

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**MICROMINERAIS INJETÁVEIS PARA CAPRINOS E
BOVINOS DE CORTE**

Marcelo Vedovatto

**CAMPO GRANDE, MS
2018**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**MICROMINERÁIS INJETÁVEIS PARA CAPRINOS E
BOVINOS DE CORTE**

Trace minerals injectable for goats and beef cattle

Marcelo Vedovatto

Orientador: Prof. Dr. Gumercindo Lorian Franco

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal

CAMPO GRANDE, MS
2018

Certificado de aprovação

MARCELO VEDOVATTO

Microminerais injetáveis para caprinos e bovinos de corte

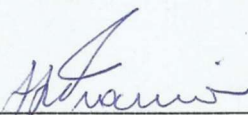
Trace minerals injectable for goats and beef cattle

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de doutor em Ciência Animal.

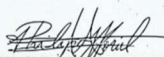
Área de concentração:
Produção Animal.

Aprovado(a) em: 16-07-2018

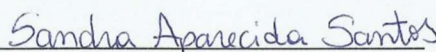
BANCA EXAMINADORA:



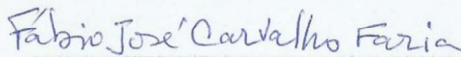
Dr. Gumerindo Loriano Franco
(UFMS) – (Presidente)



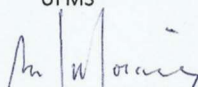
Dr. Philippe Moriel
University of Florida



Dra. Sandra Aparecida Santos
EMBRAPA



Dr. Fábio José Carvalho Faria
UFMS



Dra. Maria da Graça Moraes
UFMS

Dedicatória

Aos meus pais Nelso e Edite. A minha mãe pelo amor, incentivo e carinho. E a meu pai, minha maior referência, que um dia eu consiga ter metade de suas qualidades.

AGRADECIMENTOS

A Deus acima de tudo;

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) pela oportunidade de realizar este curso;

Ao professor Dr. Gumercindo Loriano Franco pela orientação inestimável, amizade, pelo exemplo de conduta profissional, por me possibilitar conduzir experimentos com um tema que eu considero muito interessante, e que esse me fez ter contato com outros professores, consultores, pecuaristas e isso sem dúvida foi importante para o meu crescimento profissional. Sentirei falta do ambiente de trabalho que o senhor me proporcionou e da nossa convivência agradável.

Aos colegas de Pós-graduação Ibrahim Miranda Cortada Neto, Marcella Cândia D'Oliveira, Gabriella de Oliveira Dalla Martha, Anderson Luiz de Lucca Bento, Raizza Tulux Rocha, Marcus Niwa, Gabriella Jorgetti de Moraes e Camila da Silva Pereira pela ajuda na condução dos experimentos e amizade, meus sinceros agradecimentos;

Ao secretário da Pós-graduação Ricardo Oliveira Santos, pela grande amizade e prontidão em ajudar;

À Coordenação de Aperfeiçoamento Profissional de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos;

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) por financiar os experimentos.

À Empresa Multimin (Fort Collins, CO, USA) pela doação do produto e por nos incentivar a conduzir os experimentos com reprodução.

Ao professor Dr. Philippe Moriel da *University of Florida* por me possibilitar realizar uma parte do doutorado (modalidade sanduíche) nessa instituição, por se prontificar em analisar a

concentração de progesterona dos experimentos com reprodução e, me orientar quanto às análises estatísticas.

Ao professor Dr. Reinaldo Cooke da *Texas A&M University* por analisar as concentrações das proteínas da fase aguda dos experimentos com reprodução e por me orientar quanto às análises estatísticas e apresentação dos dados.

Aos professores Dr. Carlos Alberto do Nascimento Ramos (UFMS) por nos auxiliar com as análises das enzimas antioxidantes e a professora Dr^a. Alda Izabel Souza (UFMS) por realizar o hemograma dos experimentos com caprinos e bezerros e pela correção do trabalho com caprinos.

Aos professores Dr. Fábio José Carvalho Faria (UFMS) e Dr. Deiler Sampaio Costa (UFMS) pela amizade e pelo auxílio na condução dos experimentos com reprodução.

À professora Maria Inês Lenz Souza (UFMS) e ao pesquisador, Dr. Rodrigo da Costa Gomes (Embrapa Gado de Corte), pelas correções e sugestões da tese.

À Fazenda Água Boa (Bandeirantes, MS, Brasil), pela possibilidade de execução do experimento com caprinos;

À Fazenda Bela Vista (Camapuã, MS, Brasil), pela possibilidade de execução do experimento com bezerros.

