

EL ZINC EN LA NUTRICIÓN DE LOS RUMIANTES

Pechin, G.H¹.

RESUMEN

En esta revisión se analizan las funciones y el metabolismo del zinc en los mamíferos, las características clínicas y bioquímicas de la deficiencia de este mineral y las herramientas diagnósticas para detectarlas, especialmente en el caso de deficiencias marginales o subclínicas. Finalmente, se tratan algunos aspectos de relevancia nutricional práctica y las estrategias de suplementación con zinc, con particular referencia a los rumiantes.

Palabras clave: zinc, nutrición de rumiantes, metabolismo, suplementación.

Zinc in the ruminant nutrition

SUMMARY

This review summarizes the literature on the zinc functions and metabolism in the mammals, the clinical and biochemical characteristics of this mineral deficiency and the diagnostic tools to detect them, specially in the case of marginal or subclinical deficiencies. Finally, some aspects of practical nutrition relevance are reviewed, with particular reference to ruminants.

Key words: zinc, ruminant nutrition, metabolism, supplementation.

INTRODUCCIÓN

Las pruebas inequívocas de que el zinc (Zn) es un nutriente esencial para los animales fueron obtenidas, por primera vez, por Todd et al. (1934), trabajando con ratas. Sin embargo, su importancia práctica para los animales de granja no fue reconocida hasta 1955, a partir de los trabajos de Tucker y Salmon, realizados en cerdos.

La deficiencia de Zn ha sido producida en bovinos, bajo situaciones experimentales y utilizando dietas semisintéticas (Miller y Miller, 1960; Miller y Miller, 1962; Miller et al., 1965b; Ott et al., 1965). Los informes de casos de deficiencia clínica de zinc en bovinos bajo pastoreo son relativamente escasos. El primero de ellos fue realizado por

¹ Depto de Producción Animal, Fac. de Cs. Veterinarias, UNLPam. Calle 5 y 116. (6360) General Pico, L.P.

Legg y Sears (1960) en la Guyana Británica. Posteriormente, Dynna y Havre (1963) informaron también casos en Noruega, y Spais y Papasteriadis (1974) en Grecia.

La deficiencia experimental de Zn fue descrita por primera vez en ovinos por Ott et al. (1964) y en caprinos por Miller et al. (1964). También existen informes de casos de deficiencia clínica de Zn ocurridos naturalmente en ovinos (Pierson, 1966) y en caprinos (McDowell, 1992).

Si bien esta revisión apunta a la nutrición de los rumiantes, se ha recurrido a trabajos de investigación realizados en monogástricos, en el caso de que fueran necesarios para clarificar algunos temas.

Propiedades químicas y funciones del zinc en el organismo

Los signos clínicos y las consecuencias productivas de una deficiencia de Zn pueden explicarse a partir las innumerables funciones que cumple este mineral en el organismo animal. A su vez, estas funciones biológicas del Zn están asentadas en las características químicas únicas del mismo.

El Zn tiene un número atómico de 30 y un peso atómico de 65,37 y se encuentra, en la tabla periódica, al

fin de la serie de los elementos de transición, en el grupo IIB. Se presenta como catión divalente. Sus propiedades químicas son largamente dependientes de la posesión del orbital 3d completo. Esto hace que no participe de reacciones de oxidación-reducción en los sistemas biológicos, como aceptor o donante de electrones (Chesters, 1978). Así, se marca una diferencia con otros metales, por ejemplo, el cobre (Cu), que existe en dos estados de oxidación, como iones cuproso y cúprico (Cu^+ y Cu^{++}), y que forma parte de un conjunto de enzimas, llamadas oxidasas.

El Zn, además, tiene tendencia a formar uniones coordinativas relativamente estables con ligandos electronegativos como el nitrógeno (N, usualmente, con la histidina de cadenas polipeptídicas), el oxígeno y el azufre (S, generalmente, de la cisteína), brindando rigidez a los dominios estructurales de algunas proteínas (Zubay, 1998).

Enzimas

Un estudio reciente determinó que el Zn forma parte de casi 300 metaloenzimas en diferentes especies (Valle y Auld, 1990). Los ejemplos más importantes de estas Zn metaloenzimas y su función específica se detallan en el cuadro siguiente (Miller, 1970; Underwood, 1981; Smart y Cymbaluk, 1991; Miller et al., 1993; Zubay, 1998):

Enzima	Función
anhidrasa carbónica	Transporte de CO ₂
alcohol deshidrogenasa	Oxidación de alcoholes
retinol deshidrogenasa	Oxidación del retinol (vitamina A)
fosfatasa alcalina	Hidrólisis de grupos fosfato
D-gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa	Glucólisis
fructosa 1-6 difosfatasa	Gluconeogénesis
málico deshidrogenasa	ciclo de Krebs (malato ↔ oxalacetato)
láctico deshidrogenasa	Piruvato ↔ lactato (anaerobiosis)
alfa manosidasa	Hidrólisis de polímeros de manosa (glicoproteínas)
glutámico deshidrogenasa	alfa-ceto glutarato + NH ₄ ⁺ → glutamato
ácido aminolevulínico deshidratasa	Síntesis del grupo hemo
leucín aminopeptidasa	Degradación de polipéptidos
Dipeptidasa	Degradación de dipéptidos
Colagenasas	Degradación de la matriz extracelular
Carboxipeptidasas A y B pancreáticas	Digestión de las proteínas
ADN polimerasa	Síntesis de ADN
ARN polimerasa	Síntesis de ARN
timidina quinasa	Síntesis de timidina 5'- fosfato
Ribonucleasa	Degradación de ARN
Cu-Zn superóxido dismutasa	Antioxidante citosólico

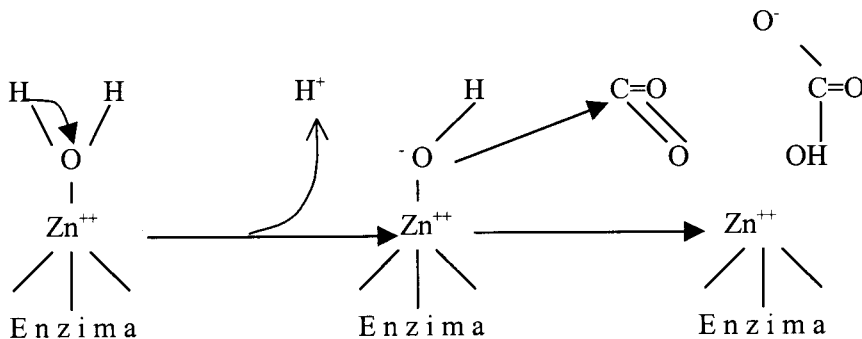
Con este panorama puede rápidamente comprenderse su vital papel en el metabolismo de los hidratos de carbono, de las proteínas y de los ácidos nucleicos, en la división celular, la reproducción, el funcionamiento del sistema inmunológico, la síntesis y el transporte de la vitamina A, el control de los radicales libres, etc.

A nivel enzimático, el Zn cumple 3 tipos de funciones: a) catalítica, b) estructural y c) como activador.

Un ejemplo de la función catalítica del Zn es la anhidrasa carbónica de los eritrocitos. Esta enzima posee un átomo de Zn por molécula, lo cual corresponde a un contenido del 0,33 %, y la remoción del metal resulta en una completa inactivación de la enzima. La anhidrasa carbónica in-

terviene en la reacción reversible $H_2O + CO_2 = H^+ + HCO_3^-$. El ión Zn participa, probablemente, en el primer paso de la reacción. Básicamente, el Zn funciona como un ácido de Lewis, y se liga a la molécula de agua. Debido a la neutralidad del grupo imidazol de la enzima, el complejo Zn-H₂O alcanza una acidez máxima, haciendo posible la ionización del H₂O a OH⁻, a pH 7. La reactividad del grupo nucleofílico OH⁻ es suficiente para que la anhidrasa carbónica ataque la molécula electrofílica CO₂. Como resultado, se forma el producto final HCO₃⁻. Se piensa que el Zn actúa de manera similar en otras metaloenzimas que contienen Zn en su sitio activo (Williams, 1989; Galdes y Vallee, 1983).

Figura 1. Rol propuesto del Zn en la anhidrasa carbónica (Zubay, 1998).



El Zn tiene un rol estructural en el caso de la superóxido dismutasa y se coloca en un sitio que no es esencial para la catálisis. En este caso un átomo del metal se une tetrahédricamente a los átomos de azufre de cuatro residuos cisteína y es necesario para mantener la estructura cuaternaria de la holoenzima. El rol catalítico está a cargo del Cu (Kirchgessner et al., 1993).

El Zn puede cumplir la dos funciones ya mencionadas en una misma enzima, por ejemplo, en la fosfatasa alcalina. Ésta posee cuatro átomos de Zn por molécula: dos son esenciales para su actividad catalítica y dos son necesarios para estabilizar la estructura terciaria de la enzima (Kirchgessner et al., 1993). La alcohol deshidrogenasa hepática es un caso similar, donde se requieren cuatro átomos de Zn por molécula (Chesters, 1978).

Finalmente, la fructosa 1-6 difosfatasa es un ejemplo de una metaloenzima donde el Zn tiene una función de regulación alostérica sin ser esencial para la actividad catalítica (Pedrosa et al., 1977).

No siempre es posible distinguir entre estas tres funciones. Una buena ilustración la proveen las ARN y ADN polimerasas. La función puede ser catalítica por unión al sustrato (iniciador o molde). Alternativamente, el Zn puede mantener la conformación, sin ser parte del sitio activo de las enzimas. Una tercera posibilidad es que el Zn actúe de

manera regulatoria proveyendo especificidad a las proteínas involucradas en la replicación y transcripción (Wu y Wu, 1983).

Hormonas

La **insulina** cristalina contiene cantidades sustanciales de Zn, y se han llevado a cabo varios estudios (la mayoría en ratas) sobre el rol del Zn en la síntesis, almacenamiento y secreción de la insulina, así como la interacción hormona-receptor y la respuesta final en órganos blanco (McDowell, 1992). La función del Zn es, fundamentalmente, proveer estabilidad a las uniones entre las cadenas polipeptídicas de la proteína, a nivel de los grupos sulfhidrilos. Una de las desventajas de las uniones disulfuro es que, en un ambiente reductor, el S de los aminoácidos azufrados puede ser protonado, lo que puede causar la ruptura de los puentes disulfuro, con la consecuente pérdida de la conformación de la proteína. Una segunda desventaja de los puentes disulfuro es que permiten poco movimiento alrededor de ellos y, por lo tanto, restringen la conformación de la proteína. Por el contrario, el Zn no puede ser reducido y no tiene tantas demandas estereoquímicas en la molécula (Williams, 1984). Así, el Zn brinda a las enzimas y otras proteínas Zn dependientes estabilidad conformacio-

nal a varios pH sin causar obstáculos estéricos (Swinkels et al., 1994).

El Zn parece tener relación con otras hormonas, como corticoides adrenales, gonadotrofinas, testosterona, hormona de crecimiento, etc. Flynn et al. (1972) han sugerido que la acción de la ACTH en corteza adrenal es Zn dependiente, ya la ACTH es incapaz de estimular la síntesis de corticosteroides en ratas deficientes en Zn. La deficiencia marginal de Zn en ratas se asocia, también, a menores niveles circulantes de somatotrofina (Kirchgessner y Roth, 1985). En trabajos realizados con machos de distintas especies animales, la deficiencia de Zn produjo una disminución de la espermatogénesis y de la síntesis de testosterona por las células de Leydig (McDowell, 1992).

Membranas biológicas

El Zn protege a los grupos sulfhidrilos de las proteínas de membrana del daño oxidativo (Kirchgessner et al., 1993). Se ha demostrado que la deficiencia experimental de Zn en ratas incrementa la susceptibilidad a la hemólisis de los eritrocitos en presencia de soluciones hipotónicas de NaCl (O'Dell et al., 1987; Kirchgessner et al., 1993).

Sistema inmunitario

El Zn cumple una serie de roles esenciales para el sistema inmunitario. Es necesario, por ejemplo, para mantener la estructura de la timulina, un octapéptido con acción hormonal producido por el timo. La actividad de la timulina sérica decae en la deficiencia de Zn en humanos y animales (Prasad et al., 1988). Debido a ello, y, probablemente, al papel que cumple el Zn en la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, la deficiencia de Zn produce toda una gama de

disfunciones a nivel de la inmunidad celular y humoral (Hambidge et al., 1986), los que se discutirán más adelante.

Vitamina A

La enzima Zn dependiente retinol deshidrogenasa (un tipo de alcohol deshidrogenasa) es esencial para la conversión de retinol en retinal, una reacción necesaria para la visión normal (Chesters, 1978). Además, el Zn parece intervenir en la síntesis de la proteína portadora de retinol (RBP, Retinol Binding Protein), la que permite la movilización de la vitamina A desde las reservas hepáticas (Smith et al., 1973). Sin embargo, trabajos posteriores no han dejado en claro el real significado de estos hallazgos, ya que se demostró que la disminución de la vitamina A plasmática puede ser causada también por una restricción del consumo de alimento (Smith et al., 1976; Carney et al., 1976). En los ensayos realizados hasta el presente en humanos y animales de experimentación se ha fallado en demostrar un efecto consistente de la suplementación con Zn sobre el status de la vitamina A (Christian y West, 1998).

Regulación de la expresión génica

Los factores de transcripción son proteínas que se ligan a porciones específicas del ADN, e influyen de esta manera en la regulación de la expresión génica. Los sectores de esas proteínas que toman contacto con el ADN deben poseer una determinada estructura, estabilizada en muchos casos por el Zn, formando los **dedos de Zn** ("zinc fingers"). Esta estructura comprende un átomo de Zn ligado en forma tetrahédrica a los átomos de S de dos cisteínas y a los átomos de N de dos histidinas, conteniendo la cadena polipeptídica unos 30 aminoácidos. Las proteínas reguladoras poseen tres de estas

estructuras repetidas, de manera que pueden unirse óptimamente a la doble hélice de ADN. Han sido reconocidas, hasta el momento, más de 200 proteínas regulatorias con estas estructuras en eucariotas. La primera en ser identificada fue el factor de transcripción para la ARN polimerasa III (FTIII), el que se une a una región de control interna del gen del ARNr 5S. Los receptores para las hormonas esteroideas (estrógenos, progesterona, andrógenos, glucocorticoides y mineralocorticoides) y para el ácido retinoico, el ácido cis-retinoico, el 1-25 (OH)₂ vitamina D₃ y las hormonas tiroideas contienen estructuras similares a dedos de Zn. Cada monómero del receptor contiene dos porciones plegadas, con un átomo de Zn cada una, unido a su vez a cuatro moléculas de cisteína. Cuando se produce la unión hormona-receptor ocurre la dimerización del receptor, y es así como se une a la doble hélice de ADN (Zubay, 1998). De esta manera, el Zn tiene una participación indirecta en la acción de un gran número de hormonas a nivel de las células blanco.

