

# AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TRATAMENTO COM ZINCO ORGÂNICO SOBRE A REPRODUÇÃO E NO COMPORTAMENTO DE RATAS (*Rattus norvegicus*)<sup>1</sup>

Lorena Pereira Marum Jorge<sup>2</sup>  
Náira Borges Amaro<sup>3</sup>  
Elson Alves Costa<sup>4</sup>  
Patrícia Maria Ferreira<sup>4</sup>  
Reginaldo Nassar Ferreira<sup>4</sup>

JORGE<sup>2</sup>, L. P. M.; AMARO<sup>3</sup>, N. B.; COSTA<sup>4</sup>, E. A.; FERREIRA<sup>4</sup>, P. M., FERREIRA<sup>4</sup>, R. N. Avaliação dos efeitos do tratamento com zinco orgânico sobre a reprodução e no comportamento de ratas (*Rattus Norvegicus*). *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar, Umuarama*, v. 10, n. 1, p. 15-20, 2007

**RESUMO:** O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do tratamento com zinco orgânico no desempenho reprodutivo e no comportamento, por meio de testes de natação forçada, campo aberto e sono induzido por barbitúrico. Foram utilizadas 21 ratas Wistar (*Rattus norvegicus*), distribuídas em três grupos de sete animais cada, acomodadas em caixas individuais, submetidas a diferentes tratamentos: SZn (controle - sem zinco); ZnP (zinco na forma quelada, por via intramuscular); ZnO (zinco orgânico na dieta, 5 mg/kg). Não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos SZn (10,4 ± 2,4 filhotes), ZnP (6,9 ± 2,6 filhotes) e ZnO (3,3 ± 2,6 filhotes), com relação ao desempenho reprodutivo. No teste de desespero comportamental, os tempos de imobilidade dos animais tratados com SZn (91,1 ± 15 seg.), ZnP (71,2 ± 17 seg.) e ZnO (79,9 ± 20 seg.) não apresentaram diferenças estatísticas ( $p > 0,05$ ). Na avaliação hipno-sedativa, não foram observadas diferenças estatísticas ( $p > 0,05$ ) no tempo de indução (SZn = 6,6 ± 2; ZnP = 5,3 ± 2; ZnO = 3,6 ± 0,3 min.), nem no tempo de recuperação (SZn = 295 ± 15; ZnP = 320 ± 34; ZnO = 355 ± 38 min.). Os outros parâmetros comportamentais avaliados (número de levantamentos, auto-limpeza, tempo na periferia e número de quadrados invadidos) também não foram influenciados ( $p > 0,05$ ). Concluiu-se que o zinco, na forma orgânica, administrado via parenteral ou oral, não influencia a reprodução nem o comportamento de ratas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Zinco. Reprodução animal. Comportamento. Ratas.

## EVALUATION OF THE ORGANIC ZINC TREATMENT EFFECTS IN FEMALE RAT (*Rattus norvegicus*) REPRODUCTION AND BEHAVIOUR

JORGE<sup>2</sup>, L. P. M.; AMARO<sup>3</sup>, N. B.; COSTA<sup>4</sup>, E. A.; FERREIRA<sup>4</sup>, P. M., FERREIRA<sup>4</sup>, R. N. Evaluation of the organic zinc treatment effects in female rat (*Rattus Norvegicus*) reproduction and behaviour. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar, Umuarama*, v. 10, n. 1, p. 15-20, 2007

**ABSTRACT:** This article aims at evaluating the effects of the organic zinc treatment over the reproductive performance and behavior through forced swimming tests, open field, and barbiturate-induced sleep. 21 female Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were used, distributed into three groups of seven animals, placed in individual boxes, and submitted to different treatments: SZn (control - without zinc), ZnP (zinc for intramuscular administration), and ZnO (organic zinc in the diet, 5 mg/kg). Statistic differences were not observed ( $p > 0,05$ ) among the treatments SZn (10.4 ± 2.4 nestlings), ZnP (6.9 ± 2.6 nestlings), and ZnO (3.3 ± 2.6 nestlings), in relation to the number of nestlings. In the behavioral despair test, the immobility time of the animals treated with SZn (91.1 ± 15 seg.), ZnP (71.2 ± 17 seg.), and ZnO (79.9 ± 20 seg) did not present any statistic differences ( $p > 0,05$ ). Statistic differences ( $p > 0,05$ ) were neither present at the induction time (SZn = 6.6 ± 2; ZnP = 5.3 ± 2; ZnO = 3.6 ± 0.3 min), nor in the recovery time (SZn = 295 ± 15; ZnP = 320 ± 34; ZnO = 355 ± 38 min) at the hypno-sedative evaluation. The other behavioral parameters evaluated (number of risings, self-cleaning, time in the periphery, and number of invaded squares) were not altered as well. It was concluded that zinc, in its organic form, either parenterally or orally administered, neither influences the reproduction nor the behavior of female rats.