Ao consultor Dr. Ricardo Garcia por nos permitir conduzir experimentos com reprodução na Fazenda São José no Nabileque (Corumbá, MS, Brasil);

Ao consultor Dr. Luiz Carlos Louzada Ferreira (Cia Pecuária Assessoria), por nos permitir conduzir experimentos com reprodução na Fazenda Seriema (Miranda, MS, Brasil);

Ao consultor Gustavo Pranzetti Vieira (Veredas Pecuária de Corte) por nos permitir conduzir experimentos com reprodução nas Fazendas Arancuã (Miranda, MS, Brasil) e Bela Vista (Rio Verde, MS, Brasil);

Ao Sr. Eduardo Gueno por nos permitir realizar experimentos com reprodução na sua propriedade, Fazenda Campo Verde (Jaraguari, MS, Brasil).

À minha família pelo apoio incondicional. À minha mãe Edite Felippi Vedovatto por um dia ter me convencido a cursar a graduação, que naquele momento, pela minha imaturidade, não me parecia importante. Ao meu pai Nelso Vedovatto pelo exemplo de honestidade, seriedade e motivação. À nona Maria Hilária Vedovatto pelo exemplo de conduta e de vida. À minha irmã Cristiane Vedovatto e ao meu cunhado Marcelo Bueno pela amizade, pelos momentos de descontração, e pela ajuda em qualquer coisa que foi necessário.

À minha noiva Denise Pauletto Spanhol que está junto comigo desde que acabei a graduação em zootecnia em 2010 e que não me abandonou nem durante meu mestrado e nem durante o doutorado. Obrigado por me trazer paz nos momentos de aflição e tranquilidade nos momentos de desespero. Não poderia ter escolhido alguém melhor para ter do meu lado.

A todos que contribuíram de alguma forma, muito obrigado.

RESUMO

VEDOVATTO, M. Microminerais injetáveis para caprinos e bovinos de corte. 2018. 143f. Tese - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2018.

Objetivos: Os objetivos foram: **Cap.1)** realizar uma revisão de literatura sobre a utilização de microminerais injetáveis (MMI) em bovinos de corte; avaliar o efeito da aplicação de MMI (Zn, Mn, Se e Cu): **Cap.2)** pós-natal sobre a atividade antioxidante, sistema imunológico, saúde e desempenho de cabritos Boer no período pré-desmame; **Cap.3)** no momento do desmame sobre a concentração de enzimas antioxidantes, sistema imunológico e desempenho de bezerros Nelore no pós-desmame; **Cap.4)** 30 dias (d) pré-inseminação artificial (IA) sobre a concentração de enzimas antioxidantes, proteínas da fase aguda, dinâmica das estruturas ovarianas, peso corporal (PC), escore de condição corporal (ECC) e taxa de prenhez de vacas Nelore; **Cap.5)** 11 d pré-IA sobre a concentração de enzimas antioxidantes, proteínas da fase aguda, dinâmica das estruturas ovarianas, PC, ECC e taxa de prenhez de vacas Nelore.

Material e métodos: Os animais de todos os experimentos foram divididos em 2 tratamentos: Salina, injeção de solução salina e MMI. **Cap.2)** foram utilizados 125 cabritos lactentes com 0 até 10 d de vida e os tratamentos aplicados na dose de 0,1 mL/4,5 kg de PC. **Cap.3)** foram utilizados 159 bezerros recém-desmamados (8 ± 1 mês), e os tratamentos foram aplicados na dose de 1 mL/45 kg de PC. **Cap.4)** foram utilizadas 593 vacas multíparas, sincronizadas para IA em tempo fixo (IATF) e os tratamentos aplicados 30 d pré-IA na dose de 6 mL/vaca. **Cap.5)** foram utilizadas 1164 vacas multíparas, sincronizadas para IATF e os tratamentos aplicados 11 d pré-IA na dose de 6 mL/vaca.

Resultados: A aplicação de MMI: **Cap.1)** pode melhorar o sistema imunológico via maior produção de anticorpos a vacinas e maior fagocitose dos neutrófilos, saúde via redução da incidência de diarreia e outras doenças, maior ganho de peso e taxa de prenhez dos animais; **Cap.2)** em cabritos recém-nascidos aumenta a concentração de enzimas antioxidantes, plaquetas, e melhora o sistema imunológico, reduz a hemoglobina corpuscular média (HCM) e a incidência de diarreia e não afeta a taxa de mortalidade e o desempenho; **Cap.3)** em bezerros no momento do desmame aumenta a concentração de enzimas antioxidantes, plaquetas sanguíneas, e melhora o sistema imunológico, reduz a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e não afeta o desempenho. **Cap.4)** 30 d pré-IA aumenta a

concentração de enzimas antioxidantes, não altera as proteínas da fase aguda e o desempenho, porém tende a reduzir o diâmetro do corpo lúteo das vacas. **Cap. 5)** 11 d pré-IA aumenta ou tende a aumentar a concentração de enzimas antioxidantes, ECC e a taxa de prenhez, não altera as proteínas da fase aguda e o PC, porém reduz o diâmetro e o volume do corpo lúteo de vacas. **Conclusões:** A aplicação de MMI em caprinos e bovinos pode aumentar a produção de enzimas antioxidantes, melhorar o sistema imunológico, reduzir a incidência de diarreia, e melhorar o ECC, porém pode reduzir a HCM, CHCM e o diâmetro/volume do corpo lúteo.

