vigor
Cont.	1116,4 $\pm$ 684,8	8,9 ⁶ $\pm$ 54,4 ⁶	2,7 $\pm$ 1,5	80,2 $\pm$ 20,8	3,8 $\pm$ 0,9
Min.	1057,7 $\pm$ 614,2	81,3 ⁹ $\pm$ 54,9 ⁶	2,5 $\pm$ 1,5	77,9 $\pm$ 24,0	3,7 $\pm$ 0,9
Vit.	1052,2 $\pm$ 659,4	54,3 ⁶ $\pm$ 50,6 ⁶	2,3 $\pm$ 1,5	86,9 $\pm$ 13,6	4,0 $\pm$ 1,0

263 Grupo VM=Grupo com suplementação injetável vitamínica e mineral; Grupo V= Grupo com
 264 suplementação injetável somente vitamínica; Grupo M= Grupo com suplementação injetável
 265 somente mineral; Vol = Volume do ejaculado; Conc= concentração; Turb= turbilhonamento; Mot=
 266 motilidade; Vig = vigor

267

268 Quanto as características morfológicas (tabela 2) defeitos menores
 269 apresentaram resultados marginalmente significativos ($p=0,054$), enquanto que
 270 em defeitos maiores o mesmo não foi observado ($p=0,217$), entretanto ao
 271 analisarmos defeitos totais pode-se notar significância estatística ($p=0,02$).

272

273 **Tabela 2.** Média $\pm$ erro padrão para as características morfológicas

Grupo	Defeitos menores	Defeitos maiores	Defeitos totais
Cont.	9,9 $\pm$ 11,7	4,2 $\pm$ 5,8	13,8 $\pm$ 12,9
Vit.	13,1 $\pm$ 13,5	3,2 $\pm$ 4,6	16,0 $\pm$ 14,4
Min.	7,1 $\pm$ 10,6	2,8 $\pm$ 3,1	9,7 $\pm$ 11,0

274 Grupo VM=Grupo com suplementação injetável vitamínica e mineral; Grupo V= Grupo com
 275 suplementação injetável somente vitamínica; Grupo M= Grupo com suplementação injetável
 276 somente mineral.

277

278 Não houveram diferenças estatísticas a efeito global entre os grupos
 279 sobre as características morfométricas testiculares (tabela 3) CE ($p=0,172$), Larg

280 E ($p=0,115$), Larg D ($p=0,641$), Comp E ($p=0,368$), Comp D ($p=0,319$), Alt E
 281 ($p=0,014$), Alt D ($p=0,16$), Vol test ($p=0,121$), entretanto foi observada forte
 282 correlação entre peso, volume testicular e circunferência escrotal (Figuras 1 e
 283 2)

284 Tabela 3. Média $\pm$ erro padrão para as características morfométricas testiculares

Grup		Larg.Test	Larg.Test.	Comp.Test.	Comp.Test.	Alt.Test.	Alt.Test.	Vol.Tes
o	CE	E	D	E	D	E	D	t
Cont.	28,9							654,37
	4 ±	5,04 ± 0,55	5,13 ± 0,62	5,30 ± 0,63	5,10 ± 0,52	7,81 ± 1,02	7.97 ± 0,98	±
	2,00							190,68
Min.	28,9							662,71
	8 ±	5,08 ± 0,62	5,11 ± 0,58	5,23 ± 0,71	5,11 ± 0,61	8,06 ± 1,13	8,12 ± 1,10	±
	2,50							237,39
Vit.	27,9							591,46
	8 ±	4,81 ± 0,47	5,02 ± 0,42	5,04 ± 0,53	4,90 ± 0,44	7,48 ± 0,80	7,71 ± 0,82	±
	1,84							153,53

285 Grupo VM=Grupo com suplementação injetável vitamínica e mineral; Grupo V= Grupo com
 286 suplementação injetável somente vitamínica; Grupo M= Grupo com suplementação injetável
 287 somente mineral; CE=Circunferência escrotal; Larg.Test E=Largura testicular esquerda;
 288 Larg.Test.D= Largura testicular direita; Comp.Test.E= comprimento testicular esquerdo;
 289 Comp.Test.D= comprimento testicular direito; Alt.Test.E= altura testicular esquerda; Alt.Test.E=
 290 altura testicular direita; Vol.Test= volume testicular.