**KEYWORDS:** Zinc. Animals Reproduction. Behavior. Female Rats.

<sup>1</sup> Pesquisa apoiada pelo Laboratório LAPROFARMA e pela Empresa ALLTEC

<sup>2</sup> Zootecnista, LAPROFARMA / ALLTEC

<sup>3</sup> Bióloga, UFG

<sup>4</sup> Professores do Instituto de Ciências Biológicas/UFG, nassar@icb.ufg.br

## EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON ZINC ORGÁNICO SOBRE LA REPRODUCCIÓN Y COMPORTAMIENTO DE RATAS (*Rattus norvegicus*)

JORGE<sup>2</sup>, L. P. M.; AMARO<sup>3</sup>, N. B.; COSTA<sup>4</sup>, E. A.; FERREIRA<sup>4</sup>, P. M., FERREIRA<sup>4</sup>, R. N. Evaluación de los efectos del tratamiento con zinc orgánico sobre la reproducción y comportamiento de ratas (*Rattus Norvegicus*). *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar, Umuarama*, v. 10, n. 1, p. 15-20, 2007

**RESUMEN:** Esta investigación tuvo el objetivo de evaluar el efecto del tratamiento con zinc orgánico en el desempeño reproductivo y en el comportamiento de ratas, por medio de testes de natación forzada, campo abierto y sueño inducido por barbitúrico. Fueron utilizadas 21 ratas Wistar (*Rattus norvegicus*), distribuidas en tres grupos de siete animales cada, acomodadas en cajas individuales sometidas a diferentes tratamientos: SZn (control – sin zinc); ZnP (zinc en la forma quelada, por vía intramuscular); ZnO (zinc orgánico en la dieta, 5 mg/kg). No fueron observados diferencias estadísticas entre los tratamientos SZn ( $10,4 \pm 2,4$  crías), ZnP ( $6,9 \pm 2,6$  crías) y ZnO ( $3,3 \pm 2,6$  crías), con relación al desempeño reproductivo. En el test de desesperación comportamental los tiempos de inmovilidad de los animales tratados con SZn ( $91,1 \pm 15$  seg.), ZnP ( $71,2 \pm 17$  seg.) y ZnO ( $79,9 \pm 20$  seg.) no presentaron diferencias estadísticas ( $p > 0,05$ ). En la evaluación de actividad sedante, no fueron observadas diferencias estadísticas ( $p > 0,05$ ) en el tiempo de inducción (SZn =  $6,6 \pm 2$ ; ZnP =  $5,3 \pm 2$ ; ZnO =  $3,6 \pm 0,3$  min.), ni en el tiempo de recuperación (SZn =  $295 \pm 15$ ; ZnP =  $320 \pm 34$ ; ZnO =  $355 \pm 38$  min.). Otros parámetros de comportamientos evaluados (número de levantamientos, autolimpieza, tiempo en la periferia y número de cuadrados invadidos) también no fueron influenciados ( $p > 0,05$ ). Se concluyó que el zinc, en la forma orgánica, administrado vía parenteral o oral, no influi en la reproducción ni en el comportamiento de ratas.