Palavras-Chave: Bovinos. Caprinos. Desempenho. Estresse oxidativo. Minerais traços.

ABSTRACT

VEDOVATTO, M. Trace minerals injection for goats and beef cattle. 2018. 143f. Tese - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2018.

Objectives: The objectives were: **Chapter 1)** to make a literature review on the use of injectable trace minerals (ITM) in beef cattle; evaluate the effect of ITM application (Zn, Mn, Se and Cu): **Chapter 2)** postnatal on the antioxidant activity, immune system, health and performance of Boer goats in the preweaning period; **Chapter 3)** at the time of weaning on the concentration of antioxidant enzymes, immune system and performance of Nellore calves after weaning; **Chapter 4)** 30 days (d) pre-artificial insemination (AI) on the concentration of antioxidant enzymes, acute phase proteins, dynamics of ovarian structures, body weight (BW), body condition score (BCS) and pregnancy rate of Nellore cows; **Chapter 5)** 11 d pre-AI on the concentration of antioxidant enzymes, acute phase proteins, dynamics of ovarian structures, BW, BCS and pregnancy rate of Nellore cows.

Material and methods: The animals of all experiments were divided into 2 treatments: Saline, saline injection and ITM. **Chapter 2)** were used 125 suckling kids with 0 to 10 d of life and the treatments applied at a dose of 0.1 mL/4.5 kg PC. **Chapter 3)** were used 159 calves weaned (8 ± 1 month), and treatments were applied at a dose of 1 mL/45 kg PC. **Chapter 4)** 593 multiparous cows were used and synchronized for fixed time AI (FTAI) at) and the treatments applied 30 d pre-AI at the dose of 6 mL/cow. **Chapter 5)** were used 1164 multiparous cows and synchronized to FTAI and treatments applied 11 d pre-AI at the dose of 6 mL/cow.

Results: The ITM application: **Chapter 1)** may improve the immune system by increased production of antibodies to vaccines and increased phagocytosis of neutrophils, health by reduction of incidence of diarrhea and other diseases, increased weight gain and pregnancy rate of the animals; **Chapter 2)** in newborn goats increases the concentration of antioxidant enzymes, platelets, and improves the immune system, reduces mean corpuscular hemoglobin (MCH) and incidence of diarrhea and does not affect mortality rate and performance; **Chapter 3)** in calves at the time of weaning increases the concentration of antioxidant enzymes, platelets, and improves the immune system, reduces the mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and does not affect performance. **Chapter 4)** 30 d pré-AI increases the concentration of antioxidant enzymes, does not alter the proteins of the acute phase and

performance, but tends to reduce the diameter of the corpus luteum. **Chapter 5)** 11 d pre-AI increases or tends to the concentration of antioxidant enzymes, BCS and pregnancy rate, does not alter acute phase proteins and BW, but reduces the diameter and volume of the corpus luteum in cows.

Conclusions: Thus, the application of ITM in goats and cattle can increase the production of antioxidant enzymes, improve the immune system, reduce the incidence of diarrhea, and improve the BCS, but may reduce MCH, MCHC and corpus luteum diameter/volume.

Key words: Cattle. Goats. Oxidative stress. Performance. Trace minerals.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 2 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS PÓS-NATAL SOBRE A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, SISTEMA IMUNOLÓGICO, SAÚDE E DESEMPENHO DE CABRITOS BOER NO PERÍODO PRÉ-DESMAME

Figura 1. Efeito da aplicação de microminerais injetáveis sobre a concentração das enzimas superóxido dismutase (U/mL) e glutaciona peroxidase (nmol/min/mL) em cabritos.60

Figura 2. Efeito da aplicação de microminerais injetáveis sobre a taxa de mortalidade e de diarreia em cabritos.64

CAPÍTULO 3 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS NO DESMAME SOBRE O DESEMPENHO, CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E SISTEMA IMUNOLÓGICO DE BEZERROS NELORE

Figura 1. Efeito da aplicação de microminerais injetáveis sobre a concentração das enzimas superóxido dismutase (SOD; U/mL) e glutaciona peroxidase (GSH-Px; nmol/min/mL) de bezerros.82

CAPÍTULO 4 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS 30 DIAS PRÉ-IATF SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES, PROTEÍNAS DA FASE AGUDA, DINÂMICA DAS ESTRUTURAS OVARIANAS E TAXA DE PREENHEZ DE VACAS NELORE

Figura 1. Efeito na concentração de superóxido dismutase (Figura 1a) e glutaciona peroxidase (Figura 1b) no Exp. 1.105

Figura 2. Efeito na concentração de haptoglobina (Figura 2a) e ceruloplasmina (Figura 2b) no Exp. 1.105