Existen Zn metaloenzimas que también intervienen en la expresión génica. Las **ARN polimerasas I, II y III** son esenciales para la síntesis de los ARN ribosomal, mensajero y de transferencia (Falchuk, 1993). La **timidina quinasa**, que participa en la síntesis de la timidina trifosfato, la **ADN polimerasa**, que interviene en la replicación del ADN, y la **ribonucleasa**, que degrada los ácidos nucleicos, también son Zn metaloenzimas. Así, se comprende el rol fundamental del Zn en la síntesis de los ácidos nucleicos y de las proteínas, en la replicación y la diferenciación celular y en la reproducción.

Además, el Zn puede jugar un rol regulatorio de genes específicos. El ejemplo más conocido en mamíferos es la regulación de la expresión del gen de la **metalotioneína**, una proteína que interviene, a su vez, en

el metabolismo de algunos minerales, como el Cu y el Zn (este tema se verá más adelante). Para la regulación de la transcripción por medio de un metal se necesitan tres elementos (Cousins, 1994):

a) un elemento sensible al metal ("metal responsive element", MRE) situado en la secuencia promotora, que se ubica corriente arriba del sitio de iniciación de la transcripción del gen. Este elemento sensible al metal tiene, generalmente, 13 a 15 pares de bases.

b) un factor de transcripción que se une al elemento sensible al metal ("metal responsive element-binding protein", MRE-BP).

c) un metal inductor que se une mediante un enlace covalente coordinativo con el factor de transcripción. Blalock et al. (1988) concluyeron a partir de su trabajo en ratas que el Zn, a concentraciones fisiológicas, es un inductor más potente para el gen de la metalotioneína que el Cu. Además de la metalotioneína, el Zn puede estar implicado en la regulación transcripcional de otros genes. Cuando se compararon dietas deficientes con dietas suficientes en Zn, este metal demostró ser un inductor de la síntesis de ARN mensajero de varias enzimas: apolipoproteína A-1, aldolasa B, citocromo b, ubiquitina, citocromo c oxidasa, alfa amilasa pancreática y proteína portadora de ácidos grasos (Shay y Cousins, 1993).

Metabolismo

Absorción

En monogástricos, la absorción del Zn parece tener lugar principalmente en el intestino delgado (McDowell, 1992). En rumiantes, actualmente se admite que el intestino delgado es también el principal sitio de absorción (Miller y Cragle, 1965), aunque

existen evidencias en ovinos acerca de que la absorción del Zn en el rumen pueden ser aún mayor que en intestino delgado (Arora et al., 1969).

El proceso de absorción puede ser dividido en dos eventos separados: primero, la captación del Zn desde el lumen intestinal hacia el interior del enterocito, y, segundo, el transporte desde la célula hacia la sangre (Cousins, 1989). La entrada del Zn a la célula puede ocurrir a través de un mecanismo de difusión facilitada (mediado por transportadores) y por transporte activo (Davies, 1980; Menard y Cousins, 1983), ambos procesos saturables. Sin embargo, las pruebas acerca de la existencia de un transporte activo no son concluyentes hasta el momento (Cousins, 1985). Una pequeña porción de la captación y el transporte puede ser no saturable, a través de una difusión simple (Steel y Cousins, 1985) y un movimiento paracelular (Bronner, 1987). La captación saturable puede involucrar la unión con ligandos de bajo peso molecular, que están presentes en el lumen intestinal. El complejo Zn-ligando entra a la célula en forma intacta o dona el Zn a un receptor de membrana. Subsecuentemente, el receptor libera el Zn hacia el interior de la célula (Swinkels et al., 1994). Dentro del enterocito, el transporte de Zn estaría a cargo de una proteína intestinal rica en cisteína (PIRC), la que incrementa la absorción del Zn, transportándolo desde la chapa estriada (extremo apical) hasta la membrana basolateral. La PIRC se une en una gran proporción al Zn que entra en la mucosa intestinal, a bajas concentraciones de Zn dietario, y esta unión es saturable a niveles mayores. Sin embargo, su síntesis no es inducible por el Zn ni por otros metales. De modo que faltan elucidar algunos aspectos del papel de la PIRC en la absorción del Zn.

La metalotioneína intestinal compete por el Zn con esta proteína, de manera que contribuiría a regular

la absorción de Zn (Hempe y Cousins, 1992; Levenson et al., 1994). El pasaje desde el enterocito a la corriente sanguínea podría ser un proceso activo y estar mediado por un transportador de membrana.

Se trata de un proceso saturable y no afectado por el nivel de Zn dietario, de manera que, según sugieren Oestreicher y Cousins (1989), la absorción de Zn no está regulada a nivel de la membrana basolateral.

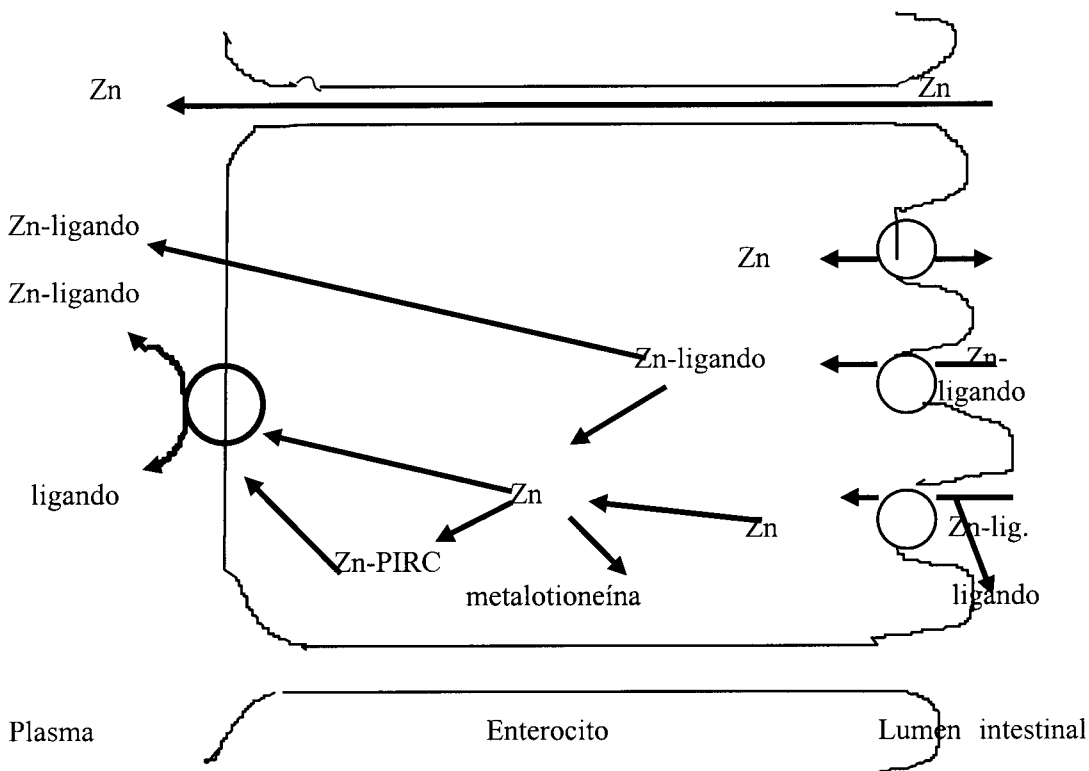
La metalotioneína es una proteína de bajo peso molecular, alrededor de 6.500 daltons, formada por una simple cadena de 61 aminoácidos y que tiene capacidad para ligar 5 a 7 átomos de metal por molécula (gracias a su alta cantidad de cisteínas, alrededor de un 25-30 % de sus aminoácidos). Se une preferentemente a cadmio (Cd), mercurio (Hg), Cu y Zn. Debido a que la metalotioneína intestinal es sintetizada en proporción al Zn dietario, se ha propuesto un rol de la misma en la regulación de la absorción del Zn (Cousins, 1985; Cousins y Lee - Ambrose, 1992). La metalotioneína reduce la absorción de Zn, secuestrándolo dentro del enterocito, debido a su mayor afinidad por este mineral con respecto a otras proteínas intestinales.

Sin embargo, el rol de la metalotioneína en la absorción del Zn ha sido criticado por algunos investigadores. Flanagan et al. (1983) encontraron sólo efectos transitorios del nivel de Zn dietario sobre la síntesis de metalotioneína intestinal. Similares conclusiones se obtienen a partir del trabajo de Reeves (1994), en el que, si bien la concentración de metalotioneína en intestino (y en otros órganos) aumentó inicialmente, descendió luego a niveles cercanos a los del grupo control, a pesar de que la concentración dietaria del Zn era siete veces mayor en el grupo tratamiento. Este autor propone que durante una exposición de largo término se ponen en juego otros

mecanismos regulatorios de la absorción de Zn. Adicionalmente, Coopen y Davies (1987) encontraron que el Zn dietario sólo induce la síntesis de metalotioneína intestinal

en ratas a niveles de 5 a 80 ppm. A niveles mayores a 80 a 160 ppm, no hallaron una posterior inducción de la síntesis de metalotioneína

Figura 2. Modelo de la absorción intestinal de Zn (Adaptado de Cousins, 1989 y Hempe y Cousins, 1992). (Ver indicaciones en el texto).



Existen también diferencias de especie con respecto a la metalotioneína. Flanagan et al. (1983) encontraron, en ratas, una relación inversa entre niveles de metalotioneína en intestino y absorción de Zn, pero ninguna correlación en el ratón. Saylor et al. (1980) informaron que el contenido de metalotioneína del intestino de los ovinos no es influenciado por el Cu ni por el Zn. Estos autores proponen que la reducida capacidad de esta especie para sintetizar metalotioneína puede ser la causa de su marcada susceptibi-

lidad a la intoxicación con Cu. En pollos se ha propuesto que la vitamina A podría intervenir en la regulación de la absorción intestinal, estimulando la síntesis de una proteína portadora de Zn (Berzin y Bauman, 1987). En relación con ello, se ha demostrado que la deficiencia de vitamina A en ratas disminuye la concentración de Zn en algunos tejidos, como hígado y testículos (Rahman et al., 1995). Varios factores pueden afectar la absorción del Zn, y, por lo tanto, su biodisponibilidad.

Estos factores han sido estudiados ampliamente en el hombre y animales monogástricos. Entre otros se citan: fitatos (O'Dell et al., 1964), calcio (Ca), potenciando la acción de los fitatos (Zhou y Erdman, 1995), Cd (McDowell, 1992), Cu (Van Campen, 1969), hierro (Fe) (Kreuzer y Kirchgessner, 1994), fibra, posiblemente por efectos combinados de fitatos y lignina (Kelsay et al., 1979) y baja proteína dietaria (Van Campen y House, 1974). En monogástricos, con dietas comunmente usadas en la práctica, la relación molar (fitatos x Ca)/Zn predice mejor la biodisponibilidad del Zn que la simple relación fitato/Zn (Fordyce et al., 1987). A pesar de la existencia de todos estos factores enunciados, se reconoce que, en nutrición práctica de monogástricos, los antagonistas más importantes son el fitato y el Ca. Debido a que todas las dietas para cerdos y aves los contienen, es de rutina la adición de núcleos minerales con Zn.

Por otro lado, se ha demostrado que algunos aminoácidos, como histidina, lisina, glicina y cisteína (Giroud y Prakash, 1977; Wapnir et al., 1983) y algunos agentes quelantes, como el EDTA (Forbes, 1961) y el ácido ascórbico (Cousins, 1985), incrementan la absorción de Zn. Se ha postulado recientemente (Van Wouwe y Uijlenbroek, 1994) que el páncreas exócrino puede modular la absorción de Zn a través de un ligando que incrementa la absorción del mineral a nivel del jejunio durante la deficiencia subaguda.

En rumiantes, es muy escasa la información acerca de los factores que afectan la absorción o utilización del Zn. El efecto inhibitorio de los fitatos no existe en animales con rumen funcional, y sólo puede tener importancia práctica cuando se usan sustitutos lácteos en terneros, en los que parte de la proteína es aportada por fuentes vegetales. Existen algunos informes que señalan que

altos consumos de Ca pueden incrementar los requerimientos de Zn en vacas lecheras (Haaranen, 1963). Sin embargo, en otros trabajos en animales con rumen funcional, los efectos de altas concentraciones de Ca dietario fueron pequeños (Fontenot et al., 1964; Mills y Dalgarno, 1967) o nulos (Miller et al., 1963; Kincaid, 1979). A la luz de estos resultados, y coincidiendo con Mills (1978), resulta improbable que el Ca pueda tener importancia cuando se utilizan dietas naturales. El mismo razonamiento se aplica para el Cu, como antagonista del Zn. Al igual que en monogástricos, existen informes de que el Cd es un competidor del Zn en rumiantes (Miller, 1970), pero tampoco esta interacción es de importancia práctica. El Fe antagoniza la absorción del Zn en el intestino de ratas (Walsh et al., 1994; Wien et al., 1994), aún cuando los mecanismos de absorción de ambos minerales son diferentes. Standish et al. (1969), hallaron que altos niveles de Fe en el alimento disminuyeron la concentración de Zn en hígado y riñón en bovinos. Ya que en forrajes verdes o conservados es frecuente encontrar elevados niveles de Fe, ésta es una de las pocas interacciones que posiblemente sea de relevancia en rumiantes.