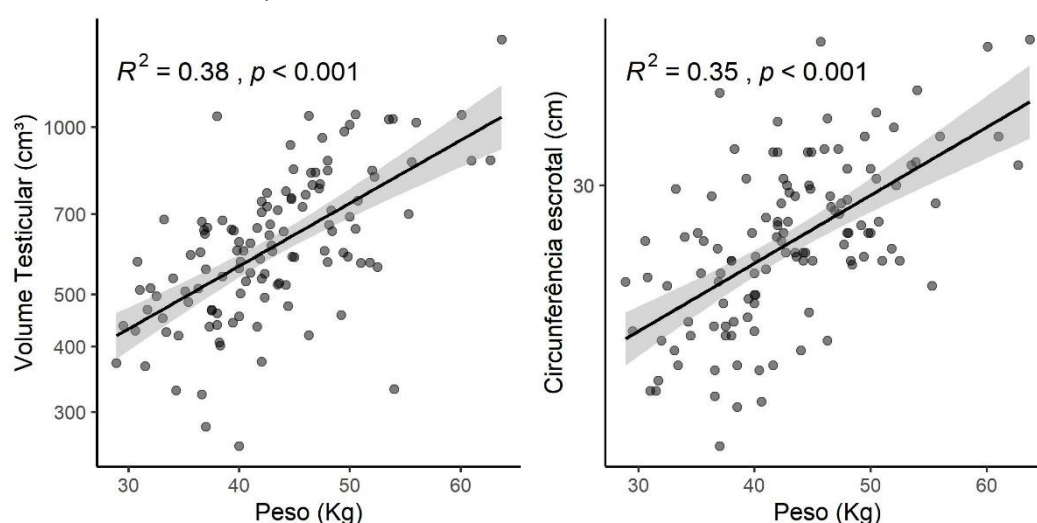


Figura1: correlação entre peso, volume testicular e circunferência escrotal

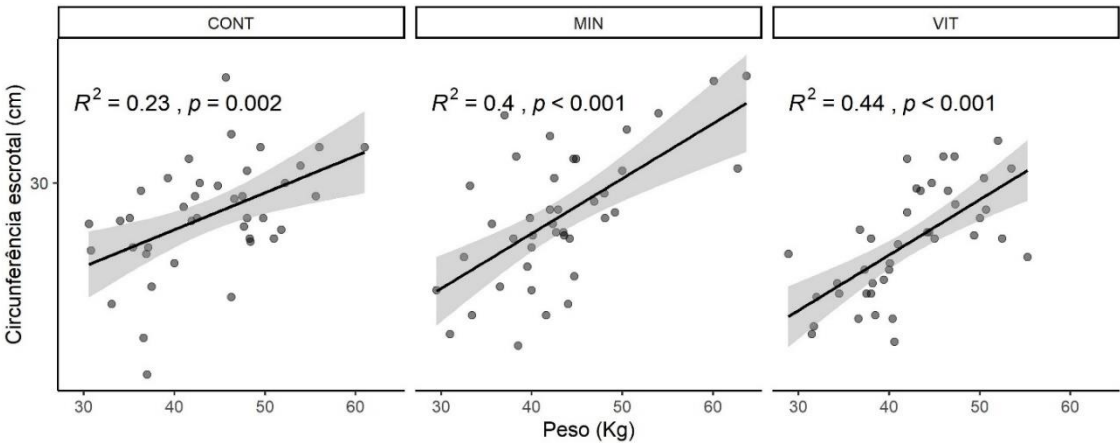


Figura 2: correlação entre peso e circunferência escrotal nos três grupos experimentais

Foi observado efeito global marginal significativo (tabela 4) quanto ao parâmetro testosterona ($p= 0,058$), o que pode indicar tendência a melhores médias de concentração sérica deste hormônio por parte do grupo controle em relação ao grupo mineral (figura 3).