Figura 3. Efeito sobre a taxa de prenhez no Exp. 1 e Exp. 2 (analisados conjuntamente).105

CAPÍTULO 5 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS 11 DIAS PRÉ-IATF SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES, PROTEÍNAS DA FASE AGUDA, DINÂMICA DAS ESTRUTURAS OVARIANAS E TAXA DE PREENHEZ DE VACAS NELORE

Figura 1. Efeito na concentração de superóxido dismutase (Figura 1a) e glutaciona peroxidase (Figura 1b) no Exp. 1.134

Figura 2. Efeito na concentração de haptoglobina (Figura 2a) e de ceruloplasmina (Figura 2b) no Exp. 1.134

Figura 3. Efeito sobre a taxa de prenhez no Exp. 1 e Exp. 2 (analisados conjuntamente).
.....134

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS PARA BOVINOS DE CORTE: REVISÃO

Tabela 1. Efeito da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) sobre as concentrações séricas, plasmáticas e hepáticas de minerais em bovinos	36
Tabela 2. Efeito da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) sobre a concentração de enzimas antioxidantes no plasma	38
Tabela 3. Efeito da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) sobre o desempenho de bovinos	39
Tabela 4. Efeito da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) sobre a taxa de prenhez de vacas	41

CAPÍTULO 2 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS PÓS-NATAL SOBRE A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, SISTEMA IMUNOLÓGICO, SAÚDE E DESEMPENHO DE CABRITOS BOER NO PERÍODO PRÉ-DESMAME

Tabela 1. Composição química dos alimentos fornecidos para as cabras e cabritos	59
Tabela 2. Efeito dos microminerais injetáveis sobre o leucograma de cabritos	61
Tabela 3. Efeito dos microminerais injetáveis sobre o eritograma e a concentração de plaquetas sanguíneas de cabritos	62
Tabela 4. Efeito dos microminerais injetáveis sobre o peso corporal (PC) e ganho médio diário (GMD) de cabritos	65

CAPÍTULO 3 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS NO DESMAME SOBRE O DESEMPENHO, CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E SISTEMA IMUNOLÓGICO DE BEZERROS NELORE

Tabela 1. Composição química do capim-xaraés durante o experimento	81
Tabela 2. Efeito da aplicação de microminerais injetáveis sobre o leucograma de bezerros	83
Tabela 3. Efeito da aplicação de microminerais injetáveis sobre o eritograma e a concentração de plaquetas sanguíneas de bezerros	84
Tabela 4. Efeito da aplicação de microminerais injetáveis sobre o desempenho de bezerros	85

CAPÍTULO 4 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS 30 DIAS PRE-IATF SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES, PROTEÍNAS DA FASE AGUDA,

DINÂMICA DAS ESTRUTURAS OVARIANAS E TAXA DE PREENHEZ DE VACAS NELORE

Tabela 1. Composição química das forrageiras das fazendas (Faz) onde foi feito os experimentos. 102

Tabela 2. Níveis de garantia dos suplementos minerais em pó utilizado nas diferentes fazendas (Faz). 103

Tabela 3. Efeito da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) sobre as estruturas ovarianas, peso corporal e escore de condição corporal (Exp. 1). 104

CAPÍTULO 5 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS 11 DIAS PRE-IATF SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES, PROTEÍNAS DA FASE AGUDA, DINÂMICA DAS ESTRUTURAS OVARIANAS E TAXA DE PREENHEZ DE VACAS NELORE

Tabela 1. Composição química das forrageiras das fazendas (Faz) onde foram executados os experimentos. 130

Tabela 2. Níveis de garantia dos suplementos minerais em pó utilizado nas diferentes fazendas (Faz). 131

Tabela 3. Efeito da aplicação de microminerais injetáveis (SMI) sobre as estruturas ovarianas, peso corporal e escore de condição corporal (Exp. 1). 132

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC	Association of Official Analytical Chemists	Mg	Magnésio
Ca	Cálcio	MM	Matéria Mineral
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média	MMI	Microminerais Injetáveis
CNF	Carboidratos Não Fibrosos	Mn	Manganês
Co	Cobalto	Mo	Molibdênio
Cu	Cobre	MS	Matéria Seca
ECC	Escore de Condição Corporal	Na	Sódio
EE	Extrato Etéreo	NRC	National Research Council
EPM	Erro Padrão da Média	P	Fósforo
FDA	Fibra em Detergente Ácido	PB	Proteína Bruta
FDN	Fibra em Detergente Neutro	PC	Peso Corporal
Fe	Ferro	ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
GMD	Ganho Médio Diário	S	Enxofre
GSH-Px	Glutathiona Peroxidase	Salina	Solução Salina
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média	SAS	Statistical Analysis System
I	Iodo	Se	Selênio
IL	Interleucinas	SOD	Superóxido Dismutase
IA	Inseminação Artificial	TNF- α	Fator de Necrose Tumoral α
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo	VCM	Volume Corpuscular Médio
IGF-I	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina Tipo 1	Zn	Zinco
K	Potássio		
LSMEANS	Least-Squares Means		