Transporte

Después de su pasaje hacia la circulación portal, el Zn plasmático está distribuido en dos fracciones mayores. Cerca de 2/3 se encuentran laxamente unidos a la albúmina y, probablemente, ésta sea la principal encargada de la transferencia del Zn de la sangre a los tejidos. La mayor parte del 1/3 restante está unido firmemente a la alfa-2 macroglobulina, y una porción menor a ciertos aminoácidos, generalmente histidina y cisteína (Giroux et al., 1976; Parry, 1977; Cousins, 1985). La unión más fuerte del Zn con la alfa-2

macroglobulina sugiere que su habilidad para donar Zn a los tejidos en condiciones fisiológicas puede ser limitada, al menos que esté involucrado un proceso de endocitosis. Se ha propuesto que el Zn ligado a los aminoácidos está en equilibrio con el Zn ligado a la albúmina, y que tiene una importante función en el transporte y excreción del mineral. En realidad, sólo un 10-20 % del Zn de la sangre se encuentra en el plasma. La mayor parte está localizada en los eritrocitos y leucocitos (Cousins, 1985).

Captación tisular y almacenamiento

Cerca del 30 al 40 % del Zn que entra en el sistema portal es extraído por el hígado, para luego ser subsecuentemente liberado a la sangre (Hambidge et al., 1986). Las fluctuaciones de Zn dietario causan pequeños cambios en la concentración hepática del metal. La concentración intracelular del Zn es mantenida gracias a la acción concertada de varias hormonas. Aunque se han realizado pocos estudios sobre la captación hepática de Zn, se piensa que es un proceso que requiere energía y que consta de dos etapas. La primera, una fase de captación rápida, probablemente mediada por un transportador, y que representa la unión inicial a sitios específicos de la membrana plasmática. La segunda es una fase de acumulación a una tasa mucho más lenta. En el hepatocito, el Zn se encuentra a nivel de distintas fracciones subcelulares, principalmente a nivel de núcleo (nucleo-proteínas) y citosol (metaloenzimas, metalotioneína). La administración oral o parenteral de Zn se asocia a una inducción del gen de la metalotioneína hepática, y a una acumulación de Zn en hígado unido a esta proteína. Se ha estimado en ensayos *in vitro*, en situaciones que emulan un consumo normal de

Zn, que ocurre un recambio casi total en el hepatocito en el término de 30 horas. No se conocen con exactitud los ligandos plasmáticos a los que es transferido el Zn luego de su eflujo del hígado, pero probablemente son la albúmina y algunos aminoácidos. Hasta el momento, muy poco es conocido acerca de la captación de Zn por tejidos extrahepáticos (Cousins, 1985).

La metalotioneína es sintetizada en varios órganos además del intestino, incluyendo hígado, riñón, páncreas, piel, etc., tanto en monogástricos (Cousins, 1985) como en rumiantes (Whanger et al., 1981). La función de la metalotioneína no está exactamente definida, pero han sido demostrados varios roles. Puede funcionar como un amortiguador ante niveles excesivos o tóxicos de algunos metales (Hg, Cd, Zn y Cu), como un donante de Zn para las metaloenzimas, y aún para las membranas biológicas, y como un elemento de los mecanismos de defensa del organismo. Existen varias isoproteínas, con pequeñas diferencias en su composición aminoácídica, codificadas por genes diferentes, de las cuales las principales son las metalotioneínas I y II. En el hígado, se demostró que es sintetizada en los poli-ribosomas, lo que sugiere que no es una proteína secretada, sino que su rol biológico está relacionado con procesos intracelulares (Cousins, 1985).

El papel detoxificante de la metalotioneína queda de manifiesto cuando se administran altos niveles de Zn en la dieta. Whanger et al. (1981), trabajando con bovinos y ovinos, demostraron que el Zn, en estos casos se une principalmente a la metalotioneína que se encuentra en intestino, hígado, páncreas y riñón. Lee et al. (1994) hallaron en ovejas que una dosis alta de ZnO en la dieta provocaba un aumento de las isoformas de metalotioneína Ia y II en riñón e hígado, pero no en intestino.

A partir de trabajos recientes realizados en ratones (Dalton et al., 1996) se reconoce que la metalotioneína puede servir como un pool de Zn biológicamente disponible para períodos de deficiencia del mineral, siempre que la deficiencia no sea de larga duración.

La síntesis de metalotioneína está bajo regulación hormonal, y es estimulada por los glucocorticoides, el glucagon, la adrenalina y la interleukina 1, hormonas que llevan a una acumulación hepática de Zn y a una disminución del Zn plasmático. El estrés de distintos orígenes, por calor, trauma físico, ejercicio excesivo, infección aguda o endotoxemia tiene un efecto marcado sobre el metabolismo del Zn, a través de una inducción de la síntesis de metalotioneína por medio de los mecanismos hormonales citados (Cousins, 1985). En vacas lecheras no se ha podido hallar una correlación negativa entre glucocorticoides plasmáticos (en respuesta a una inyección de corticotrofina) y Zn plasmático, pero cuando las vacas se evaluaron en estrés térmico se encontró una disminución del Zn en plasma y una correlación alta y negativa entre corticoides y Zn en sangre (Wegner et al., 1973).

Excreción

La mayor parte de la excreción del Zn en rumiantes se realiza a través de las heces y una muy pequeña parte a través de la orina (Miller, 1970). La secreción de Zn hacia el lumen intestinal se realiza vía secreciones pancreática, biliar e intestinal propiamente dicha, a través de un flujo serosa-mucosa (Cousins, 1985). Stake et al. (1974) sugieren que el páncreas contribuye con el 25 % o menos de las pérdidas endógenas de Zn. Con consumos normales del mineral, el Zn que se recoge en heces es primariamente Zn no absorbido (McDowell, 1992).

Control homeostático y homeorréctico del metabolismo del Zn

La cantidad de Zn absorbida está regulada por la capacidad que tiene el cuerpo de mantener constante su estado interno de frente a cambios en las condiciones externas. El porcentaje de Zn dietario absorbido dependerá de la cantidad de Zn en la dieta y de los requerimientos del animal, que a su vez son determinados por el status previo del animal, su estado fisiológico y el tipo y nivel de producción.

A medida que el Zn dietario se incrementa, el porcentaje absorbido disminuye, y viceversa. Menard y Cousins (1983) encontraron que la velocidad de absorción de Zn por parte del intestino delgado era el doble en ratas deficientes que en ratas suficientes en Zn. La afinidad por el Zn no estaba aumentada, de manera que el incremento en la tasa de transporte, probablemente, se debía a un aumento en el número de receptores que podían capturar el Zn libre o unido a ligandos de bajo peso molecular.

En un ensayo realizado en ratas, la absorción verdadera de Zn, varió desde casi el 100 % hasta cerca del 30 %, a medida que el nivel dietario aumentaba (Weigand y Kirchgessner, 1978a). En vacas lecheras la absorción verdadera de Zn era del 53,4 % con 16,6 ppm de Zn en la dieta y del 34,8 % con 39,5 ppm, mientras que la excreción por la leche se había duplicado (Neathery et al., 1973). Cuando vacas lecheras en producción fueron pasadas de una dieta normal a una deficiente (6 ppm de Zn) la absorción aparente aumentó del 22 al 51 % al término de una semana, y luego siguió aumentando hasta alcanzar el 66 % a la sexta semana (Kirchgessner et al., 1978).

Stake et al. (1975) determinaron que, con dietas bajas en Zn (16,6 ppm) la absorción verdadera era de

49,7, 47,2 y 53,4 % en terneros de 2 y 6 meses y en vacas lecheras, respectivamente. Esto demuestra que los bovinos adultos tienen capacidad para responder ante los incrementos en los requerimientos que representa la lactancia y contradice algunos indicios acerca de que la capacidad de absorción de Zn desciende con la edad. Los niveles de Zn en leche rondan los 4 mg/L, con concentraciones dietarias de 40 ppm del metal. Con dietas deficientes (17 ppm) pueden bajar hasta 3,3 mg/l y con niveles dietarios altos, pero no tóxicos, alcanzan una meseta de alrededor de 8 mg/l (Miller, 1975), lo que sugiere que la excreción de Zn en leche cumple un cierto papel en la regulación homeostática del mineral.

Durante la última fase de la preñez, aumenta considerablemente la absorción de Zn en ratas y cerdas, para hacer frente a las mayores demandas de los fetos y de la subsecuente lactación (Kirchgessner et al., 1993).

El status previo de Zn del animal también influye notablemente, ya que animales deficientes tienen una absorción neta mucho mayor (Miller, 1970), de modo que colocados con dietas suficientes en Zn conservarán durante un corto período su capacidad de absorción aumentada.

Las secreciones endógenas de Zn en las primeras porciones del intestino delgado juegan también un

rol importante en la homeostasis del mineral, aunque una parte considerable de ese Zn puede ser potencialmente absorbido en el trayecto del intestino delgado (Miller, 1970). Weigand y Kirchgessner (1978b) observaron que a medida que el Zn dietario se incrementaba más allá de los requerimientos, la secreción endógena de Zn aumentaba, y que podría llegar a ser un mecanismo más importante que la disminución de la absorción.

Como puede observarse en la Tabla 1, aproximadamente el 60 % del Zn corporal se encuentra en el músculo esquelético y un 25 % en hueso, mientras que sólo una parte muy pequeña corresponde al plasma. Cuando los animales se alimentan con dietas deficientes en Zn, la concentración de Zn desciende, aunque en forma no muy marcada, en algunos órganos, como páncreas, hígado, riñón, intestino, pelo y hueso, pero no en músculo esquelético (Miller, 1970). El Zn es sólo liberado a partir del músculo cuando este tejido está siendo catabolizado (Agget y Favier, 1993). No se comprende por qué se preserva el pool de Zn en músculo, cuando otros pools más vitales disminuyen y provocan, consecuentemente, la aparición de una serie de signos clínicos y bioquímicos.

Tabla 1. Distribución del Zn corporal en humanos (Jackson, 1989).

Tejido u órgano	Contenido (g)	Distribución (%)
músculo	1,5	60
hueso	0,5-0,8	20-30
piel y pelo	0,21	8
hígado	0,10-0,15	4-6
estómago, intestino y páncreas	0,03	2
riñones	0,02	0,8
bazo	0,003	0,1
sistema nervioso central	0,04	1,6
sangre	0,02	0,8
plasma	0,003	<0,1

La movilización del Zn desde el hueso en la deficiencia de Zn ha sido extensamente estudiada, pero los resultados son controvertidos. Algunos trabajos indican que esta movilización depende de la tasa de resorción ósea y que el hueso sirve como secuestrante de Zn y no como reservorio. Sin embargo, un trabajo reciente (Zhou et al., 1993) realizado con ratas en crecimiento, demuestra que una pequeña parte del Zn óseo (10-20 %) puede ser liberado en la primera fase de la deficiencia marginal de Zn para cubrir los requerimientos de los tejidos blandos. Coincidentemente, Emmert y Baker (1995) hallaron que el hueso y el hígado pueden almacenar Zn cuando los pollos son alimentados con dietas por encima del requerimiento mínimo, y que éste Zn puede ser liberado en un subsecuente período de deficiencia para poder soportar un crecimiento normal durante una semana. No existe ningún trabajo en rumiantes que permita suponer que el hígado cumpla una función de depósito importante, como sucede con el Cu, ni mucho menos que el hueso la cumpla.

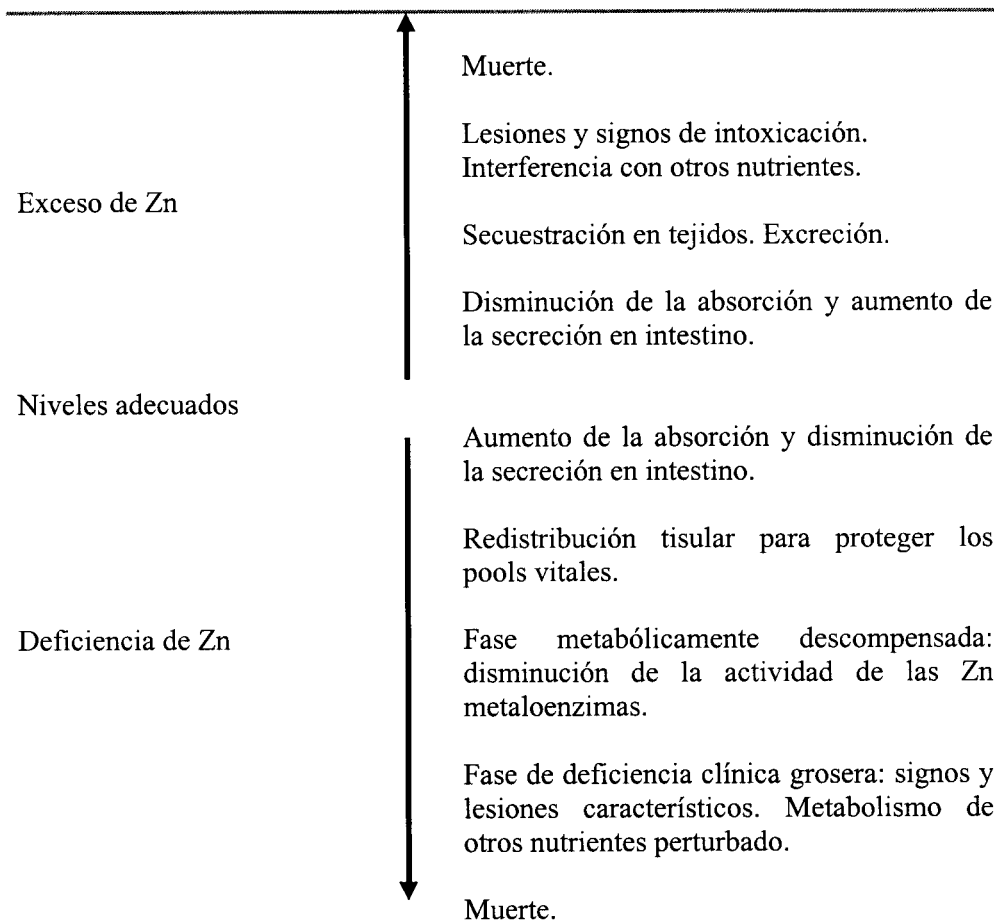
Se ha argüido que existen dos pools de Zn corporal: un pool funcional de Zn, localizado en aquellos tejidos y fluidos menos afectados por el consumo de Zn, y un pool intercambiable, que responde fuertemente a variaciones en el Zn dietario y que sería menos

importante para el metabolismo. En realidad, serían varios pools intercambiables, de pequeño tamaño ubicados en distintos órganos y tejidos (Swinkels et al., 1994). Probablemente, parte de este pool sea el Zn unido a la metalotioneína, que demostró ser una proteína distribuída en casi todos los órganos y tejidos.