Tabela 4. Tabela 3. Média $\pm$ erro padrão para concentração de testosterona segundo os grupos experimentais vitamina e mineral, mineral e vitamina .

Grupo	Testosterona (ng/ml)
Vit.Min.	3,438 $\pm$ 4,966
Min.	1,966 $\pm$ 1,456
Vit.	2,375 $\pm$ 4154

Grupo VM=Grupo com suplementação injetável vitamínica e mineral; Grupo V= Grupo com suplementação injetável somente vitamínica; Grupo M= Grupo com suplementação injetável somente mineral.

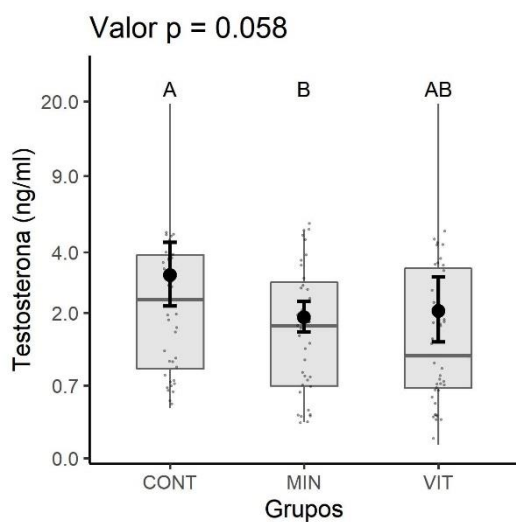


Figura 3. Concentração de testosterona nos diferentes grupos ao longo do período experimental.

Não houveram também diferenças no ganho de peso dos indivíduos dos três tratamentos, sendo observada apenas um aumento médio dos valores ao longo do tempo (figura 4).

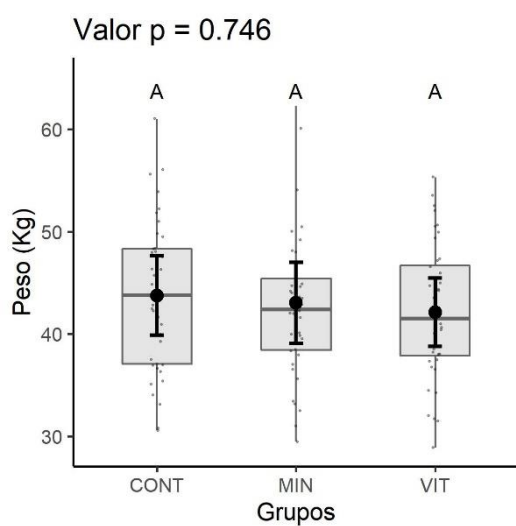


Figura 4. Peso corporal

4. Discussão

312 Este estudo avaliou o efeito da suplementação injetável de quatro
313 microminerais e duas vitaminas sobre a qualidade seminal de carneiros em
314 jovens reprodutores. O suplemento utilizado é indicado em bula para o ganho de
315 peso, mas por apresentar na sua composição nutrientes importantes para a
316 reprodução, foi decidido testá-lo e avaliar sua efetividade na melhora de
317 parâmetros seminais de carneiros.

318 Nos organismos animais, os elementos minerais tem importante
319 participação junto ao bom funcionamento de diferentes sistemas vitais, podendo-
320 se citar o endócrino, reprodutivo e imunológico (referência). Estes, exercem
321 também, importante influencia sob o transporte e metabolismo de enzimas e
322 proteínas de membrana, uma vez que participam de seu equilíbrio eletrolítico
323 celular. dentre o grupo dos microminerais (referência). Podemos destacar o
324 selênio, cobre, manganês e zinco como aqueles que de maneira íntima se
325 relacionam a melhora do processo de espermatogênese e a fertilidade de
326 machos, possibilitando assim bom desempenho reprodutivo (referência).