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	18
Literatura citada	19
CAPÍTULO 1 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS PARA BOVINOS DE CORTE:	
REVISÃO	20
Resumo.....	22
Abstract	23
Introdução	24
Possibilidades e limitações da utilização de microminerais injetáveis	25
Concentração de microminerais no sangue e fígado após a aplicação dos MMI.....	26
Efeito no controle do estresse oxidativo	27
Efeito no sistema imunológico e saúde.....	28
Efeito no ganho de peso e consumo	29
Efeito no desempenho reprodutivo de vacas.....	30
Conclusões	31
Referências.....	31
CAPÍTULO 2 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS PÓS-NATAL SOBRE A ATIVIDADE	
ANTIOXIDANTE, SISTEMA IMUNOLÓGICO, SAÚDE E DESEMPENHO DE	
CABRITOS BOER NO PERÍODO PRÉ-DESMAME	43
Resumo.....	45
1. Introdução	46
2. Material e Métodos	47
2.1 Animais, tratamentos e colheita de amostras	47
2.2 Análises laboratoriais	49
2.3 Análises estatísticas	50
3.0 Resultados	51
4.0 Discussão.....	52
5.0 Conclusão.....	55
Conflito de interesse.....	55
Agradecimentos.....	55
Referências.....	56

CAPÍTULO 3 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS NO DESMAME SOBRE O DESEMPENHO, CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E SISTEMA IMUNOLÓGICO DE BEZERROS NELORE	66
Resumo.....	68
1. Introdução	69
2. Material e Métodos	70
2.1 Animais, tratamentos e coletas de amostras	70
2.2 Análises laboratoriais	71
2.3 Análises estatísticas	72
3.0 Resultados	73
4.0 Discussão.....	74
5.0 Conclusão.....	77
Conflito de interesse.....	77
Agradecimentos.....	78
Referências	78
CAPÍTULO 4 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS 30 DIAS PRÉ-IATF SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES, PROTEÍNAS DA FASE AGUDA, DINÂMICA DAS ESTRUTURAS OVARIANAS E TAXA DE PRENHEZ EM VACAS NELORE.....	86
Resumo.....	88
Introdução	90
Material e métodos	91
Animais, tratamentos e colheita de amostras	91
Análises laboratoriais	93
Análises estatísticas	94
Resultados	95
Discussão.....	96
Literatura citada	99
CAPÍTULO 5 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS 11 DIAS PRÉ-IATF SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES, PROTEÍNAS DA FASE AGUDA, DINÂMICA DAS ESTRUTURAS OVARIANAS E TAXA DE PRENHEZ EM VACAS NELORE.....	111
Resumo.....	113

Introdução	115
Material e métodos	116
Animais, tratamentos e colheita de amostras	116
Análises laboratoriais	119
Análises estatísticas	120
Resultados	121
Discussão.....	122
Literatura citada	126
CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE	140

INTRODUÇÃO

Com o objetivo de identificar os principais minerais deficientes em bovinos de corte criados a pasto no Brasil, foram feitos levantamentos sistemáticos em áreas de pastagens, através de análises químicas de tecidos de bovinos, forrageiras e solo, sendo observado que o fósforo é o mineral mais deficiente, seguido por Cu e cobalto (Tokarnia et al., 2000). Especificamente no estado de Mato Grosso do Sul (MS), foram descritos casos de deficiência de P, Na, Zn, Mn, Se, Cu, I e Co (Tokarnia et al., 2000) o que sugere haver necessidade de suplementação mineral em bovinos criados a pasto nestes locais.

Os microminerais são importantes para vários processos biológicos relacionados ao crescimento, função antioxidante das células, sistema imunológico, saúde e reprodução de bovinos (Underwood e Suttle, 1999). O principal método de fornecimento de microminerais para ruminantes mantidos em pastagem é através do fornecimento de mistura mineral em pó (Underwood e Suttle, 1999), e um método alternativo é a aplicação de microminerais injetáveis (MMI). Os MMI complementam os métodos convencionais e asseguraram o fornecimento de uma quantidade conhecida de microminerais para todos os animais de um mesmo lote. Além disso, não estão sujeitos às flutuações no consumo voluntário, problema que é normalmente observado em bovinos mantidos a pasto consumindo mistura mineral em pó (Arthington et al., 2014).

Alguns trabalhos foram executados com MMI contendo Zn, Mn, Se e Cu nos mais diversos sistemas de produção de bovinos e observaram aumento no status de microminerais dos animais após a aplicação (Pogge et al., 2012; Arthington et al., 2014), aumento da concentração plasmática de enzimas antioxidantes (Pogge et al., 2012; Teixeira et al., 2014), melhora no sistema imunológico (aumento da atividade fagocítica dos neutrófilos) e saúde (menor incidência de diarreia e de otite, pneumonia ou ambos; Teixeira et al., 2014), tendência para aumentar a taxa de crescimento corporal (Arthington et al., 2014) e maiores taxas de prenhez em vacas (Mundell et al., 2012). Não foram encontrados trabalhos que avaliaram a utilização de MMI em caprinos.