Un enfoque utilizado en nutrición clínica, especialmente en humanos, para tratar de identificar el comienzo temprano de una deficiencia de Zn involucra la predicción del pool rápidamente intercambiable por medio del uso de isótopos estables. Fairwather-Tait et al. (1993) demostraron la factibilidad de usar una inyección endovenosa de Zn⁷⁰ y medir su cinética plasmática para estimar el tamaño de los pools en humanos. Así, pudieron distinguirse un pool pequeño, que se intercambia rápidamente con el plasma, y un pool mayor lentamente intercambiable. Miller et al. (1994), trabajando también con isótopos estables, hallaron que el pool que se intercambia con el plasma dentro de los dos días está fuertemente relacionado con el Zn dietario. Este es un área en el que se sigue trabajando en medicina humana, pero aún no existen trabajos en rumiantes.

A modo de resumen, en la Figura 3 se enumeran los procesos homeostáticos relacionados con el Zn.

Figura 3. Procesos adaptativos implicados en la homeostasis del Zn (adaptado de Agget y Favier, 1993).



Requerimientos nutricionales

El NRC (1996) recomienda un nivel de 30 ppm de Zn (base Materia Seca, MS) en el alimento, para todas las categorías de bovinos de carne. En bovinos lecheros (NRC, 1988) se fijó un requerimiento de 40 ppm. Sin embargo, algunos sistemas europeos recomiendan 50 ppm, tanto para bovinos de carne como lecheros (Kirchgessner et al., 1993; Weiss, 1996). El requerimiento de Zn puede variar de acuerdo al criterio utilizado. El criterio generalmente usado en bovinos de carne es la ganancia de peso, pero, probablemente, sean necesarios mayores niveles para mantener una

adecuada salud u optimizar el funcionamiento del sistema inmunitario. Es posible, entonces, que las recomendaciones europeas contemplen algún margen de seguridad razonable. En ovinos se recomiendan niveles de 20 a 33 ppm de Zn (NRC, 1985).

Contenido de zinc en los alimentos

El contenido en Zn de los alimentos utilizados en rumiantes varía ampliamente. En general, se asume que las leguminosas tienen mayores concentraciones que las gramíneas, y que a medida que

las plantas maduran, decrece su contenido en Zn (McDowell, 1992).

La interrelación suelo-planta es compleja. Una baja concentración de Zn en el pasto puede ser el reflejo de una deficiencia de Zn en el suelo, pero también de la presencia de factores que disminuyen su disponibilidad. En la provincia de La Pampa existe una gran proporción de suelos con deficiencia de Zn (González y Buschiazzo, 1997). Sin embargo, dentro de una misma zona existen muy amplias variaciones en la concentración de Zn en los forrajes, dependientes de la especie y la estación del año (Pechin et al., 1995). El rango óptimo de pH del suelo para la absorción de Zn por parte de las forrajeras está entre 5 y 7, al igual que para el Cu (Reid y Horvath, 1980). A medida que el pH del suelo se incrementa, disminuye la disponibilidad del Zn para la planta, pero éste no es el único factor. Las bajas temperaturas y el exceso de humedad también pueden disminuir la captación de Zn (McDowell, 1992).

Corbellini (1998) ha resumido una serie de datos obtenidos en nuestro país, hallándose los siguientes rangos de concentración de Zn en alimentos (en ppm, base MS): pasturas de gramíneas (14-25), pasturas de leguminosas (22-32), silo de maíz (10-69), heno de alfalfa (18-26), grano de maíz (13-18) y afrechillo de trigo (116-128).

Los granos de maíz y cebada tienen menores concentraciones de Zn (14-19 ppm) que los de avena y trigo (41 y 50), mientras que los suplementos proteicos de origen vegetal (harinas de soja y girasol) tienen valores de alrededor de 60 ppm (NRC, 1982).

Para los monogástricos (cerdos y aves) se reconoce que las dietas más comunes a base de cereales y suplementos proteicos de origen vegetal tienen una baja disponibilidad de Zn, de manera que la suplementación es rutinaria. Por el contrario, para los rumiantes se desconoce la disponibilidad del Zn

en los alimentos, y por ello la concentración del mineral es sólo una aproximación a la hora de formular raciones, siendo aconsejable trabajar con algún margen de seguridad sobre los requerimientos.

Deficiencia de zinc y ensayos de suplementación

Los signos clínicos de la deficiencia de Zn, prácticamente los mismos en todas las especies, son: disminución en el consumo de alimentos, retardo o cesación del crecimiento, piel engrosada, escamosa y agrietada, pérdida de pelo y lana, fallas reproductivas en machos y hembras, anomalías esqueléticas, dificultosa reparación de heridas, etc. (Underwood, 1981; Mills, 1978).

Las lesiones características de la piel, a nivel histológico, son para e hiperqueratosis (Norrdin, et al., 1973; Mills, 1978) y dermatitis, especialmente en patas, morro, orejas y alrededor de los ojos (Ott et al., 1965). También se han descrito disminución del crecimiento del hueso endocondral y periosteal y del cartilago epifisario, disminución del porcentaje de cenizas del hueso (Norrdin et al., 1973), hiperplasia epitelial irregular, con espesamiento del estrato córneo en la mucosa de la boca, ausencia de linfocitos T en timo, linfonódulos y bazo (Sanecki et al., 1985), hipertrofia e hiperqueratosis de la mucosa del esófago (Whitenack et al., 1978; Miller y Miller, 1960). La pérdida del sabor descrita en humanos podría deberse a la oclusión de las papilas gustativas con queratina, lo que sí ha sido descrito en ovejas deficientes en Zn (Mills, 1978).

Es dable esperar que el papel del Zn en la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, la división celular y la acción de varias hormonas produzca efectos en el crecimiento y la reproducción. Sin

embargo, es difícil asociar cambios enzimáticos específicos con los signos y lesiones característicos de la deficiencia de Zn. En general, los tejidos u órganos con mayores contenidos de Zn son aquellos con división celular más acelerada o con un activo metabolismo, y posiblemente sean los que sufran más tempranamente la deficiencia del mineral.

La disminución o cesación del crecimiento causada por la deficiencia de Zn es debida a un menor consumo de alimento, pero también, en parte, a una menor eficiencia de conversión alimenticia (Underwood, 1981). Sommers y Underwood (1969) hallaron una mayor excreción urinaria de N en los corderos deficientes en comparación con los controles pareados por consumo, lo que indica una falla en el metabolismo de la proteína. Como se citara anteriormente, la deficiencia de Zn puede acarrear una disminución en la síntesis o secreción de somatotrofina en ratas (Kirchgessner y Roth, 1985; Root et al., 1979). Sin embargo, los hallazgos en torno a la relación entre deficiencia de Zn y crecimiento son controvertidos. Los resultados de McNall et al. (1995), en ratas, sugieren que el retardo del crecimiento está relacionado con una disminución de los receptores para la hormona de crecimiento en el hígado y de la síntesis del factor de crecimiento I similar a la insulina (FCSI-I). Similares resultados fueron informados por Droke et al. (1993), quienes hallaron, en corderos deficientes en Zn, mayores concentraciones de somatotrofina en respuesta a la hormona liberadora de somatotrofina, pero menores niveles de FCSI-I. La glándula tiroides también se ve afectada en una deficiencia de Zn, hallándose cambios atróficos y degenerativos en los folículos y disminución de los niveles circulantes de T3 y T4 (Gupta et al., 1995).

Todas las fases del proceso reproductivo en las hembras pueden verse afectadas por la deficiencia de Zn. En rumiantes se ha encontrado mortalidad embrionaria, malformaciones fetales, disminución del porcentaje de parición, disminución del peso al nacimiento y al destete, etc. (Hidiroglou, 1979; Apgar y Fitzgerald, 1985). En los machos los efectos son igualmente pronunciados. Pitts et al. (1966) hallaron que la deficiencia de Zn en terneros causa una disminución del crecimiento testicular. Una severa deficiencia de Zn en carneros produjo atrofia de los túbulos seminíferos y cesación de la espermatogénesis (Underwood y Somers, 1969).

Una deficiencia de zinc, caracterizada por la presencia de signos no específicos, como menor producción de carne, leche o lana, disminución de la resistencia a infecciones y fertilidad subnormal puede estar más ampliamente distribuida de lo que se pensaba en un principio (Underwood, 1981). En nuestro país, algunos datos así lo parecen indicar (Ruksan, 1985). Nuestro grupo de investigación, en un trabajo de relevamiento realizado en el norte de La Pampa (Pechin et al., 1995), encontró que el contenido promedio de Zn en los pastos en otoño, invierno, primavera y verano era 39,3, 29,0, 20,9 y 27,0 ppm, base MS. El 53 y el 25% de las muestras en primavera y verano, respectivamente, contenían menos de 20 ppm de Zn. En un relevamiento realizado en el noroeste de la provincia de Buenos Aires, por el contrario, los niveles más bajos se encontraron en otoño (19 ppm) (Minatel et al., 1998). En zonas de cría vacuna, en la provincia de Corrientes, también se han hallado niveles marginales a bajos (15 a 28 ppm) en forrajeras naturales (Mufarregge et al., 1983).

Existen informes de que la suplementación con Zn en bovinos bajo sistemas pastoriles, donde los

niveles del mineral son bajos o marginales, puede tener efectos sobre la ganancia de peso. Mayland et al. (1980), en un ensayo que duró 3 años consecutivos, halló una diferencia del 6% en la ganancia de peso de los terneros al pie de la madre, cuando se suplementaron con óxido de zinc (ZnO) oral, provisto en el suplemento proteico, a razón de 860 a 900 mg de Zn por cada par vaca-ternero. Los pastizales naturales del establecimiento, ubicado en Idaho, USA, con predominio de *Bromus tectorum*, contenían menos de 20 ppm (entre 7 y 17 ppm).

Perry et al. (1968) realizaron 4 ensayos de suplementación con Zn en novillos en terminación, en feedlot, utilizando ingredientes naturales que contenían entre 18 y 29 ppm de Zn. En dos de ellos se obtuvieron incrementos estadísticamente significativos en la ganancia de peso.

Otros investigadores, sin embargo, citan respuestas inconsistentes o nulas en referencia a este parámetro. De una serie de 7 experimentos de crecimiento en novillos en condiciones de estabulación, con dietas basales que contenían entre 16,7 y 20,9 ppm de Zn, Beeson et al. (1977) informaron diferencias estadísticamente significativas en la ganancia de peso debidas a la suplementación con Zn en sólo uno de ellos.

Al igual que en bovinos, en ovinos se han descripto efectos positivos de la suplementación con Zn. Egan (1972), en Australia, informó de un incremento en el porcentaje de parición del orden del 20 % en ovejas que pastoreaban praderas con contenidos del mineral entre 16 y 29 ppm. Resultados similares hallaron Masters y Fels (1980), también en Australia, en ovejas sobre pasturas que contenían niveles tan bajos de Zn como 13 ppm, incrementándose, además, el peso de los corderos al destete en 2,1 kg.

Las enfermedades podales en bovinos de carne y de leche

responden a múltiples factores (climáticos, de manejo, infecciosos, dietarios). Uno de los más importantes factores dietarios tiene que ver con los niveles Zn en la dieta y la biodisponibilidad de este mineral. Ya en 1964, Bostico y Bonomi, en Italia, postulaban la relación entre el contenido de Zn de las pasturas y la susceptibilidad al pietín. Los autores encontraron que el Zn suplementario tenía un buen efecto profiláctico frente a la enfermedad, concluyendo que los pastos que contienen menos de 50 ppm de Zn deben considerarse deficientes y capaces de incrementar la susceptibilidad de los bovinos al pietín. Demertzis y Mills (1973), en Escocia, señalaron el éxito de una terapia con sulfato de zinc ($ZnSO_4$) oral para controlar dos brotes de dermatitis interdigital infecciosa en toros jóvenes de raza Frisona. Las dietas que recibían los animales contenían 30 a 35 ppm de Zn en el ensayo 1 y entre 48 y 56 ppm en el ensayo 2.

Recientemente, en un ensayo realizado en nuestro país (Corbellini et al., 1997) la suplementación con metionina-Zn (2 g/vaca/día) redujo significativamente la incidencia de enfermedades podales en vacas lecheras, con un efecto menor y no significativo debido a la suplementación con ZnO. El uso de metionina-Zn incrementó un 5,4 % la producción de leche y redujo el porcentaje de partos distócicos, la prevalencia de endometritis, el intervalo parto-concepción y el recuento de células somáticas en leche. La dieta promedio que consumieron las vacas del grupo Control durante la lactancia contenía 25,9 ppm de Zn.

Coincidiendo parcialmente con estos resultados, Kincaid et al. (1984) habían encontrado respuestas en producción de leche y conteo de células somáticas tanto con ZnO como con metionina-Zn. Voelker et al. (1969), utilizando raciones basadas en silaje de maíz, bajo en

Zn, y concentrado, encontraron respuestas en producción de leche cuando suplementaron con ZnO. Hay consenso, en la actualidad, en torno a que, en la mayoría de los casos, resulta positiva la suplementación con Zn en vacas de alta producción.

En la experiencia de nuestro grupo de investigación, y a través de trabajos realizados en las provincias de La Pampa y Buenos Aires (Pechin et al., datos no publicados), la suplementación con ZnO oral o metionina-Zn inyectable disminuyó sustancialmente la incidencia de afecciones podales, tanto en bovinos de carne como en bovinos lecheros. Las afecciones podales que se presentaron fueron caracterizadas como flemón interdigital o necrobacilosis interdigital, según la clasificación moderna (Pesce et al., 1992).

Los resultados de la suplementación con Zn en ovinos con el objeto de prevenir la necrobacilosis interdigital también aparecen como contradictorios. Cross y Parker (1981) informaron que el uso de ZnSO₄ oral previno esta afección en épocas secas del año, pero no en las lluviosas, y sólo cuando los niveles de Zn en pastos eran bajos.