**PALABRAS CLAVE:** Zinc. Reproducción animal. Comportamiento. Ratas.

### 1. Introdução

Devido à multiplicidade de funções do zinco, as manifestações de sua deficiência podem variar desde aquelas inespecíficas e discretas, como diminuição de apetite e paladar alterado, até uma clínica exuberante, como no caso de dermatite, hipogonadismo ou retardo do crescimento, (CUNHA; CUNHA, 1998). O zinco é essencial nos processos de crescimento e desenvolvimento, reprodução, imunidade, proteção antioxidante, estabilidade das membranas, (SALGUEIRO et al., 1999). Estefan et al. (1998) demonstraram que o efeito do GH no crescimento depende da presença do zinco. Cousins e Hempe (1991) mostraram que o zinco inibe as reações de propagação de radicais livres por induzir a síntese de metalotioneína, substância eficiente na remoção de radicais livres. Underwood (1977) demonstrou que a espermatogênese e o desenvolvimento primário e secundário dos órgãos sexuais em machos e todas as fases do processo reprodutivo em fêmeas podem ser afetados pela deficiência de zinco. Os efeitos da deficiência de zinco na dieta conduzem a uma maior suscetibilidade às infecções, retardo do crescimento e da função reprodutiva, diminuição da tiroxina no plasma do ser humano e animais de experimentação, bem como de alguns animais domésticos (PRASAD, 1985).

O zinco tem sido suplementado na dieta de animais como sais inorgânicos (ZnO e ZnSO<sub>4</sub>),

entretanto, Naylor e Ralston (1991) demonstraram que a quantidade de minerais absorvidos nestas formas é imprecisa. Segundo Cao et al. (2000) uma alternativa é o fornecimento do zinco na forma de quelato, levando a uma maior eficiência de absorção, com diminuição da toxicidade.

O objetivo do presente trabalho foi estudar o efeito do zinco orgânico, na dieta ou por via parenteral, na reprodução e no comportamento de ratas.

### 2. Material e Métodos

#### 2.1 Drogas

Foram fornecidos 2-amino acetozinco<sup>1</sup> e Bioplex Zinco<sup>2</sup>, Pentobarbital sódico<sup>3</sup> e Cloreto de Sódio<sup>4</sup>.

#### 2.2. Animais

O experimento foi realizado no Biotério Experimental do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Goiás. Foram utilizadas vinte e uma ratas Wistar (*Rattus norvegicus*), distribuídas em três grupos de sete animais cada. As ratas foram colocadas em caixas individuais, em ambiente com controle de temperatura e luminosidade. Os animais tiveram livre acesso à ração balanceada, contendo 110mg de zinco, e água.

<sup>1</sup> Laprovect, Goiânia, Goiás, Brasil.

<sup>2</sup> Laprovect, Goiânia, Goiás, Brasil.

<sup>3</sup> FONTOVETER, Itapiro - São Paulo, Brasil.

<sup>4</sup> SIGMA, Aldrich, LTDA, Brasil.

## 2.3. Tratamentos

Na fase pré-experimental, com quarenta dias de duração, os animais receberam ração balanceada (22% de PB, 2700Kcal de ED, minerais e vitaminas), porém sem zinco, e ficaram separados dos machos. Após o início do período experimental, todas as ratas foram acasaladas por três dias. Na fase experimental, as ratas, em grupos de sete animais, foram submetidas aos seguintes tratamentos: Grupo 1) ração sem zinco (SZn) = controle; Grupo 2) zinco na forma quelatada (ZnP) - os animais recebiam diariamente zinco na dose de 0,5 mg/kg, administrado por via intramuscular, na forma quelatada, correspondendo ao volume de 0,06 mL de solução de 2 amino acetozinco; Grupo 3) Ração com zinco na forma orgânica (ZnO) - os animais receberam zinco na forma de zinco orgânico na dieta, Bioplex Zinco<sup>5</sup>. O nível de zinco na dieta foi de 110 mg/kg de ração e, considerando o consumo médio dos animais, este grupo recebeu diariamente uma dose de 5 mg/kg de zinco.

Os animais que não receberam zinco injetável (Grupos 1 e 3), foram submetidos a aplicação intramuscular de solução salina (0,9 %) em volume correspondente.

## 2.4. Parâmetros analisados

A quantificação de ninhadas foi avaliada após acasalamento e gestação. Foram acompanhados os partos das ratas, sendo quantificadas as ninhadas no dia dos nascimentos.

Nos testes comportamentais para avaliar as atividades centrais específicas, foram utilizadas as metodologias descritas abaixo.