327 O início da puberdade em carneiros é atingido aos seis meses, assim,
328 para esse experimento foram selecionados animais próximos aos 12 meses a
329 fim de garantir que estivessem sexualmente maduros e padronizados quanto a
330 idade dos animais nos grupos (HULET & SHELTON, 2004). Essa idade dos
331 animais também corrobora com Chacón et al. (2019), que relataram significativa
332 melhora na qualidade seminal ao analisar a concentração de espermatozoides
333 e a motilidade progressiva durante o desenvolvimento de cordeiros, onde as
334 variáveis qualitativas seminais melhoraram dos seis meses aos dez meses,
335 quando ocorreu então a estabilização dos valores, permanecendo quase
336 inalteradas após um ano de vida.

Os resultados referentes a volume, concentração, turbilhonamento, motilidade e vigor demonstraram semelhança entre todos os grupos, provando que tanto a suplementação vitamínica como micromineral não foi capaz de alterar tais características seminais na espécie ovina. O período experimental foi de 62 dias, suficiente apenas para um ciclo completo da espermatogênese dos ovinos que segundo Cardoso & Queiroz (1988) corresponde a 42,28 dias, sendo assim os espermatozoides armazenados ou que já estavam em formação durante a espermatogênese após a primeira administração, não foram influenciados pelo mesmo, conseqüentemente não havendo interferência nos parâmetros seminais nas semanas que sucederam a administração. Tais resultados também foram encontrados por Porfirio et al. (2020) ao analisar sêmen fresco e refrigerado de machos ovinos suplementados com nutracêuticos comercial contendo entre outros, os mesmos componentes vitamínicos e minerais e utilizando metodologia similar

A suplementação de selênio e vitamina E já se mostraram eficazes na melhora da concentração espermática e turbilhonamento da espécie devido ao aumento da ação antioxidante contra radicais livres que acabam por causar danos aos espermatozoides (Brzezinski-slebozinska, et al. 1995). Trabalho realizado por Gorbani A (2018) no qual machos ovinos foram suplementados com estes dois elementos corrobora com isso, uma vez que houveram correlação positivas entre a suplementação e melhora destas características seminais. Entretanto, quando comparamos tais dados com os resultados obtidos em nosso estudo isso não acontece, podendo tais diferenças serem justificadas devido a metodologia com suplementação única em nosso experimento, a dose administrada e maior período experimental (90 dias)

Kumar et al. (2006) ao suplementar por período de 6 meses, machos bovinos mestiços com idade aproximada de 24 meses e peso vivo de 300kg observou diferença em características seminais como volume do ejaculado, motilidade e elevação dos níveis séricos de testosterona. Já na espécie suína, Audet et al., (2004) após previa suplementação de 4 meses em jovens machos com idade aproximadamente de 12 meses, notaram melhores resultados para volume e motilidade espermática.

Os diferentes tratamentos foram capazes de alterar a porcentagem de defeitos menores e totais nas células espermáticas onde em ambos a média do grupo mineral foi maior que do grupo suplementado apenas com vitaminas. O selênio é capaz de prevenir deformações na cauda de espermatozoides e manter a integridade de membrana, auxiliando ainda nas funções motora e metabólica, sendo sua deficiência relacionada com o aumento da contagem de gotas citoplasmáticas e aumento da presença de radicais livres que causam danos a estas células (Mahmoud, et al. Brzezinski, Slobodzinska, et al. (1995). Frente a essas funções exercidas pelo Se, este pode ter causado a diminuição dos defeitos espermáticos menores em nosso estudo.

Em nosso estudo não houveram alterações quanto as características morfológicas dos carneiros suplementados de diferentes grupos, sendo esses resultados compatíveis com Ahad Ghorbani (2018) no qual animais suplementados com selênio e zinco ou sua combinação não apresentaram diferenças morfológicas testiculares do grupo controle. Já Uderwood; Somers.(1969) observaram que jovens reprodutores suplementados com Zn junto a sua dieta tiveram aumento significativo no desenvolvimento de seus testículos.