Los resultados dispares de la suplementación con Zn en este tipo de enfermedades podales refuerzan la idea su etiología multifactorial, pero también señalan que en algunos casos es positiva la suplementación con Zn. Resta aclarar cuál es el rol exacto del Zn, aún cuando existe una relación lógica relacionada con el mantenimiento de la integridad de los epitelios queratinizados o la optimización del sistema inmunitario.

La deficiencia de Zn, ya sea experimental o naturalmente producida, afecta la inmunidad celular y humoral (Shankar y Prasad, 1998) y ha sido ampliamente estudiada en animales de laboratorio. Se ha demostrado que la inmunidad mediada por células es

profundamente afectada, a través de una hipoplasia del timo, bazo, ganglios linfáticos, placas de Peyer y otros tejidos linfoides (Spallholz y Stewart, 1989). Se observó, asimismo, una disminución de leucocitos circulantes, y especialmente de linfocitos. También se ha encontrado que la proliferación de linfocitos frente a mitógenos como la concavalina A y la fitohemaglutinina también es menor en animales deficientes, aunque en la literatura existe alguna contradicción al respecto (Walsh et al., 1994). Fernandes et al. (1979) y Fraker et al. (1986) hallaron una disminución en la reacción de hipersensibilidad retardada, en las respuestas mediadas por células frente a tumores y en la función de las células NK ("natural killer") en ratones deficientes en Zn. La deficiencia de Zn produjo menores niveles de anticuerpos frente al toxoide del tétanos en bovinos y la capacidad de respuesta fue restaurada cuando se proporcionó Zn suplementario (Spallholz y Stewart, 1989). En ratones deficientes en Zn, se demostró una disminución de la respuesta mediada por anticuerpos frente a antígenos T-dependientes y T-independientes (Fraker et al., 1986). En un trabajo con corderos severamente deficientes en Zn, no se encontró una influencia marcada sobre los niveles de anticuerpos, pero sí una disminución en la relación linfocitos/neutrófilos en sangre y en la linfoproliferación frente a la fitohemaglutinina (Llallès, 1995).

También se sostiene que la deficiencia de Zn tiene un pronunciado efecto sobre la respuesta inmune secundaria. Los ratones deficientes en Zn que fueron inmunizados por segunda vez con glóbulos rojos de ovinos produjeron menores niveles de IgG. La respuesta inmune, 4 semanas después de comenzar a dar Zn suplementario, no había sido completamente restaurada, sugiriendo una disminución en el número o función

de las células de memoria (Spallholz y Stewart, 1989).

En otro aspecto de la interacción Fe-Zn, además de lo señalado a nivel absorbivo, se demostró que la suplementación con Zn redujo la incidencia de retención placentaria y edema de ubre en vacas lecheras alimentadas con dietas altas en Fe (Miller et al., 1996). Se postula que el Zn puede ejercer un efecto protector frente a los cambios oxidativos inducidos por las altas dosis de Fe.

Toxicidad

El Zn es un mineral de muy baja toxicidad, y con dietas comunes el tema no reviste ninguna importancia práctica. Los casos que ocurrieron naturalmente provienen de contaminaciones industriales o de errores muy groseros de formulación. El máximo nivel tolerable fijado por el NRC (1980) es de 500 ppm para bovinos, 300 ppm para ovinos y 1.000 ppm de Zn para cerdos y aves. Niveles de 700 o 900 ppm han reducido la ganancia de peso en terneros (Ott et al., 1966; Jenkins e Hiridoglou, 1991) y producido una acumulación de Zn en algunos órganos, como hígado y páncreas. Las vacas lecheras soportan niveles mayores aún, de 1.000 ppm, sin disminuir su producción (Miller et al., 1989). Altos niveles de Zn en la dieta pueden interferir con la absorción y el metabolismo de algunos minerales, como el Cu y el Fe, y agravar una deficiencia marginal de los mismos (McDowell, 1992).

El Zn en altas dosis ha sido utilizado por su efecto protector en la intoxicación con Cu en ovinos (Bremner et al., 1976), el eczema facial (intoxicación con esporidesmina), también en ovinos (Smith et al., 1977), y la prevención de la diarrea en el destete precoz de lechones (Poulsen, 1995).

Evaluación del status de zinc y diagnóstico de la deficiencia

En animales de interés zootécnico el diagnóstico de una deficiencia de Zn es fácil de realizar cuando los signos clínicos han aparecido, pero esto indica también que se ha perdido tiempo y dinero. Precisamente, desde el punto de vista productivo, es necesario detectar cuándo los animales están en riesgo de ser deficientes o cuándo presentan deficiencias marginales o leves. Al momento de seleccionar algún fluido o tejido para su análisis deben tenerse en cuenta el tamaño del pool de Zn a ser medido y su tasa de recambio, los factores que regulan la homeostasis de ese pool de Zn, la susceptibilidad específica del compartimento frente a la deficiencia (o el exceso) de Zn, la posibilidad de que se vea afectado por otras alteraciones fisiopatológicas y, finalmente, el costo de la determinación y las posibilidades prácticas de realizarla.

Underwood (1981) señala que, a medida que la deficiencia progresa, el Zn declina más marcadamente en páncreas, pelo y órganos sexuales. Además de los nombrados, en deficiencias severas se han hallado concentraciones bajas de Zn en hueso, hígado y piel (Miller y Miller, 1962; Miller et al., 1966). Sin embargo, la piel no parece ser siempre un tejido sensible a los cambios de Zn dietario (Miller et al., 1965b).

La concentración de Zn en suero o plasma es el indicador de deficiencia más ampliamente usado, pero su especificidad y su sensibilidad han sido cuestionadas cuando se consideran con criterio diagnóstico. Como se observa en la Tabla 1, el Zn plasmático representa, paradójicamente, el pool corporal más pequeño, pero también es la fuente a la que rápidamente pueden hechar mano los tejidos para cubrir sus necesidades del mineral y posee una alta tasa de recambio.

El Zn en suero presenta valores similares al Zn plasmático. Idealmente, la muestra de sangre debe ser obtenida de sangre venosa y en un momento estandarizado del día, ya que la concentración de Zn sérico puede aumentar luego de una comida, luego de un ayuno corto o en la estarvación (Aggett y Favier, 1993), aunque estas observaciones provienen de estudios con monogástricos. Cuando se trabaja con plasma (se aconseja usar heparina como anticoagulante) o suero es necesario no demorar su extracción una vez tomada la muestra de sangre. Debe evitarse la hemólisis y la contaminación de la muestra con taponés de goma u otras fuentes potenciales de Zn (Aggett y Favier, 1993).

Con respecto a la sensibilidad, la concentración de Zn en plasma, así como también en hueso, hígado y páncreas, disminuyen en la deficiencia de Zn antes de que se hagan evidentes la reducción en el crecimiento, la falla en el apetito y otras indicaciones de la deficiencia, pero las modificaciones a menudo son de escasa magnitud, a menos de que se trate de una deficiencia muy severa, lo que indica la tremenda importancia de los mecanismos homeostáticos. En un trabajo realizado por White et al. (1994) con ovinos el Zn plasmático resultó un indicador mucho más sensible ante aumentos progresivos de Zn en la dieta que otros parámetros, como la ganancia de peso.

La falta de especificidad del Zn plasmático como estimador del status de Zn se debe a que aquel puede disminuir frente a una variedad de situaciones estresantes: ejercicio, infección, enfermedad crónica, altas temperaturas, etc. (Mills, 1978; Cousins, 1985; Orr et al., 1990) y complicar la interpretación de los datos. Por otro lado, en situaciones de desnutrición, el catabolismo de algunos tejidos, como músculo y hueso, que representan los mayores pools de Zn, puede ayudar a

mantener los niveles de Zn plasmático (Aggett y Favier, 1993).

Para soslayar el problema de algún factor estresante intercurrente, King (1990) propone la medición en forma conjunta del Zn y la metalotioneína plasmáticos. La concentración de metalotioneína en plasma refleja la concentración de metalotioneína hepática y, por lo tanto, ambas bajan en la deficiencia de Zn. Se ha demostrado que ambas metalotioneínas aumentan en respuesta al estrés, a la par que disminuye el Zn plasmático. Así, bajos niveles de Zn y metalotioneína en plasma implican una reducción en el pool de Zn intercambiable en respuesta a bajos consumos de Zn. Un bajo nivel de Zn plasmático junto con altas concentraciones de metalotioneína pueden indicar que el Zn tisular está siendo redistribuido en respuesta a un factor estresante. Con respecto a la tercera posibilidad, si estuvieran presentes una deficiencia de Zn y estrés, los niveles de Zn y metalotioneína en plasma serán bajos, ya que la síntesis de metalotioneína hepática no es estimulada por el estrés en animales deficientes en Zn. Aún cuando estas conclusiones parten de trabajos realizados en humanos y ratas, y el costo de la medición de la metalotioneína plasmática es todavía alto, la técnica aparece como promisoría en rumiantes.

Kirchgesner et al. (1993) proponen que la concentración de Zn en leche puede ser un buen indicador ya que va aumentando a medida que aumenta el Zn en dieta, hasta alcanzar una meseta alrededor de 6 mg/L cuando se llega a un nivel de 40 ppm de Zn en el alimento. Esta meseta se extendería hasta que son sobrepasados los mecanismos homeostáticos, momento en que el Zn en leche comienza a aumentar nuevamente (Miller et al., 1965a). Sin embargo, el valor al cual se alcanza esa meseta es discutible, ya que Miller et al. (1965a) hallaron valores de

deficiencia de Zn, pero en condiciones prácticas está sujeta a importantes fluctuaciones e influencias distintas a las del status de Zn, de manera que es difícil establecer rangos razonables que respondan a una adecuada provisión de Zn (Kircheggessner et al., 1993).

Kircheggessner et al. (1993) han propuesto una técnica para medir la respuesta del Zn y la fosfatasa alcalina plasmáticos, tres días después de la administración oral o inyectable de Zn. Esta técnica demostró ser útil, al menos en ratas, para detectar distintos grados de deficiencia de Zn.

Los análisis de Zn en pelo pueden ser utilizados para detectar deficiencias crónicas, a causa de su baja dinámica, y sólo después de eliminar cualquier tipo de contaminación externa (Mills, 1978). A pesar de que el pelo es una muestra fácil de tomar, presenta algunas variaciones que es preciso considerar (Miller et al., 1965c; Combs, 1987), y no siempre refleja fielmente los niveles dietarios de Zn, a juzgar por los trabajos de Beeson et al. (1977). Carcagno et al. (1993), en nuestro país, trabajando con bovinos sanos y con adecuado ritmo de crecimiento, encontraron valores de $120,6 \pm 23,61$ ppm de Zn en pelo y de $112,61 \pm 22,55$ ug/dl de Zn en plasma.

Un excelente criterio práctico para confirmar el diagnóstico de la deficiencia de Zn es la respuesta al tratamiento, en referencia al consumo de alimento, crecimiento y problemas específicos relacionados con esta deficiencia (Miller, 1970; White, 1992).

Probablemente, en la actualidad, para detectar deficiencias marginales de Zn, lo más recomendable sea combinar el análisis de Zn en plasma y alimento. Los niveles normales de Zn en plasma en animales domésticos están entre 0,8 y 1,2 $\mu\text{g/ml}$, pero la variabilidad individual puede ser alta (Underwood, 1981). McDowell (1992) sostiene que, en rumiantes, los valores de Zn

plasmático por debajo de 0,6 $\mu\text{g/ml}$ pueden considerarse deficientes, entre 0,6 y 0,8 como marginales y entre 0,8 y 1,2 $\mu\text{g/ml}$ como normales, pero que estas mediciones deberían combinarse con la determinación del Zn en forrajes. Parece razonable considerar, a partir del análisis de la bibliografía disponible hasta el momento, un rango para bovinos de carne y lecheros, de 20 a 30 y de 20 a 40 ppm de Zn en alimento, respectivamente, donde puede existir una deficiencia marginal, pero en el cual los resultados de la suplementación con el mineral son inciertos. Los niveles en el alimento por debajo de 20 ppm se consideran como netamente deficientes.

Productos disponibles para la suplementación con Zn

Para alcanzar una producción animal eficiente y mantener un normal estado de salud en los animales es necesario que los nutrientes minerales sean provistos en la dieta en cantidades adecuadas y en una forma que sea biológicamente utilizable. La forma indicada para la suplementación de Zn es a través de la vía oral, mezclando los suplementos con la dieta completa o proveyendo los mismos en forma separada, en bateas, en el caso de una alimentación pastoril. El grado de biodisponibilidad de los minerales influye en los requerimientos dietarios y es importante, por lo tanto, conocer esa biodisponibilidad en los alimentos y suplementos minerales que se utilizan comúnmente en la alimentación de los animales.

Las fuentes inorgánicas más frecuentemente utilizadas para la suplementación de Zn son óxido, sulfato y, en menor medida, carbonato y cloruro de Zn. Analizando todos los trabajos realizados con monogástricos hasta el presente, en una revisión efectuada por Baker y Ammerman (1995), los

autores no observaron una tendencia clara acerca de cuál de las fuentes presenta mayor biodisponibilidad. Sin embargo, a partir de los trabajos más modernos en aves (Wedekind y Baker, 1990) y cerdos (Hahn y Baker, 1993; Wedekind et al., 1994) surge que el $ZnSO_4 \cdot H_2O$ o el $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, usados normalmente como estándares, son superiores al ZnO .

En rumiantes (bovinos y ovinos) la tendencia general parece ser: $ZnSO_4 > ZnO > ZnCO_3 > ZnCl$ (Baker y Ammerman, 1995), aunque la superioridad del sulfato sobre el óxido de Zn no ha sido fehacientemente demostrada (Miller et al., 1970; Kincaid, 1979; Sandoval et al., 1997).

Hace relativamente poco tiempo, la industria comenzó a producir complejos orgánicos de distintos minerales, de los cuales los más utilizados son los proteínatos y aminoatos. Se ha sostenido que su impacto en nutrición animal surge del hecho de que poseen una mejor digestibilidad y, además, a que, una vez absorbidos determinados complejos aminoácido-mineral son transportados a tejidos o sistemas enzimáticos específicos (Vandergrift, 1992).

El complejo aminoácido-mineral es definido como el producto resultante a partir de la reacción de una sal soluble del metal en cuestión y un aminoácido. El complejo metionina- Zn es, al presente, el complejo aminoácido- Zn más utilizado en producción animal. Se trata de un compuesto soluble, químicamente estable, eléctricamente neutro y con un peso molecular de 378 daltons (Brown y Zeringue, 1994).