Assim os nossos objetivos foram: **Cap.1)** realizar uma revisão de literatura sobre a utilização de microminerais injetáveis (MMI) em bovinos de corte; e avaliar o efeito da aplicação de MMI (Zn, Mn, Se e Cu): **Cap.2)** pós-natal sobre a atividade antioxidante, sistema imunológico, saúde e desempenho de cabritos Boer no período pré-desmame; **Cap.3)** no momento do desmame sobre a concentração de enzimas antioxidantes, sistema imunológico e desempenho de bezerros Nelore no pós-desmame; **Cap.4)** 30 dias pré-inseminação artificial

34 (IA) sobre a concentração de enzimas antioxidantes, proteínas da fase aguda, dinâmica das
35 estruturas ovarianas, peso corporal (PC), escore de condição corporal (ECC) e taxa de prenhez
36 de vacas Nelore; e **Cap.5**) 11 dias pré-IA sobre a concentração de enzimas antioxidantes,
37 proteínas da fase aguda, dinâmica das estruturas ovarianas, PC, ECC e taxa de prenhez de vacas
38 Nelore.

39

40

Literatura citada

41

42 ARTHINGTON, J.D.; MORIEL, P.; MARTINS, P.G.M.A.; LAMB, G.C.; HAVENGA, L.J.
43 Effects of trace mineral injections on measures of performance and trace mineral status of pre-
44 and postweaned beef calves. **Journal of Animal Science**, v.92, p.2630–2640, 2014.

45

46 MUNDELL, L.R.; JAEGER, J.R.; WAGGONER, J.W.; STEVENSON, J.S.; GRIEGER,
47 D.M.; PACHECO, L.A.; BOLTE, J.W.; AUBEL, N.A.; ECKERLE, G.J.; MACEK, M.J.;
48 ENSLEY, S.M.; HAVENGA, L.J.; OLSON, K.C. Effects of prepartum and postpartum bolus
49 injections of trace minerals on performance of beef cows and calves grazing native range. **The**
50 **Professional Animal Scientist**, v.28, p.82–88, 2012.

51

52 POGGE, D.J.; RICHTER, E.L.; DREWNOSKI, M.E.; HANSEN, S.L. Mineral concentrations
53 of plasma and liver after injection with a trace mineral complex differ among Angus and
54 Simmental cattle. **Journal of Animal Science**, v.90, p.2692-2698, 2012.

55

56 TEIXEIRA, A.G.V.; LIMA, F.S.; BICALHO, M.L.S.; KUSSLER, A.; LIMA, S.F.; FELIPPE,
57 M.J.; BICALHO, R.C. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium,
58 copper, zinc, and manganese on immunity, health, and growth of dairy calves. **Journal of**
59 **Dairy Science**, v.97, p.4216–4226, 2014.

60

61 TOKARNIA, C. H., DÖBEREINER, J., PEIXOTO, P. V. Deficiências minerais em animais
62 de fazenda, principalmente bovinos em regime de campo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**,
63 v.20, n.3, p.127-138, 2000.

64

65 UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. The mineral nutrition of livestock. 3rd rev. ed. CABI
66 Publishing, New York, 1999. 614p.

67 **CAPÍTULO 1 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS PARA BOVINOS DE CORTE:**

68 **REVISÃO**

69

O artigo a seguir está redigido de acordo com as exigências para publicação no periódico Boletim da Indústria Animal.

70 **MICROMINERAIS INJETÁVEIS PARA BOVINOS DE CORTE: REVISÃO**

71

72 VEDOVATTO, Marcelo¹; FRANCO, Gumercindo Loriano^{1*}

73

74 ¹Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Faculdade de Medicina Veterinária e
75 Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Av. Senador Filinto Muller, 2443, Vila Ipiranga, CEP
76 79070-900, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