O teste de desespero comportamental (PORSOLT et al; 1977), que consiste em colocar os animais, individualmente, em cilindros plásticos contendo água, por um período de cinco minutos, no qual é registrado o tempo total de imobilidade para cada animal, além da latência para apresentação de tal comportamento, a partir do segundo minuto. Considera-se imobilidade quando o animal faz apenas os movimentos mínimos para manter a cabeça fora da água.

No teste de campo aberto (ARCHER, 1973) avalia-se a emocionalidade e a atividade exploratória: número de levantamentos e auto-limpezas, tempo na periferia e número de quadrados invadidos. Segundo Montgomery (1955), a tendência natural do animal em um ambiente novo é a de explorá-lo, apesar do conflito com o medo provocado pelo ambiente novo.

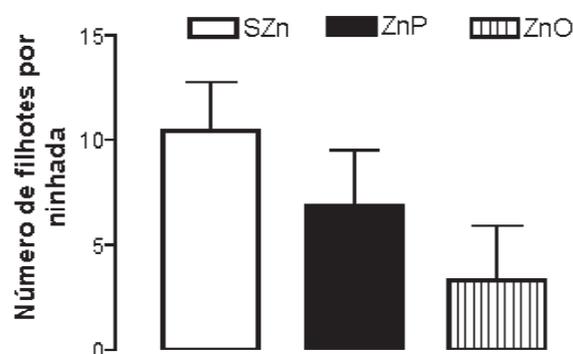
Sono induzido por barbitúrico (CARLINI et al., 1986), que permite detectar a possível ação depressora ou estimulante no SNC, que possa interferir na latência e/ou na duração do sono. Todos os animais foram tratados por via intraperitoneal com pentobarbital sódico na dose de 50 mg/kg, sendo marcado o tempo de latência para a perda do reflexo postural e o tempo para a recuperação do mesmo.

## 2.5. Análise estatística

Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. Foi usado o delineamento estatístico inteiramente casualizado e a comparação de médias pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Os dados não paramétricos foram analisados utilizando o teste U de Mann-Whitney (diferenças entre dois grupos) ou teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn (diferenças entre mais de dois grupos) (SOKAL; ROHLF, 1981).

## 3. Resultados e discussão

Os resultados da avaliação dos parâmetros reprodutivos mostraram que o número de filhotes não foi alterado estatisticamente ( $p > 0,05$ ) com os diferentes tratamentos (SZn =  $10,4 \pm 2,4$ , ZnP =  $6,9 \pm 2,6$  e ZnO =  $3,3 \pm 2,6$  filhotes) como mostra a figura 01.



**Figura 1** – Efeito dos diferentes tratamentos na capacidade reprodutiva das ratas avaliado pelo número de filhotes por ninhada. O resultado foi expresso em média  $\pm$  erro padrão da média do número de filhotes nascidos. (SZn = sem zinco; ZnP = zinco na forma de quelato pela via intramuscular; ZnO = zinco orgânico na dieta).

Animais deficientes em zinco podem absorver quase 100% do Zn alimentar (CUNHA; CUNHA, 1998). O nível utilizado foi de 5,0 mg de zinco por quilo de peso. Níveis semelhantes de ingestão diária são recomendados na literatura para garantir o metabolismo adequado do indivíduo. O metabolismo do zinco está relacionado com as concentrações de metalotioneínas em níveis altos no fígado de ratos, confirmando a disponibilidade deste elemento em tecidos reprodutivos de ratos machos (HENRIQUES; CAZZOLINO, 2001). O National Research Council (1991) indica uma necessidade de 12 mg deste nutriente por dia, considerando as perdas endógenas, calculadas em 2,2 mg/dia, nas quais incluem as perdas cutâneas (0,8 mg/dia), devendo-se somar a este resultado 0,6 mg de zinco por ejaculação. Para as ratas que foram submetidas à dieta sem zinco por 40 dias, a reposição de zinco na forma orgânica e injetável deveria suprir, a curto prazo, as exigências metabólicas do elemento.