Los aminoatos metionina- Zn y, en menor medida, lisina- Zn , han sido los más estudiados. Swinkels et al. (1994) sostienen que no existen evidencias consistentes acerca de la mejor biodisponibilidad del Zn en ellos. Sin embargo, a juzgar por los trabajos realizados en los últimos 15 años, existen algunas diferencias

entre especies y, tal vez, entre destinos productivos (carne o leche, por ejemplo).

En ovinos y bovinos en crecimiento, y utilizando como parámetros el crecimiento y los niveles plasmáticos de Zn y fosfatasa alcalina, no se encontraron diferencias entre el ZnO y la metionina- Zn (Spears, 1989). Sin embargo, cuando el mismo autor realizó ensayos de balance químico usando dietas semi-purificadas, el uso de la metionina- Zn resultó en una mayor retención que el ZnO , resultante de coeficientes de absorción aparente similares pero diferentes niveles de excreción urinaria (Spears, 1989). Rojas et al. (1995), informaron recientemente que la metionina- Zn presentó similar biodisponibilidad que el ZnO y el $ZnSO_4$ en corderos a juzgar por la concentración de Zn en determinados órganos, pero que la lisina- Zn fue superior a las demás fuentes probadas, logrando concentraciones de Zn superiores en páncreas, hígado y riñón. Kincaid et al. (1997) hallaron que metionina- Zn y lisina- Zn tienen mejor biodisponibilidad que ZnO en terneros, cuando se compararon los niveles de Zn en suero e hígado. Contrariamente a estos resultados, Kegley y Spears (1994) hallaron que la suplementación de corderos (alimentados con heno de festuca) con ZnO y $ZnSO_4$ mejoró la ganancia de peso y la conversión alimenticia, comparados con los grupos control y metionina- Zn . En rumiantes en crecimiento la información acerca del uso de metionina- Zn , hasta el presente, aparece como contradictoria y serían necesarios ensayos más ajustados para determinar su biodisponibilidad.

En el único trabajo realizado con vacas de cría, los animales suplementadas con metionina- Zn destetaron terneros más pesados y ganaron más peso que los suplementadas con ZnO (Spears y Kegley, 1991).

Sin embargo, el uso de metionina-Zn en vacas lecheras aparece como más promisorio, con respuestas que parecen explicadas por su mayor biodisponibilidad. Los primeros trabajos de Kincaid et al. (1984) ya señalaban que las respuestas en producción de leche y disminución en el número de células somáticas en leche eran mejores para metionina-Zn que para ZnO. Kellog (1990) revisó los resultados de 8 ensayos con 492 vacas lecheras comparando el uso de metionina-Zn con la suplementación con cantidades similares de Zn bajo la forma de ZnO. En estos ensayos, la suplementación con metionina-Zn incrementó la producción de leche en un 4,8 %, con una reducción significativa de la incidencia de afecciones podales. Similares hallazgos con respecto a la metionina-Zn fueron informados en nuestro país por Corbellini et al. (1997), como se citara anteriormente. Las respuestas observadas con ZnO fueron menores y no significativas, con la excepción de algunos parámetros reproductivos (vacas con partos distócicos y vacas con endometritis post-parto o al servicio), en los cuales no hubo diferencias entre las dos fuentes de Zn.

Spears et al. (1991) investigaron también los efectos de la cantidad y fuente de Zn sobre la respuesta inmune en terneros que consumían una dieta que contenía 26,4 ppm de Zn. Los animales suplementados con 25 ppm de Zn en forma de metionina-Zn mostraron mayores títulos de anticuerpos cuando

fueron inmunizados contra el virus de la rinotraqueítis infecciosa (IBR), mientras que los suplementados con igual cantidad de Zn en forma de ZnO mostraron títulos intermedios.

Los terneros suplementados con Zn y Mn, y desafiados posteriormente con virus IBR, perdieron menos peso y presentaron una menor disminución del Zn plasmático que los controles a los 7 días post-desafío. Sin embargo, la respuesta fue similar entre los animales alimentados con fuentes inorgánicas (ZnO y MnO) y orgánicas (metionina-Zn y metionina-Mn) (Chirase et al., 1994). Un ensayo realizado recientemente por Kegley y Spears (1995) en corderos tampoco permite establecer una superioridad de la metionina-Zn sobre el ZnO en la respuesta inmune.

CONCLUSIONES

Si bien son raros los hallazgos de casos de deficiencia clínica de Zn en rumiantes, actualmente se reconoce que la deficiencia subclínica de Zn podría constituir una limitante nutricional, especialmente en sistemas basados en animales de altos niveles de producción. Durante décadas, se han utilizado sales inorgánicas, como ZnO o ZnSO₄, para la suplementación de las dietas. Actualmente, se abre un nuevo campo de investigación en torno al empleo de sales orgánicas de Zn, especialmente metionina-Zn, alentado por resultados que permiten suponer que estas sales poseen una mayor biodisponibilidad.

BIBLIOGRAFÍA

- AGGET, P.J.; FAVIER, A.** - 1993 - Zinc. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* 63: 301-307.
- APGAR, J.; FITZGERALD, J.A.** - 1985 - Effect on the ewe and lamb of low intake throughout pregnancy. *J. Anim. Sci.* 60: 1530-1538.
- ARORA, S.P.; HATFIELD, E.E; GARRIGUS, U.S.; LOHMAN, T.G. Y DOANE, B.B.** - 1969 - Zinc-65 uptake by rumen tissue. *J. Nutr.* 97: 25-28.
- BAKER, D.H.; AMMERMAN, C.B.** - 1995 - Zinc bioavailability. In: *Bioavailability of nutrients for animals.* C.B. Ammerman, D.H. Baker y A. J. Lewis, Eds. San Diego. USA. p. 367-398.
- BEESON, W.M.; PERRY, T.W.; ZURCHER, T.D.** - 1977 - Effect of supplemental zinc on growth and on hair and blood serum levels of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 45: 160-165.
- BERZIN, N.I.; BAUMAN, V.K.** - 1987 - Vitamine A-dependent zinc-binding protein and intestinal absorption of zinc in chicks. *Br. J. Nutr.* 57: 255-268.
- BLALOCK, T.L.; DUNN, M.A.; COUSINS, R.J.** - 1988 - Metallothionein gene expression in rats: tissue-specific regulation by dietary copper and zinc. *J. Nutr.* 118: 222-228.
- BOSTICO, A.; BONOMI, A.** - 1964 - Zinc content of forage. *Atti. Soc. Ital. Sci. Vet.* 18: 268. (*Nutr. Abs. Rev.* 35: 1224).
- BREMNER, I.; YOUNG, B.W.; MILLS, C.F.** - 1976 - Protective effect of zinc supplementation against copper toxicosis in sheep. *Br. J. Nutr.* 36: 551-561.
- BRONNER, F.** - 1987 - Intestinal calcium absorption: mechanisms and applications. *J. Nutr.* 117: 1347-1352.
- BROWN, T.F.; ZERINGUE, L.K.** - 1994 - Laboratory evaluations of solubility and structural integrity of complexed and chelated trace mineral supplements. *J. Dairy Sc.* 77: 181-189.
- CARCAGNO, A.R.; GULLACE, F.A.; SOLER, I.J.; FERNÁNDEZ, C.A.; DE BERNARDI, A.M.; CAPAUL, E.G.** - 1993 - Zn en plasma y pelo. Valores y distribución en 150 novillos Aberdeen Angus. *Rev. Med. Vet.* 74: 42-46.
- CARNEY, S.M.; UNDERWOOD, B.A.; LOERCH, J.D.** - 1976 - Effect of zinc and vitamin A deficient diets on the hepatic mobilisation and urinary excretion of vitamin A in rats. *J. Nutr.* 106: 1773-1781.
- CHESTERS, J.K.** - 1978 - Biochemical functions of zinc in animals. *Wld. Rev. Nutr. Diet.* 32: 135-164.
- CHIRASE, N.K.; HUTCHESON, D.P.; THOMPSON, G.B.; SPEARS, J.W.** - 1994 - Recovery rate and plasma zinc and copper concentrations of steer calves fed organic and inorganic zinc and manganese sources with or without injectable copper and challenged with infectious bovine rhinotracheitis virus. *J. Anim. Sci.* 72: 212-219.
- CHRISTIAN, P.; WEST, K.P., JR.** - 1998 - Interactions between zinc and vitamin A: an uptake. *Am. J. Clin. Nutr.* 68 (suppl.): 435S-441S.
- COMBS, D.K.** - 1987 - Hair analysis as an indicator of mineral status of livestock. *J. Anim. Sci.* 65: 1753-1758.
- COPPEN, D.E.; DAVIES, N.T.** - 1987 - Studies on the effects of dietary zinc dose on ⁶⁵Zn absorption in vivo and on the effects of Zn status on the ⁶⁵Zn absorption and body loss in young rats. *Br. J. Nutr.* 57: 35-44.
- CORBELLINI, C.N.** - 1998 - Influencia de los micronutrientes en la fertilidad en bovinos lecheros. *Rev. Med. Vet. (complemento)* 79: 8-13.
- CORBELLINI, C.N.; MANGONI, A.R.; MATTOS, A.C.; AUZMENDI, J.** - 1997 - Efectos de la suplementación con óxido de zinc o metionina-zinc en vacas lecheras marginalmente deficientes. *Rev. Med. Vet.* 78: 439-447.
- COUSINS, R.J.** - 1985 - Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: Special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol. Rev.* 65: 238-309.
- COUSINS, R.J.** - 1989 - Theoretical and practical aspects of zinc uptake and absorption. In: *Mineral Absorption in the Monogastric GI Tract.* F.R. Dintzis and J.A. Laszlo, Eds. Plenum Press. New York. p. 3-12.
- COUSINS, R.J.** - 1994 - Metal elements and gene expression. *Annu. Rev. Nutr.* 14: 449-469.
- COUSINS, R.J.; LEE-AMBROSE, L.M.** - 1992 - Nuclear zinc uptake and interactions and metallothionein gene expression are influenced by dietary zinc in rats. *J. Nutr.* 122: 56-64.
- CROSS, R.F.; PARKER, C.F.** - 1981 - Oral administration of zinc sulphate for control of ovine footrot. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 178: 704-705.
- DALTON, T.; FU, K.; PALMITER, R.D.; ANDREWS, G.K.** - 1996 - Transgenic mice that overexpress metallothionein-I resist dietary zinc deficiency. *J. Nutr.* 126: 825-833.
- DAVIES, N.T.** - 1980 - Studies on the absorption of zinc by rat intestine. *Br. J. Nutr.* 43: 189-203.

- DEMERTZIS, P.N.; MILLS, C.F.** - 1973 - Oral zinc therapy in the control of infectious pododermatitis in young bulls. *Vet. Rec.* 93: 219-222.
- DROKE, E.A.; SPEARS, J.W.; ARMSTRONG, J.D.; KEGLEY, E.B.; SIMPSON, R.B.** - 1993 - Dietary zinc affects serum concentration on insulin and insulin-like growth factor I in growing lambs. *J. Nutr.* 123:13-19.
- DYNNA, O.; HAVRE, G.N.** - 1963 - Interrelationship of zinc and copper in the nutrition of cattle. *Acta Vet. Scand.* 4: 197-208.
- EGAN, A.R.** - 1972 - Reproductive responses to supplemental zinc and manganese in grazing Dorset Horn ewes. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 12: 131-135.
- EMMERT, J.L.; BAKER, D.H.** - 1993 - Zinc stores in chickens delay the onset of zinc deficiency symptoms. *Poultry Sc.* 74: 1011-1021.
- FALCHUK, K.H.** - 1993 - Zinc in developmental biology: the role of metal dependent transcription regulation. In: *Essential and toxic trace elements in human health and disease: an update.* A.S. Prasad, E. Willey-Liss. New York. p. 91-111.
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J.; JACKSON, M.J.; FOX, T.E.; WHARF, S.G.; EAGLES, J.; CROGHAN, P.C.** - 1993 - The measurement of exchangeable pools of zinc using the stable isotope ^{70}Zn . *Br. J. Nutr.* 70: 221-234.
- FERNANDES, G.; NAIR, M.; ONOCK, K.; TONAKA, T.; FLOYD, R.; GOOD, R.A.** - 1979 - Impairment of cell-mediated immunity functions by dietary zinc deficiency in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 457-461.
- FLANAGAN, P.R.; HAIST, J.; VALBERG, L.S.** - 1983 - Zinc absorption, intraluminal Zn and intestinal metallothionein levels in zinc-deficient and zinc-repleted rodents. *J. Nutr.* 113: 962-972.
- FLYNN, A.; STRAIN, W.H. Y PORIES, W.J.** - 1972 - *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 46: 1113. Citado por Mc Dowell, 1992.
- FONTENOT, J.P.; MILLER, R.F.; PRICE, N.O.** - 1964 - Effect of calcium level and zinc supplementation of fattening lamb rations. *J. Anim. Sci.* 23: 874 (Abstract).
- FORDYCE, E.J.; FORBES, R.M.; ROBBINS, K.R.; ERDMAN, J.W., JR.** - 1987 - Phytate x calcium/zinc molar ratios: Are they predictive of zinc bioavailability? *J. Food Sci.* 52: 440-445.
- FORBES, R.M.** - 1961 - Excretory patterns and bone deposition of zinc, calcium and magnesium in the rat as influenced by zinc deficiency, EDTA and lactose. *J. Nutr.* 74: 194-200.
- FRAKER, P.J.; GERSHWIN, M.E., GOOD, R.A.; PRASAD, A.S.** - 1986 - Interrelationships between zinc and immune function. *Fed. Proc.* 45: 1474-1479.
- GALDES, A.; VALLEE, B.L.** - 1983 - Categories of zinc metalloenzymes. In: *Zinc and its role in biology and Nutrition (Metal ions in biological systems, vol. 15).* H. Sigel and A. Sigel, Eds. Marcel Dekker. New York. p 1-54.
- GIROUX, E.; PRAKASH, N.J.** - 1977 - Influence of zinc-ligand mixtures on serum zinc levels in rats. *J. Pharm. Sci.* 66: 391-395.
- GIROUX, E.L.; DURIEUX, M.; SCHECHTER, P.J.** - 1976 - A study of zinc distribution in human serum. *Bioinorg. Chem.* 5: 211-218.
- GONZÁLEZ, G.P.; BUSCHIAZZO, D.E.** - 1997 - Contenidos de hierro, cobre, manganeso y cinc en suelos de la provincia de La Pampa, Argentina. *Actas del Taller de intercambio técnico "Estado de situación de la nutrición mineral en sistemas intensivos de producción de carne y leche"*. Buenos Aires, 28 de noviembre de 1997.
- GUPTA, R.P.; VERMA, P.C.; GARG, S.L.** - 1997 - Effect of experimental zinc deficiency on thyroid gland in guinea-pigs. *Annals Nutr. and Metab.* 41: 376-381.
- HAARANEN, S.** - 1963 - Zinc requirements of dairy cattle for removal of deficiency symptoms. *Feedstuffs* 35: 17-18.
- HAHN, J.D.; BAKER, D.H.** - 1993 - Growth and plasma zinc response of young pigs fed pharmacological levels of zinc. *J. Anim. Sci.* 71: 3020-3024.
- HAMBIDGE, K.; CASEY, C.E.; KREBS, N.F.** - 1986 - Zinc. In: *Trace Elements in Human and Animal Nutrition, Vol. 2.* W. Mertz, Ed. Academic Press, New York. p. 1-37.
- HEMPE, J. M.; COUSINS, R.J.** - 1992 - Cysteine-rich intestinal protein and intestinal metallothionein: an inverse relationships as a conceptual model for zinc absorption in rats. *J. Nutr.* 122: 89-95.
- HIRIDOGLOU, M.** - 1979 - Trace element deficiencies and fertility in ruminants: a review. *J. Dairy Sc.* 62: 1195-1206.
- JACKSON, M.J.** - 1989 - Physiology of zinc: general aspects. In: *Zin in human biology.* C.F. Mills, Ed. Springer-Verlag. London. p. 1-14.
- JENKINS, K.J.; HIRIDOGLOU, M.** - 1991 - Tolerance of the preruminantcalf for excess manganese or zinc in milk replacer. *J. Dairy Sc.* 74: 1047-1053.
- KEGLEY, E.B.; SPEARS, J.W.** - 1994 - Effect of zinc supplementation on performance and zinc metabolism of lambs fed forage-based diets. *J. Agr. Sci. (Cambridge)* 123: 287-292.
- KEGLEY, E.B.; SPEARS, J.W.** - 1995 - Immune response and performance of sheep fed supplemental zinc as zinc oxide or methionine zinc. *Sheep & Goat Res. J.* 11: 127-131.