77 *Endereço para correspondência: gumercindo.franco@ufms.br

78

79 MICROMINERAIS INJETÁVEIS PARA BOVINOS DE CORTE: REVISÃO

80

81 **RESUMO**

82

83 Os microminerais são imprescindíveis em vários processos biológicos relacionados ao
84 crescimento, como componentes de enzimas antioxidantes, sistema imunológico, saúde e
85 reprodução de bovinos. Há vários métodos de fornecimento de microminerais para bovinos e
86 um deles é a aplicação de microminerais injetáveis (MMI). Desta forma, o nosso objetivo foi
87 realizar uma revisão de literatura avaliando as possibilidades e limitações da utilização dos
88 MMI (Zn, Mn, Se e Cu), e o efeito da aplicação destes na concentração de microminerais no
89 sangue e fígado, produção de enzimas antioxidantes, sistema imunológico, saúde, ganho de
90 peso e desempenho reprodutivo de bovinos de corte. Os MMI complementam os métodos
91 convencionais de suplementação de microminerais, pois asseguram o fornecimento de uma
92 quantidade conhecida para cada animal, não possui problemas de flutuação no consumo
93 individual de mineral ao longo do ano ou entre os animais do mesmo lote, pode ser aplicado
94 em momentos de baixo consumo de matéria seca (MS; por exemplo, após o estresse do
95 desmame), não possui problemas com antagonistas da dieta, e também pode ser uma
96 estratégia para fornecimento de microminerais em sistema extensivos, montanhosos ou
97 inundados. Algumas limitações para prover os MMI são a necessidade de curral de manejo
98 para aplicação e, também, a possibilidade de reação inflamatória. Após a injeção, os minerais
99 circulam pelo corpo, uma parte é incorporada nas células, e o restante é metabolizado pelo
100 fígado, onde são ligados às proteínas de armazenamento para uso em longo prazo, ou
101 excretados. O tempo de armazenamento no fígado é altamente variável, mas existem
102 trabalhos que mostram que o Zn, Mn, Se e Cu podem ser armazenado por até 79, 15, 177 e 100
103 dias respectivamente, após a aplicação dos MMI. Estes microminerais podem aumentar a
104 concentração das enzimas antioxidantes no plasma, como superóxido dismutase (SOD),
105 glutathione peroxidase (GSH-Px) e catalase (CAT), e o aumento destas pode resultar em maior
106 controle do estresse oxidativo nas células. A aplicação de MMI pode causar melhora no
107 sistema imunológico (maior produção de anticorpos às vacinas e maior fagocitose dos
108 neutrófilos), saúde (redução da incidência de diarreia e outras doenças), maior ganho de peso
109 e desempenho reprodutivo (aumento na taxa de prenhez) dos animais. Porém, nem sempre a
110 aplicação de MMI vai resultar nesses efeitos benéficos e, provavelmente, animais com
111 limitações de microminerais respondam com mais eficiência.

112 **Palavras-chaves:** bezerros, estresse oxidativo, minerais traços, vacas

113 INJECTABLE TRACE MINERALS FOR BEEF CATTLE: REVIEW

114

115 ABSTRACT

116

117 Trace minerals are essential in several biological processes related to growth, such as
118 components of antioxidant enzymes, immune system, health and reproduction of cattle. There
119 are several methods of supplying trace minerals to cattle and one of them is the application of
120 injectable trace minerals (ITM). Thus, our objective was to carry out a literature review
121 evaluating the possibilities and limitations of ITM (Zn, Mn, Se and Cu) use, and the effect of
122 ITM application on the concentration of trace minerals in the blood and liver, production of
123 antioxidant enzymes, immune system, health, weight gain and reproduction of beef cattle.
124 The ITM complements conventional methods of supplementation of trace minerals, as it
125 ensures the supply of a known quantity to each animal, does not have problems of fluctuation
126 in the individual consumption of mineral throughout the year or between the animals of the
127 same cohort, can be applied at times of low dry matter intake (DMI, for example, after
128 weaning stress), has no problems with diet antagonists, and can also be a strategy for
129 supplying trace minerals in extensive, mountainous or flooded lands. Some limitations to
130 provide ITM are the need of corral for application and, also the possibility of inflammatory
131 reaction. After injection, minerals circulate through the body and is incorporated into the cells
132 or metabolized by the liver, where they are bound to storage proteins for long-term use or
133 excreted. The storage time in the liver is highly variable, but there are studies showing that
134 Zn, Mn, Se and Cu can be stored for up to 79, 15, 177 and 100 days respectively, after
135 application of ITM. These trace minerals may increase the concentration of antioxidant
136 enzymes in the plasma, such as superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-
137 Px) and catalase (CAT), and the increased concentrations of these enzymes may enhance the
138 control of cellular oxidative stress. The application of ITM may enhance the immune system
139 (increased production of antibodies to vaccines and increased phagocytosis of neutrophils),
140 health (reducing the incidence of diarrhea and other diseases), weight gain and reproductive
141 performance (greater pregnancy rate) of the animals. However, ITM will not always result in
142 these beneficial effects, and probably, animals with trace mineral limitations will respond
143 more efficiently.

144 **Key-words:** calves, cows, oxidative stress, trace minerals

145

146 INTRODUÇÃO

147

148 Os microminerais são importantes para vários processos biológicos relacionados ao
149 crescimento, função antioxidante das células, sistema imunológico, saúde e reprodução de
150 bovinos (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999). Bovinos mantidos em pastagem, normalmente,
151 não tem suas exigências de minerais atendidas pelas forrageiras, e se faz necessário realizar
152 suplementação. Essa pode ser feita por vários métodos, como mistura mineral em pó, fontes
153 de minerais adicionadas a blocos nutricionais ou suplementos proteicos e/ou energéticos
154 (ARTHINGTON et al., 2014), bolus intraruminais contendo microminerais de liberação lenta
155 (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999) e microminerais injetáveis (MMI; ARTHINGTON et al.,
156 2014). Cada um destes métodos possui suas vantagens e limitações de uso, e o foco desta
157 discussão será dado para os MMI.