A eliminação de Zn varia em diferentes tratamentos, dias e estado clínico do animal. Isso indica que, animais submetidos por vinte dias a uma

deficiência de Zn, absorvem com maior eficiência este mineral quando repostos em sua dieta alimentar (SILVA et al., 2002). Os estudos de Southon et al. (1986) demonstraram que a absorção pela mucosa ocorre rapidamente quando há reintrodução de zinco na dieta animal, provocando aumento do apetite, crescimento e melhor utilização do alimento pelo organismo. Entretanto, Naylor e Ralston (1991) demonstraram que a quantidade de minerais absorvidos nesta forma é pouco precisa, não satisfazendo os requisitos para uma boa performance do animal. Uma solução eficaz é o fornecimento de microminerais na forma de quelato, tornando a absorção destes microminerais mais eficiente, diminuindo a toxicidade e a eliminação fecal (CAO et al., 2000). Hatfield et al. (2001) observaram maior concentração hepática de zinco em ovelhas suplementadas com zinco quelatado (zinco metionina) comparadas com o sulfato de zinco ( $ZnSO_4$ ), com reflexo no ganho diário dos animais. O pâncreas, rins e baço têm alta taxa de “turnover” de zinco, ao contrário do cérebro e ossos, com taxa de renovação muito menor (CUNHA; CUNHA, 1998).

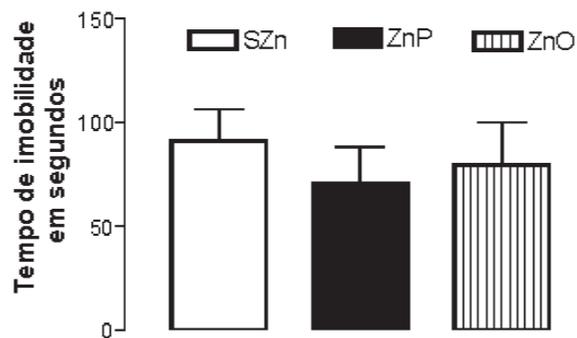
O desenvolvimento corporal, via ganho de peso, e uma adequada absorção de energia, resultam em estabelecimento dos ciclos reprodutivos regulares. O hipotálamo, ao detectar que as condições internas e externas do animal estão adequadas, estabelece o ciclo estral regular através da liberação de GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina), que promove a liberação de FSH pela adeno-hipófise, que determina o desenvolvimento folicular (HAFEZ, 1995). Georgievskii (1982) correlaciona positivamente o nível sérico de zinco com os efeitos de FSH e LH. Estatisticamente, os dados do presente trabalho não confirmam esta relação, apesar de os dados de parição serem diferentes em valores absolutos, isto considerando que os tratamentos com zinco possivelmente elevaram os níveis séricos deste mineral.

Olson et al. (1999) pesquisaram o efeito da suplementação de vacas com minerais orgânicos e inorgânicos. Dentre estes minerais contava a suplementação de zinco. Corroborando com os dados do presente trabalho, os autores não encontraram diferença significativa entre os tratamentos quando analisaram gestação, escore corporal e peso dos bezerras. Entretanto, observaram que as suplementações inorgânica e orgânica aumentaram a falha de gestação, talvez pela hipótese de interação entre minerais.

Os primeiros modelos animais de psicopatologias foram criados nos anos 50 e, em razão disso, derivaram dos métodos então utilizados nos laboratórios de Psicologia Experimental, que visavam sobretudo estudar os princípios básicos da aprendizagem. Mais recentemente, passaram a predominar modelos baseados em conhecimentos etológicos, que utilizam comportamentos adaptados ao nicho ecológico de cada espécie através de mecanismos evolutivos. Essa tendência implica numa visão de Zoologia Comparada, uma vez que visa estabelecer a correspondência funcional ou homologia entre

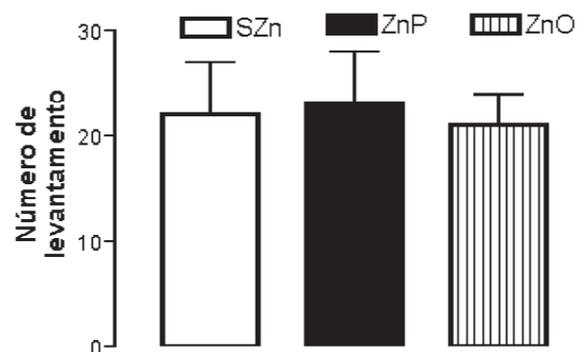
comportamentos aparentemente diferentes de espécies também diferentes (LAPA et al., 2003). Nas condições do presente trabalho, em que as ratas do grupo controle foram tratadas com dieta deficiente em zinco e, sendo este elemento mineral parte de vários processos metabólicos, incluindo a ação hormonal, procurou-se avaliar alterações comportamentais que pudessem ser caracterizadas como modelo psicopatológico.