Dentre os hormônios, a testosterona é a principal responsável pelos comportamentos característicos de cortejo e de libido nos carneiros, sua produção tende a aumentar a medida que os animais atingem o período púbere e consequentemente se tornam sexualmente ativos, animais que venham a apresentar distúrbios relacionados a produção deste, tem baixo interesse pelo sexo oposto e não apresentam nem mesmo comportamentos relacionados a tentativa de cópula, sendo considerados assexuados e impróprios para reprodução, além disso animais que tem menores concentrações séricas de testosterona tendem a ter medidas morfométricas testiculares menores que os demais (Stellflug et al., 2004).

Neste estudo as concentrações de testosterona mostraram tendência a serem maiores no grupo suplementado com vitaminas e minerais, resultado este muito próximo ao encontrado por (Bearden e Fuquay, 1997 que ao realizar suplementação de Se e Vit. E em machos da espécie, constatou que ambos foram capazes de aumentar os níveis séricos e consequentemente de maneira direta melhorar as atividades sexuais secundárias, sendo que demonstraram que os níveis de testosterona, FSH e LH foram negativamente afetados pela deficiência micromineral e vitamínica, enquanto matos & thomas (1991) descreveram a estreita correlação existente entre o tamanho morfométrico dos testículos e as concentrações dos três hormônios supra citados.

5. Conclusão

Nossos resultados demonstram que a suplementação vitamínica e mineral injetável tem ação benéfica na melhoria dos índices reprodutivos em ovinos, visto que diminui os defeitos espermáticos e aumenta as concentrações

de testosterona. Além disso, a utilização destes compostos pode ser utilizada de maneira segura junto a suplementação alimentar e auxiliar na melhora da qualidade seminal sem prejudicar a absorção de outros elementos.

Os resultados encontrados são de grande valia no campo da reprodução animal. Entretanto devido a dinâmica do experimento e disponibilidade dos animais para sua realização implicando assim, no período experimental curto,, mais estudos se fazem necessários para que seja possível detalhar melhor a biodisponibilidade das vitaminas e minerais analisados, bem como sua implicação sobre demais elementos que compõem a qualidade seminal na espécie ovina.

8 Declaração de interesse

Os autores declaram que não têm interesses financeiros ou relacionamentos pessoais que possam ter influenciado o trabalho relatado neste artigo.

9 Agradecimentos

Agradecemos ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasil (código de financiamento 001).

10 Referencias

Bearden, H.J., Fuquay, J.W., 1997. Applied animal reproduction., 4th ed. Reston Publishing Company, Inc., Reston.

Bindari, Y.R., Shrestha, S., Shrestha, N., Gaire, T.N., 2013. Effects of nutrition on reproduction - a review. Advances in Applied Science Research 4, 421–429.

- 443 Boitani, C., Puglisi, R., 2009. Selenium, a Key Element in Spermatogenesis and
 444 Male Fertility. pp. 65–73. https://doi.org/10.1007/978-0-387-09597-4_4
- 445 Brzezińska-Ślebodzińska, E., Ślebodziński, A.B., Pietras, B., Wieczorek, G.,
 446 1995. Antioxidant effect of vitamin E and glutathione on lipid peroxidation in
 447 boar semen plasma. *Biol Trace Elem Res* 47, 69–74.
 448 <https://doi.org/10.1007/BF02790102>
- 449 Cardoso, F.M., Queiroz, G.F., 1988. Duration of the cycle of the seminiferous
 450 epithelium and daily sperm production of Brazilian hairy rams. *Anim Reprod*
 451 *Sci* 17, 77–84. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(88\)90047-4](https://doi.org/10.1016/0378-4320(88)90047-4)
- 452 Chacón Liliana J, Harvey Lozano M, Jaumer Orozco C, Ariosto Ardila S, 2019.
 453 Characteristics of the puberty in hair ram lambs and its crosses in Colombia
 454 under low altitude conditions. *Revista MVZ* 24, 7097–7103.
- 455 Comissão de andrologia do colégio Brasileiro animal, 2013. Manual Para Exame
 456 Andrológico e Avaliação De Sêmen Animal. Belo Horizonte.
- 457 de Moura Fernandes, D.A., de Souza, C.V., Alvarez Balaro, M.F., Rodrigues
 458 Santos, J.D., Barbosa dos Santos, V.M., Campos Pereira da Costa, M.M.,
 459 da Silva Carvalho, A.B., Rios Rodrigues, A.L., Ungerfeld, R., Brandão, F.Z.,
 460 2021. Response of rams to electroejaculation following the administration of
 461 oxytocin and cloprostenol with or without GnRH. *Theriogenology* 173, 32–
 462 36. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.06.019>
- 463 Elaref, M.Y., Solouma, G.M., Abdel-latif, D.A., 2021. Effect of pre-pubertal growth
 464 rate of Sohagi ram lambs on some physiological parameters and sexual
 465 behavioral patterns at puberty. *Anim Reprod* 18.
 466 <https://doi.org/10.1590/1984-3143-ar2021-0104>