- KELLOG, D.W.** - 1990 - Zinc-methionine affects performance of lactating cows. *Feedstuffs* 62: 15.
- KELSAY, J.L.; JACOB, R.A.; PRATHERS, E.S.** - 1979 - Effect of fiber from fruits and vegetables on metabolic responses of human subject. III. Zinc, copper and phosphorous balances. *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 2307-2311.
- KINCAID, R.L.** - 1979 - Biological availability of zinc from inorganic sources with excess dietary calcium. *J. Dairy Sc.* 62: 1081-1085.
- KINCAID, R.L.; CHEW, B.P.; CRONRATH, J.D.** - 1997 - Zinc oxide and amino acids as sources of dietary zinc for calves: Effects on uptake and immunity. *J. Dairy Sc.* 80: 1381-1388.
- KINCAID, R.L.; HODGSON, A.S.; RILEY, R.E., JR.; CRONRATH, J.D.** - 1984 - Supplementation of diets for lactating cows with zinc as zinc oxide and zinc methionine. *J. Dairy Sc.* 67 (suppl. 1): 103.
- KING, J.C.** - 1990 - Assessment of zinc status. *J. Nutr.* 120: 1474-1479.
- KIRCHGESSNER, M.; SCHWARZ, W.A.; ROTH, H.P.** - 1978 - Homeostasis of Zn-metabolism in experimentally induced Zn deficiency of dairy cows. *Trace Element Metabolism in Man and Animals - 3.* M. Kirchgessner, Ed. Freising-Weihestephen, West Germany. p. 116-121.
- KIRCHGESSNER, M.; ROTH, H.P.** - 1985 - Influence of zinc depletion and zinc status on serum growth hormone levels in rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 7: 263-268.
- KIRCHGESSNER, M.; PAULICKS, B.R.; ROTH, H.P.** - 1993 - Zinc in animal nutrition. Function, deficiency, diagnosis, requirements, supply and absorption. *Ciencia e Inv. Agraria* 20: 182-201.
- KREUZER, M.; KIRCHGESSNER, M.** - 1994 - Effect of oral and i.v. iron on tissue retention and excretion of copper and zinc in growing rats. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 72: 242-251.
- LEE, J.; TRELOAR, B.P.; GRACE, N.D.** - 1994 - Metallothionein and trace element metabolism in sheep tissues in response to high and sustained zinc dosages. II. Expression of metallothionein m-RNA. *Aus. J. Agric. Res.* 45: 321-332.
- LEGG, S.P.; SEARS, L.** - 1960 - Zinc sulphate treatment of parakeratosis in cattle. *Nature* 4730: 1061-1062.
- LEVENSON, C.W.; SHAY, N.F.; HEMPE, J.M.; COUSINS, R.J.** - 1994 - Expression of cysteine-rich intestinal protein in rat intestine and transfected cells is not zinc dependent. *J. Nutr.* 124: 13-17.
- LLALÈS, J.P.** - 1995 - Nutrition and immunology in ruminants, pigs and poultry. *Proceedings of the 9th Internacional Conference on Production Diseases in Farm Animals.* Berlin. p. 63-74.
- MASTERS, D.G.; FELS, H.E.** - 1980 - Effect of zinc supplementation on the reproductive performance of grazing merino ewes. *Biological Trace Elem. Res.* 2: 281-290.
- MAYLAND, H.F.; ROSENAU, R.C.; FLORENCE, A.R.** - 1980 - Grazing cow and calf responses to zinc supplementation. *J. Anim. Sci.* 51: 966-974.
- MCDOWELL, L.R.** - 1992 - Minerals in animal and human nutrition. Academic Press. San Diego, CA, USA. 524 p.
- MCNALL, A.D.; ETHELTON, T.D.; FOSMIRE, G.J.** - 1995 - The impaired growth induced by zinc deficiency in rats is associated with decreased expression of the hepatic insulin-like growth factor I and growth hormone receptor genes. *J. Nutr.* 125: 874-879.
- MENARD, M.P.; COUSINS, R.J.** - 1983 - Zinc transport by brush border membrane vesicles from rat intestine. *J. Nutr.* 113: 1434-1442.
- MILLER, J.K.; CRAGLE, R.G.** - 1965 - Gastrointestinal sites of absorption and endogenous secretion of zinc in dairy cattle. *J. Dairy Sc.* 48: 370-373.
- MILLER, J.K.; MADSEN, F.C.; HOLWERDA, R.A.; CAMPBELL, M.H.** - 1996 - Zinc may protect periparturient dairy cattle against excessive dietary iron. *Feedstuffs* 68: 12-14.
- MILLER, J.K.; MILLER, W.J.** - 1960 - Development of zinc deficiency in Holstein calves fed a purified diet. *J. Dairy Sc.* 43: 1854-1856.
- MILLER, J.K.; MILLER, W.J.** - 1962 - Experimental zinc deficiency and recovery of calves. *J. Nutr.* 76: 467-474.
- MILLER, J.K.; RAMSEY, N.; MADSEN, F.C.** - 1993 - Elementos vestigiales. En: *El rumiante: fisiología digestiva y nutrición.* D.C. Church. Ed. Acribia.
- MILLER, L.V.; HAMBIDGE, K.M.; NAADE, V.L.; HONG, Z.; WESTCOTT, J.L.; FENNESSEY, P.V.** - 1994 - Size of the zinc pools that exchange rapidly with plasma zinc in humans: alternative techniques for measuring and relation to dietary zinc intake. *J. Nutr.* 124: 268-276.
- MILLER, W.J.** - 1970 - Zinc nutrition in cattle: a review. *J. Dairy Sc.* 53: 1123-1135.
- MILLER, W.J.** - 1975 - New concepts and developments in metabolism and homeostasis of inorganic elements in dairy cattle. A review. *J. Dairy Sc.* 58: 1549-1560.
- MILLER, W.J.; AMOS, H.E.; GENTRY, R.P.; BLACKMON, D.M., DURRANCE, R.M.; CROWE, C.T.; FIELDING, A.S.; NEATHERY, M.W.** - 1989 - Long-term feeding of high zinc sulfate diets to lactating and gestating dairy cows. *J. Dairy Sc.* 72: 1499-1508.

- MILLER, W.J.; BLACKMON, D.M.; GENTRY, R.P.; PATE, F.M.** - 1970 - Effects of high but nontoxic levels of zinc in practical diets on ^{65}Zn and zinc metabolism in Holstein calves. *J. Nutr.* 100: 893-902.
- MILLER, W.J.; CLIFTON, C.M.; CAMERON, N.W.** - 1963 - Zinc requirement of Holstein bull calves to nine months of age. *J. Dairy Sci.* 46: 715-719.
- MILLER, W.J.; CLIFTON, C.M.; FOWLER, P.R.** - 1965a - Influence of high levels of dietary zinc on zinc in milk, performance and biochemistry of lactating cows. *J. Dairy Sc.* 48: 450-453.
- MILLER, W.J.; PITTS, W.J.; CLIFTON, C. M.; MORTON, J.D.** - 1965b - Effects of zinc deficiency per se on feed efficiency, serum alkaline phosphatase, zinc in skin, behavior, greying, and other measurements in the Holstein calf. *J. Dairy Sc.* 48: 1329-1334.
- MILLER, W.J.; PITTS, W.J.; CLIFTON, C.M.; SCHMITTLE, S.C.** - 1964 - Experimentally produced zinc deficiency in the goat. *J. Dairy Sc.* 47: 556-558.
- MILLER, W.J.; POWELL, G.W.; PITTS, W.J.** - 1965c - Factors affecting zinc content of bovine hair. *J. Dairy Sc.* 48: 1091-1095.
- MILLS, C.F.** - 1978 - Zinc in ruminant nutrition. The Rowett Research Institute. Annual Report of Studies in Animal Nutrition and Allied Sciences. 34: 105-115.
- MILLS, C.R.; DALGARNO, A.C.** - 1967 - The influence of dietary calcium concentration on epidermal lesions of zinc deficiency in lambs. *Proc. Nutr. Soc.* 26: XIX.
- MINATEL, L.; BUFFARINI, M.A.; DALLORSO, M.E.; HOMSE, A. Y CARFAGNINI, J.C.** - 1997 - Relevamiento mineral de bovinos de la región noroeste de la provincia de Buenos Aires. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 18: 67-75.
- MUFARREGE, D.; SOMMA DE FERÉ, G.; HOMSE, A.** - 1983 - Nutrición mineral del ganado en la jurisdicción de la E.E.A. Mercedes (Corrientes). *Actas de la Reunión de especialistas en nutrición mineral del ganado. Rev. Arg. Prod. Anim.* 4 (supl. 3): 5-11.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL** - 1980 - Mineral Tolerance of Domestic Animals. National Academy Press, Washington, D.C., USA.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL** - 1982 - United States-Canadian Tables of Feed Composition. 3rd Ed. National Academy Press, Washington, D.C., USA.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL** - 1985 - Nutrient Requirement of Sheep. 6th Revised Edition. National Academy Press, Washington, D.C., USA.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL** - 1988 - Nutrient Requirement of Dairy Cattle. 6th Revised Edition. National Academy Press, Washington, D.C., USA.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL** - 1996 - Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th Ed. National Academy Press, Washington, D.C., USA.
- NEATHERY, M.W.; MILLER, W.J.; BLACKMON, D.M.; GENTRY, R.P.** - 1973 - Zinc-65 metabolism, secretion into milk, and biological half-life in lactating cows. *J. Dairy Sc.* 1526-1530.
- NORRDIN, R.W.; KROOK, L.; POND, W.G.; WALKER, E.F.** - 1973 - Experimental zinc deficiency in weanling pigs on high and low calcium diets. *Cornell Vet.* 63: 264-290.
- O'DELL, B.L.; YOKE, J.M.; SAVAGE, J.E.** - 1964 - Zinc availability in the chick as affected by phytate, calcium and ethylenediaminetetraacetate. *Poult. Sci.* 43: 415-419.
- O'DELL, B.L. BROWNING, J.D.; REEVES, P.G.** - 1987 - Zinc deficiency increases the osmotic fragility of rat erythrocytes. *J. Nutr.* 1117: 1883-1889.
- OESTREICHER, P.; COUSINS, R.J.** - 1989 - Zinc uptake by basolateral membrane vesicles from rat small intestine. *J. Nutr.* 119: 639-646.
- ORR, C.L.; HUTCHESON, D.P.; GRAINGERS, R.B.; CUMMINS, J.M.; MOCK, R.E.** - 1990 - Serum copper, zinc, calcium and phosphorus concentrations of calves stressed by bovine respiratory disease and infectious bovine rhinotracheitis. *J. Anim. Sci.* 68: 2893-2900.
- OTT, E.A.; SMITH, W.H.; STOB, M. Y BEESON, W.M.** - 1964 - Zinc deficiency syndrome in the young lamb. *J. Nutr.* 82: 41-50.
- OTT, E.A.; SMITH, W.H.; STOB, M.; PARKER, H.E.; BEESON, W.M.** - 1965 - Zinc deficiency syndrome in the young calf. *J. Anim. Sci.* 24: 735-741.
- OTT, E.A.; SMITH, W.H., HARRINGTON, R.B.; BEESON, W.M.** - 1966 - Zinc toxicity in ruminants. II. Effect of high levels of dietary zinc on gains, feed consumption and feed efficiency of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 25: 419-423.
- PARRY, W.H.** - 1977 - Distribution of protein-bound zinc in normal and zinc-deficient lamb plasma. *Nutr. Metab.* 21 (suppl. 1): 48-49.
- PECHIN, G.H.; CSEH., S.; CORBELLINI, C.N.; IDIART, J.L.; MORALEJO, R.; VISCONTI, M.; DRAKE, M.; YARRAR, M.** - 1995 - Estudio de las deficiencias minerales en bovinos de carne en el departamento Maracó, provincia de La Pampa, Argentina. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 15 (2): 492-494.
- PEDROSA, F.O.; PONTREMOLI, S.; HORRECKER, B.L.** - 1977 - Binding of Zn^{2+} to rat liver fructosa 1-6 difosfatasa and its effect on the catalytic properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74: 2742-2745.