No teste de desespero comportamental os tempos de imobilidade dos animais não foram alterados significativamente ( $p > 0,05$ ) entre os grupos tratados com SZn =  $91,1 \pm 15$ , ZnP =  $71,2 \pm 17$  e ZnO =  $79,9 \pm 20$  seg. (Figura 2).



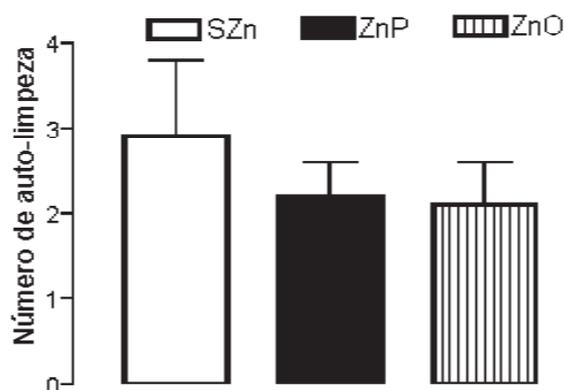
**Figura 2** – Efeito dos diferentes tratamentos no tempo de imobilidade das ratas no teste da natação forçada. O resultado foi expresso em média  $\pm$  erro padrão da média do tempo em segundos. (SZn = sem zinco; ZnP = zinco na forma de quelato pela via intramuscular; ZnO = zinco orgânico na dieta).

Com relação ao teste de campo aberto, em que foram avaliadas as atividades exploratórias e a emocionalidade, verificou-se que os tratamentos SZn, ZnP e ZnO, respectivamente, não produziram alterações nos parâmetros observados ( $p > 0,05$ ): número de levantamentos ( $22 \pm 5$ ;  $23 \pm 5$  e  $21 \pm 3$  - Figura 3); número de auto limpeza ( $2,9 \pm 0,9$ ;  $2,2 \pm 0,4$  e  $2,1 \pm 0,5$  - Figura 4); tempo na periferia ( $265 \pm 11$ ;  $280 \pm 5$  e  $275 \pm 7$  seg. - Figura 5); número de quadrados invadidos ( $12 \pm 0,1$ ;  $12 \pm 0,3$  e  $12 \pm 0,1$  - Figura 6). Desta maneira a deficiência ou a suplementação de zinco para as ratas não alterou a emocionalidade e/ou atividade exploratória dos animais.

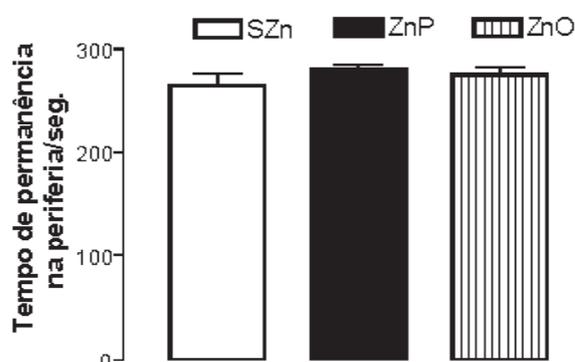


**Figura 3** – Efeitos dos diferentes tratamentos no número de levantamentos das ratas no teste de campo aberto. O resultado foi expresso em média  $\pm$  erro padrão da média.

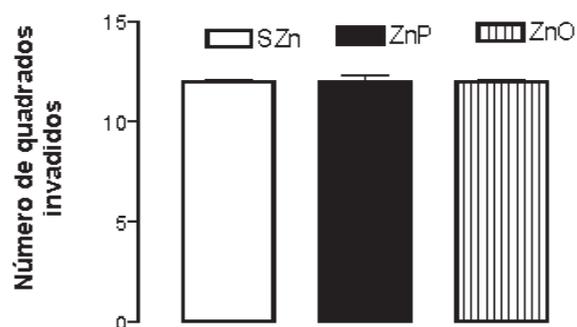
(SZn = sem zinco; ZnP = zinco na forma de quelato pela via intramuscular; ZnO = zinco orgânico na dieta).