- 467 Geary, T.W., Kelly, W.L., Spickard, D.S., Larson, C.K., Grings, E.E., Ansotegui,
 468 R.P., 2016. Effect of supplemental trace mineral level and form on
 469 peripubertal bulls. *Anim Reprod Sci* 168, 1–9.
 470 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.02.018>
- 471 Ghorbani, A., Moeini, M.M., Souri, M., Hajarian, H., 2018. Influences of dietary
 472 selenium, zinc and their combination on semen characteristics and
 473 testosterone concentration in mature rams during breeding season. *J Appl*
 474 *Anim Res* 46, 813–819. <https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1406858>
- 475 Goulart, R.C.D., Corsi, M., Bailey, D.W., Zocchi, S.S., 2008. Cattle Grazing
 476 Distribution and Efficacy of Strategic Mineral Mix Placement in Tropical Brazilian
 477 Pastures. *Rangel Ecol Manag* 61, 656–660. <https://doi.org/10.2111/08-137.1>
- 478 GRILLO, G.F., GUIMARÃES, A.L.L., COUTO, S.R.B., ABIDUFIGUEIREDO,
 479 G.J.C., LEQUEU, B., 1995. As Vitaminas: Do Nutriente ao Medicamento .
 480 Tec & Doc Lavoisier, Sao Paulo.
- 481 Guimarães, L.S.P., Hirakata, V.N., 2012. Uso do Modelo de Equações de
 482 Estimativas Generalizadas na análise de dados longitudinais. *Revista HCPA*
 483 32, 503–511.
- 484 Hemalatha, K., Arangasamy, A., Selvaraju, S., Krishnaiah, M.V., Rani, G.P.,
 485 Mishra, A., Soren, N.M., Reddy, I.J., Ravindra, J.P., 2018. Effect of dietary
 486 supplementation of organic zinc and copper on in vitro semen fertility in goat.
 487 *Small Ruminant Research* 161, 68–72.
 488 <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.02.003>
- 489 HULET, C.V., SHELTON, M., 2004. Ovinos e caprinos, in: HAFEZ, E.S.E.,
 490 HAFEZ, B. (Eds.), *Reprodução Animal*. Manole, São Paulo, pp. 397–441.

- 491 Kaur, P., Bansal, M.P., 2004. Effect of Experimental Oxidative Stress on
492 Steroidogenesis and DNA Damage in Mouse Testis. J Biomed Sci 11, 391–
493 397. <https://doi.org/10.1159/000077108>
- 494 Madruga, M.S., Sousa, W.H. de, Rosales, M.D., Cunha, M. das G.G., Ramos,
495 J.L. de F., 2005. Qualidade da carne de cordeiros Santa Inês terminados
496 com diferentes dietas. Revista Brasileira de Zootecnia 34, 309–315.
497 <https://doi.org/10.1590/S1516-35982005000100035>
- 498 Marai, I.F.M., El-Darawany, A.-H.A., Ismail, El.-S.A.-F., Abdel-Hafez, M.A.M.,
499 2009. Reproductive and physiological traits of Egyptian Suffolk rams as
500 affected by selenium dietary supplementation and housing heat radiation
501 effects during winter of the sub-tropical environment of Egypt (Short
502 Communication). Arch Anim Breed 52, 402–409.
503 <https://doi.org/10.5194/aab-52-402-2009>
- 504 Matos, C.A.P., Thomas, D.L., 1992. Physiology and genetics of testicular size in
505 sheep: a review. Livest Prod Sci 32, 1–30. [https://doi.org/10.1016/S0301-](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(12)80009-1)
506 [6226\(12\)80009-1](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(12)80009-1)
- 507 Mungai Chacur, M.G., Ferreira Aurelio, P.T., Oba, E., Laposy, C.B., Scalon
508 Junior, O., Inague, L., Kronka, S.D.N., 2010. Influência de um nutracêutico no
509 sêmen, testosterona, cortisol, eritrograma e peso corpóreo em touros jovens Bos
510 taurus indicus. Semin Cienc Agrar 31, 439–449.
- 511 Narasimhaiah, M., Arunachalam, A., Sellappan, S., Mayasula, V., Guvvala, P.,
512 Ghosh, S., Chandra, V., Ghosh, J., Kumar, H., 2018. Organic zinc and
513 copper supplementation on antioxidant protective mechanism and their