- PERRY, T.W.; BEESON, W.M.; SMITH, W.H.; MOHLER, M.T.** - 1968 - Value of zinc supplementation of natural rations for fattening beef cattle. *J. Anim. Sci.* 27: 1674-1677.
- PESCE, L.; BERMÚDEZ, J.; BONINO, J.; RIMBAUD, E.; HIRIGOYEN, D.** - 1992 - Enfermedades podales de los rumiantes. *Hemisferio Sur.* 168 p.
- PIERSON, R.E.** -1966 - Zinc deficiency in young lambs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 149: 1279-1282.
- PITTS, W.J.; MILLER, W.J.; FOSGATE, O.T.; MORTON, J.D.; CLIFTON, C.M.** - 1966 - Effect of zinc deficiency and restricted feeding from two to five months of age on reproduction in Holstein bulls. *J. Dairy Sc.* 49: 995-1000.
- POULSEN, H.D.** - 1995 - Zinc oxide for weanling piglets. *Acta Agric. Scand. Sect. A, Animal Sc.* 45: 159-167.
- PRASAD, A.; MEHTAH, S.; ABDALLAH, J.; KAPLAN, J.; BREWER, G.J.; BACH, J.F.; DARDENNE, M.** 1988 - Serum thymulin in human zinc deficiency. *J. Clin. Inv.* 82: 1202-1210.
- RAHMAN, A.S.; KIMURA, M.; YOKOI, K.; NAHER, T.E.; ITOKAYA, Y.; TANVIR-NAHER, E.** - 1995 - Iron, zinc, and copper levels in different tissues of clinically vitamin A-deficient rats. *Biol. Trace Element Res.* 49: 75-84.
- REEVES, P.G.** - 1994 - Adaptation responses in rats to long-term feeding of high-zinc diets: emphasis on intestinal metallothionein. *J. Nutr. Biochem.* 6: 48-54.
- REID, R.L.; HORVATH, D.J.** - 1980 - Soil chemistry and mineral problems in farm livestock. A review. *Anim. Feed Sc. Technol.* 5: 95-167.
- ROJAS, L.X.; MCDOWELL, L.R.; COUSINS, R.J.; MARTIN, F.G.; WILKINSON, N.S.; JOHNSON, A.B.; VELASQUEZ, J.B.** - 1995 - Relative bioavailability of two organic and two inorganic zinc sources fed to sheep. *J. Anim. Sci.* 73: 1202-1207.
- ROOT, A.W.; DUCKETT, G.; SWEETLAND, M.; REITER, E.O.** - 1979 - Effect on zinc deficiency upon pituitary function in sexually mature and immature male rats. *J. Nutr.* 109: 958-964.
- RUKSAN, B.E.** - 1985 - Mapa de microelementos en forrajeras de Argentina. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 4 (supl. 3): 89-98.
- SANDOVAL, M.; HENRY, P.R.; LITTELL, R.C.; COUSINS, R.J.; AMMERMAN, C.B.** - 1997 - Estimation of the relative bioavailability of zinc from inorganic zinc sources for sheep. *Anim. Feed Sc. Tech.* 66: 223-235.
- SANECKI, R.K.; CORBIN, J.E.; FORBES, R.M.** - 1985 - Extracutaneous histologic changes accompanying zinc deficiency in pups. *Am. J. Vet. Res.* 46: 2120-2123.
- SAYLOR, W.W.; MORROW, F.D.; LEACH, R.M., JR.** - 1980 - Copper- and zinc-binding proteins in sheep liver and intestine: effects of dietary levels of the metals. *J. Nutr.* 110: 460-468.
- SHANKAR, A.H.; PRASAD, A.S.** - 1998 - Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. *Am. J. Clin. Nutr.* 68 (suppl.): 447S-463S.
- SHAY, N.F.; COUSINS, R.J.** - 1993 - Cloning of rat intestinal mRNAs affected by zinc deficiency. *J. Nutr.* 123: 35-41.
- SMART, M.E.; CYMBALUK, N.F.** - 1991 - Trace Minerals. In: *Large Animal Clinical Nutrition.* J.M. Naylor and S.L. Ralston, Eds. Mosby Year Book, Inc. St. Louis. USA.
- SMITH, B.L.; EMBLING, P.P.; TOWERS, N.R.; WRIGHT, D.E.; PAYNE, E.** - 1977 - The protective effect of zinc sulphate in experimental sporidesmin poisoning of sheep. *New Zeal. Vet. J.* 25: 124-127.
- SMITH, J.C., JR.; BROWN, E.D.; MCDANIEL, E.G.; CHAN, W.** - 1976 - Alterations in vitamin A metabolism during zinc deficiency and food and growth restriction. *J. Nutr.* 106: 569-574.
- SMITH, J.C., JR.; MCDANIEL, E.G.; FAN, F.F.; HALSTED, J.A.** - 1973 - Zinc: A trace element essential in vitamin A metabolism. *Science* 181: 954-955.
- SOMERS, M.; UNDERWOOD, E.J.** - 1968 - Studies of zinc nutrition in sheep. II. The influence of zinc deficiency in ram lambs upon the digestibility of the dry matter and the utilization of the nitrogen and sulphur of the diet. *Aust. J. Agric. Res.* 20: 899-903.
- SPAIS, A.G.; PAPASTERIADIS, A.A.** - 1974 - Zinc deficiency in cattle under Greek conditions. In: *Oekstra, W.G.; Suttie, J.W.; Ganther, E.E. y Mertz, W. (Eds.). Trace element metabolism in animals-2.* Baltimore. University Park Press. p. 628-631.
- SPALLHOLZ, J.E.; STEWART, J.R.** - 1989 - Advances in the role of minerals in immunobiology. *Biol. Trace Elem. Res.* 19: 129-151.
- SPEARS, J.W.** - 1989 - Zinc methionine for ruminants: relative bioavailability of zinc in lambs and effects on growth and performance of growing heifers. *J. Anim. Sci.* 67: 835-843.
- SPEARS, J.W.; KEGLEY, E.B.** - 1991 - Effect of zinc and manganese methionine on performance of beef cows and calves. *J. Anim. Sci.* 69 (suppl. 1): 59 (Abstract).
- SPEARS, J.W.; HARVEY, R.W.; BROWN, T.T.** - 1991 - Effects of zinc methionine and zinc oxide on performance, blood characteristics and antibody titers response to viral vaccination in estressed feeder calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 199: 1731-1733.

- STAKE, P.E.; MILLER, W.J.; BLACKMON, D.M.; GENTRY, R.P. Y NEATHERY, M.W.** - 1974 - Role of pancreas in endogenous zinc excretion in the bovine. *J. Nutr.* 104: 1279-1284.
- STAKE, P.E.; MILLER, W.J.; NEATHERY, M.W.; GENTRY, R.P.** - 1975 - Zinc-65 absorption and tissue distribution in two-, and six-month-old Holstein calves and lactating cows. *J. Dairy Sc.* 58: 78-81.
- STANDISH, J.F.; AMMERMAN, C.B.; SIMPSON, C.F.; NEAL, F.C.; PALMER, A.Z.** - 1969 - Influence of graded levels of dietary iron, as ferrous sulfate, on performance and tissue mineral composition of steers. *J. Anim. Sc.* 29: 496-503.
- STEEL, L.; COUSINS, R.J.** - 1985 - Kinetics of zinc absorption by luminally and vascularly perfused rat intestine. *Am. J. Physiol* 248: G46-G53.
- SWINKELS, J.W.G.M.; KORNEGAY, E.T.; VERSTEGEN, M.W.A** - 1994 - Biology of zinc and biological value of dietary organic zinc complexes and chelates. *Nutr. Res. Rev.* 7: 129-149.
- TODD, W. R.; ELVEHJEM, C.A.; HART, E.B.** - 1934 - Zinc in the nutrition of the rat. *Amer. J. Physiol.* 107: 146-156.
- TUCKER, H.F.; SALMON, W.D.** - 1955 - Parakeratosis or zinc deficiency disease in the pig. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 88: 613-616.
- UNDERWOOD, E.J.** - 1981 - The mineral nutrition of livestock. Second Edition. CAB, London.
- UNDERWOOD, E.J.; SOMERS, M.** - 1969 - Studies of zinc nutrition in sheep. I. The relation of zinc to growth, testicular development, and spermatogenesis in young rams. *Aust. J. Agric. Res.* 20: 889-897.
- VALLEE, B.L.; AULD, D.S.** - 1990 - Zinc coordination, function and structure of zinc enzymes and other proteins. *Biochem.* 29: 5647-5659.
- VAN CAMPEN, D.R.** - 1969 - Copper interference with the intestine absorption of Zn-65 in rats. *J. Nutr.* 97: 104-108.
- VAN CAMPEN, D.R.; HOUSE, W.A.** - 1974 - Effect of a low protein diet on retention of an oral dose of ⁶⁵Zn and on tissue concentrations of zinc, iron, and copper in rats. *J. Nutr.* 104: 84-90.
- VANDERGRIFT, B.** - 1992 - The theory and practice of mineral proteinates in the animal feed industry. *Proceedings of Alltech's Eighth Annual Symposium.* Alltech Techn. Publ., Nicholasville, KY, USA. p. 179-192.
- VAN WOUWE, J.P.; UIJLENBROEK, J.M.** - 1994 - The role of the pancreas in the regulation of zinc status. *Biol. Trace Elem. Res.* 42: 143-149.
- VOELKER, H.H.; JORGENSEN, N.E.; MOHANTY, G.P.; OWENS, M.J.** - 1969 - Effects of zinc supplementation to dairy cattle rations. *J. Dairy Sc.* 52: 929-930 (Abs.).
- WALSH, C.T.; SANDSTEAD, H.H.; PRASAD, A.S.; NEWBERNE, P.M.; FRAKER, P.J.** - 1994 - Zinc: Health effects and research priorities for the 1990s. *Environ. Health Perspect.* 102 (suppl. 2): 5-46.
- WAPNIR, R.A.; KHANI, D.E.; BAYNE, M.A.; LIFSHITZ, F.** - 1983 - Absorption of zinc by the rat ileum: effects of histidine and other low-molecular-weight ligands. *J. Nutr.* 113: 1346-1354.
- WEDEKIND, K.J.; BAKER, D.H.** - 1990 - Zinc availability in feed-grade sources of zinc. *J. Anim. Sci.* 68: 684-689.
- WEDEKIND, K.J.; LEWIS, A.J.; GIESEMAN, M.A.; MILLER, P.S.** - 1994 - Bioavailability of zinc from inorganic and organic sources for pigs fed corn-soybean meal diets. *J. Anim. Sci.* 72: 2681-2689.
- WEGNER, T.N.; RAY, D.E.; LOX, C.D.; STOTT, G.H.** - 1973 - Effect of stress on serum zinc and plasma corticoids in dairy cattle. *J. Dairy Sc.* 56: 748-752.
- WEIGAND, E.; KIRCHGESSNER, M.** - 1978a - Homeostatic adaptation of Zn absorption and endogenous Zn excretion over a wide range of dietary supply. In: Trace element in man and animals - 3. M. Kirchgessner, Ed. ATW Freising-Weihenstephan, Germany. p. 106-109.
- WEIGAND, E.; KIRCHGESSNER, M.** - 1978b - Homeostatic adjustments in zinc digestion to widely varying dietary zinc intake. *Nutr. Metab.* 22: 101-112.
- WEISS, J.** - 1996 - Trace elements in dairy cattle feeding. *Milchpraxis* 34: 101-103.
- WHANGER, P.D.; OH, S.H.; DEAGEN, J.T.** - 1981 - Ovine and bovine metallothioneins: accumulation and depletion of zinc in various tissues. *J. Nutr.* 111: 1196-1206.
- WHITE, C.L.** - 1992 - Zinc deficiency in man and animals: endemic or imaginary? *Proc. Nutr. Soc. Aust.* 17: 115-124.
- WHITE, C.L.; MARTIN, G.B.; HYND, P.I.; CHAPMAN, R.E.** - 1994 - The effect of zinc deficiency on wool growth and skin and wool follicle histology of male Merino lambs. *Br. J. Nutr.* 71: 425-435.
- WHITENACK, D.L.; WHITEHAIR, C.K.; MILLER, E.R.** - 1978 - Influence of enteric infection on zinc utilization and clinical signs and lesions of zinc deficiency in young swine. *Am. J. Vet. Res.* 39: 1447-1454.

- WIEN, E.M.; GLAHN, R.P.; VAN CAMPEN, D.R.** - 1994 - Ferrous iron uptake by rat duodenal brush border membrane vesicles: Effects of dietary iron level and competing minerals (Zn^{+2} , Mn^{+2} , and Ca^{+2}). *J. Nutr. Biochem.* 5: 571-577.
- WILLIAMS, R.J.P.** - 1984 - Zinc: what is its role in biology? *Endeavour* 8: 65-70.
- WILLIAMS, R.J.P.** - 1989 - An introduction to the biochemistry of zinc. In: *Zinc in human biology*. C.F. Mills, Ed. Springer-Verlag. London. p. 15-31.
- WU, F.Y.-H.; WU, C.-W.** - 1983 - The role of zinc in DNA and RNA polimerasas. In: *Zinc and its role in biology and Nutrition (Metal ions in biological systems, vol. 15)*. H. sigel and a. sigel, eds. marcel deker. New York. p.157-192.
- ZHOU, J.R.; ERDMAN, J.W., JR.** - 1995 - Phytic acid in health and disease. *Crit. Rev. Food Sc. Nutr.* 35: 495-508.
- ZHOU, J.R.; CANAR, M.M.; ERDMAN, J.W., JR.** - 1993 - Bone zinc is poorly released in young, growing rats fed marginally zinc-restricted diet. *J. Nutr.* 123: 1383-1388.
- ZUBAY, G.L.** - 1998 - *Biochemistry*. Fourth Edition. WCP Publishers. Dubuque, IA, USA.