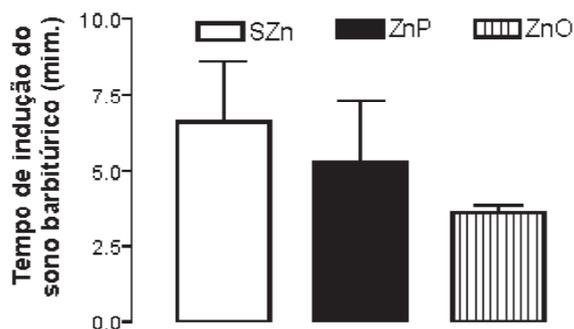
**Figura 4** – Efeitos dos diferentes tratamentos no número de auto-limpezas das ratas no teste de campo aberto. O resultado foi expresso em média  $\pm$  erro padrão da média. (SZn = sem zinco; ZnP = zinco na forma de quelato pela via intramuscular; ZnO = zinco orgânico na dieta).



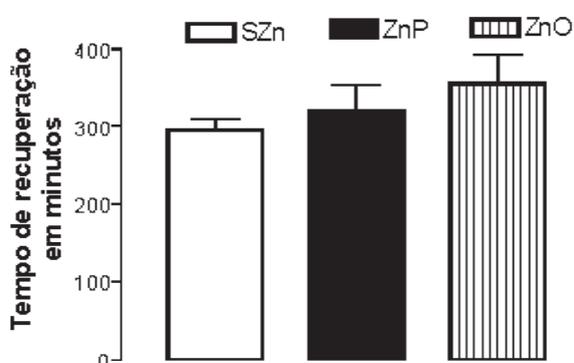
**Figura 5** – Efeitos dos diferentes tratamentos, no tempo de permanência na periferia, no teste de campo aberto realizado nas ratas (*Rattus norvegicus*). O resultado foi expresso em média  $\pm$  erro padrão da média do tempo em segundos. (SZn = sem zinco; ZnP = zinco na forma de quelato pela via intramuscular; ZnO = zinco orgânico na dieta).



**Figura 6** – Efeitos dos diferentes tratamentos, no número de quadrados invadidos no teste de campo aberto realizado nas ratas (*Rattus norvegicus*). O resultado foi expresso em média  $\pm$  erro padrão da média. (SZn = sem zinco; ZnP = zinco na forma de quelato pela via intramuscular; ZnO = zinco orgânico na dieta).



**Figura 7** – Efeitos dos diferentes tratamentos, no tempo de indução do sono induzido por barbitúrico realizado nas ratas (*Rattus norvegicus*). O resultado foi expresso em média  $\pm$  erro padrão da média do tempo em minutos. (SZn = sem zinco; ZnP = zinco na forma de quelato pela via intramuscular; ZnO = zinco orgânico na dieta).



**Figura 8** – Efeitos dos diferentes tratamentos, no tempo de recuperação do sono induzido por barbitúrico realizado nas ratas (*Rattus norvegicus*). O resultado foi expresso em média  $\pm$  erro padrão da média do tempo em minutos. (SZn = sem zinco; ZnP = zinco na forma de quelato pela via intramuscular; ZnO = zinco orgânico na dieta).

Na avaliação hipno-sedativa, não foram observadas diferenças estatísticas ( $p > 0,05$ ) nem no tempo de indução (SZn =  $6,6 \pm 2$ ; ZnP =  $5,3 \pm 2$ ; ZnO =  $3,6 \pm 0,3$  min. - Figura 7) nem no tempo de recuperação (SZn =  $295 \pm 15$ ; ZnP =  $320 \pm 34$ ; ZnO =  $355 \pm 38$  min - Figura 8). Desta forma, os tratamentos não produziram atividade depressora ou estimulante no sistema nervoso central, nem mesmo por ação nos parâmetros farmacocinéticos do barbitúrico utilizado.