- 514 correlation with sperm functional characteristics in goats. *Reproduction in*
 515 *Domestic Animals* 53, 644–654. <https://doi.org/10.1111/rda.13154>
- 516 Piagentini, M., Silva, D., Dell'Aqua, C., Moya-Araujo, C., Codognoto, V., Ramos,
 517 A., Oba, E., 2017. Effect of selenium supplementation on semen
 518 characteristics of Brazil's ram. *Reproduction in Domestic Animals* 52, 355–
 519 358. <https://doi.org/10.1111/rda.12903>
- 520 Porfirio, K., Marafon, A., Teixeira, L., Braga, C., Oliveira, M., Furtado, L., Costa,
 521 S., Cardoso, J., Paula, N., 2020. INFLUÊNCIA DE NUTRACÊUTICO
 522 COMERCIAL SOBRE OS PARÂMETROS ESPERMÁTICOS DE SÊMEN
 523 FRESCO E DESCONGELADO EM OVINOS. *Revista da Academia de*
 524 *Ciências do Piauí* 1. <https://doi.org/10.29327/261865.1.1-2>
- 525 Punab, M., Poolamets, O., Paju, P., Vihljajev, V., Pomm, K., Ladva, R., Korrovits,
 526 P., Laan, M., 2016. Causes of male infertility: a 9-year prospective
 527 monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts. *Human*
 528 *Reproduction*. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew284>
- 529 R. Ortavant, 1959. DÉROULEMENT ET DURÉE DU CYCLE
 530 SPERMATOGÉNÉTIQUE CHEZ LE BÉLIER. PREMIÈRE PARTIE. *Annales*
 531 *de zootechnie* 8, 183–244.
- 532 Ridler, A.L., West, D.M., 2010. Examination of teeth in sheep health
 533 management. *Small Ruminant Research* 92, 92–95.
 534 <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.04.014>
- 535 Stellflug, J.N., Perkins, A., LaVoie, V.A., 2004. Testosterone and luteinizing
 536 hormone responses to naloxone help predict sexual performance in rams¹.
 537 *J Anim Sci* 82, 3380–3387. <https://doi.org/10.2527/2004.82113380x>

- 538 Stradaoli, G., Sylla, L., Zelli, R., Chiodi, P., Monaci, M., 2004. Effect of L-carnitine
539 administration on the seminal characteristics of oligoasthenospermic
540 stallions. *Theriogenology* 62, 761–777.
541 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.11.018>
- 542 Underwood, E., Somers, M., 1969. Studies of zinc nutrition in sheep. I. The
543 relation of zinc to growth, testicular development, and spermatogenesis in
544 young rams. *Aust J Agric Res* 20, 889. <https://doi.org/10.1071/AR9690889>
- 545 Venkata Krishnaiah, M., Arangasamy, A., Selvaraju, S., Guvvala, P.R., Ramesh,
546 K., 2019. Organic Zn and Cu interaction impact on sexual behaviour, semen
547 characteristics, hormones and spermatozoal gene expression in bucks
548 (*Capra hircus*). *Theriogenology* 130, 130–139.
549 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.02.026>
- 550