Os resultados do presente trabalho demonstraram que a deficiência nutricional de zinco não leva a alterações capazes de produzir um modelo para avaliação comportamental.

#### 4. Conclusões

O presente trabalho mostrou que a suplementação de zinco orgânico, via parenteral ou oral, não influenciou a reprodução e nem causou alterações comportamentais em ratas submetidas a

diferentes dietas.

## 5. Referências

- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Animal Behavior*, v. 21, n. 2, p. 205-235, 1973.
- CAO, J.; HENRY, P. R.; GUO, R. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *Journal Animal Science*, v. 78, p. 2039-2054, 2000.
- CARLINI, E. A. et al. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals. *Journal Ethnopharmacology*, v. 17, n. 1, p. 37-64, 1986.
- COUSINS, R. J.; HEMPE, J. M. Cinc. In: BROWN, M. L. et al. *Conocimientos actuales sobre nutrición: copublicaciones*. 6 ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud e Instituto Internacional de Ciencias de la Vida, 1991. p. 628.
- CUNHA, D. F.; CUNHA, S. F. C. Microminerais. In: OLIVEIRA, J. E. K.; MARCHINI, J. S. (Ed). *Ciências nutricionais*. São Paulo: Sarvier, 1998. p. 628.
- ESTEFAN, V. et al. Effects of acute and chronic zinc administration on growth velocity in patients with hypopituitarism. *Nutrition Resource*, v. 25, n. 2, p. 1865-1877, 1998.
- GEORGIESVSKII, V.I. The physiological role of macroelements. In: *Mineral Nutrition of Animals*. [S.l.]: Georgiesvskii, Annenkov & Samokhin. Butterworths, 1982. p. 91-170.
- HAFEZ, E. S.; JAINUDEEN, M. R. Bovinos e bubalinos. In: *Reprodução animal*. São Paulo: Manole, 1995. p. 582.
- HATFIELD, P. G. et al. Zinc and copper status in ewes supplemented with sulfate-and amino acid-complexed forms of zinc and copper. *Journal Animal Science*, v. 79, p. 261-266, 2001.
- HENRIQUES, G. S.; COZZOLINO, S. M. F. Determinação dos níveis de metalotioneínas em tecidos de ratos jovens alimentados com dietas enriquecidas com zinco. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 14, n. 3, 2001.
- LAPA, A. J. et al. Método de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais, *Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais*, Porto Alegre, p. 119, 2003.
- MONTGOMERY, K. C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. *Journal Comportamental Physiological and Psychological*, v. 48, p. 254-260, 1955.
- NATIONAL Research Council. Subcommittee on the Tenth Edition of the RDA. Food and Nutrition Board. Commission on Life Sciences. *Raciones Dietéticas Recomendadas*. Barcelona: Consulta, 1991.
- NAYLOR, J. M.; RALSTON, S. L. *Large animal clinical nutrition*. Chicago: Mosby Year Book, 1991.
- OLSON, P. A. et al. Effects of supplementation of organic and inorganic combinations of copper, cobalt, manganese, and zinc above nutrient requirement levels on postpartum two-year-old cows. *Journal Animal Science*, v. 77, p. 522-532, 1999.
- PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, n. 266, p. 730-732, 1977.
- PRASAD, A. S. Clinical manifestations of zinc deficiency. *Annual Review Nutrition*, v. 5, p. 341-63, 1985.
- SALGUEIRO, J. et al. Cinc: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial. *Acta Physiology Pharmacology Ther. Latinoamerica*, v. 49, n. 1, p. 1-12, 1999.
- SILVA, L. T. et al. Avaliação da eficiência de fontes nutricionais de zinco: absorção aparente da metionina de zinco e sulfato de zinco em ratos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA ZOOTECNIA, p. 39, 2002.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F.J. *Biometry: the principle and the practice of statistics biological research*. New York: W. H. Freeman and Co, 1981.
- SOUTHON, S. et al. Intestinal microflora, morphology and enzyme activity in zinc-deficient and Zn-supplemented rats. *British Journal Nutrition*, v. 55, p. 603-611, 1986.
- UNDERWOOD, E. J. *Trace elements in human and animal nutrition*. 4. ed. New York: Academic Press, 1977.