158 A prática de aplicar MMI para bovinos não é recente, e foi descrita como uma forma
159 interessante de fornecer principalmente Cu em sistemas extensivos de produção de
160 ruminantes (HARVEY e SUTHERLE, 1953). Atualmente, estudos têm sido executados com
161 MMI contendo Zn, Mn, Se e Cu nos mais diversos sistemas de produção de bovinos e
162 observou-se aumento no status de microminerais dos animais após a aplicação (POGGE et al.,
163 2012; ARTHINGTON et al., 2014; NIEDERMAYER et al., 2017), aumento da concentração
164 plasmática de enzimas antioxidantes (POGGE et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2014), melhora no
165 sistema imunológico (ARTHINGTON e HAVENGA, 2012; TEIXEIRA et al., 2014; ROBERTS
166 et al., 2016) e saúde (RICHESON e KEGLEY, 2011; Teixeira et al., 2014), tendência para
167 aumentar a taxa de crescimento (ARTHINGTON et al., 2014; GENTHER e HANSEN, 2014) e
168 maiores taxas de prenhez em vacas (SALES et al., 2011; MUNDELL et al., 2012; STOKES et al.,
169 2017).

170 Apesar do aumento no número de trabalhos avaliando o efeito dos MMI nas diversas
171 categorias de bovinos, não foi encontrado um estudo que reunisse e sistematizasse esses
172 resultados. Assim, o nosso objetivo foi realizar uma revisão de literatura avaliando as
173 possibilidades e limitações da utilização dos MMI, e o efeito desta aplicação na concentração
174 de microminerais no sangue e fígado, produção de enzimas antioxidantes, sistema
175 imunológico, saúde, ganho de peso e desempenho reprodutivo de bovinos de corte.

176

177

178 POSSIBILIDADES E LIMITAÇÕES DA UTILIZAÇÃO DE MICROMINERAIS 179 INJETÁVEIS

180

181 Uma das principais características dos MMI, que complementam os métodos
182 convencionais, é assegurar uma quantidade conhecida de microminerais para cada animal.
183 Além disso, não possui flutuações no consumo voluntário, problema que é normalmente
184 observado em bovinos mantidos a pasto consumindo mistura mineral em pó (ARTHINGTON
185 et al., 2014). MANZANO et al. (2012) compararam o comportamento alimentar e o consumo
186 de suplemento mineral em pó oferecido à vontade para novilhos em pastagem em diferentes
187 estações do ano e observaram que o consumo individual foi diferente entre os animais,
188 variando de 0 a 400 g/d na primavera-verão, e de 0 a 440 g/d no outono. Esses resultados
189 mostram que nem todos os animais do mesmo lote consomem suplemento mineral todos os
190 dias, e mesmo que o consumo médio do lote esteja dentro do planejado, o alto coeficiente de
191 variação no consumo faz com que o aporte de minerais seja diferente entre os animais do
192 mesmo grupo.

193 A utilização de MMI pode ser uma estratégia para garantir o atendimento das
194 exigências de microminerais para as categorias ou para aqueles animais que apresentam baixo
195 consumo matéria seca (MS). Alguns exemplos disso são os animais recém-nascidos, recém-
196 desmamados, e em fases de estresse causado pelo manejo ou ambiente, nos quais ocorre
197 redução no consumo de MS (durante estação de IATF, após a castração de animais adultos,
198 durante a adaptação a uma nova dieta, etc.). Além disso, os MMI não apresentam problemas
199 relacionados aos antagonistas da dieta e à interação entre os minerais no trato gastrointestinal
200 como observado nos métodos convencionais (ARTHINGTON et al., 2014). Por exemplo, o
201 coeficiente de absorção do Cu é negativamente afetado pela concentração de Mo, S e Fe na
202 dieta e o coeficiente de absorção do Zn é afetado pela quantidade de fitato, Fe, Ca e Cu na
203 dieta (NRC, 2005).

204 Os MMI também podem ser uma forma de assegurar o atendimento de microminerais
205 em sistemas com dificuldade de fornecimento do suplemento mineral em pó, como em áreas
206 extensivas, montanhosas ou inundadas (ARTHINGTON et al., 2014). Nesses ambientes
207 também podem ser observados diminuição de oferta de mineral, devido ao consumo de
208 suplemento mineral em pó por animais silvestres (ARTHINGTON et al., 2014).

209 A utilização de MMI também apresenta limitações, como a necessidade da adoção de
210 mais práticas de manejo no curral para aplicação do produto. De forma geral, as
211 recomendações de intervalo de aplicação para os MMI contendo Zn, Mn Se e Cu, estabelecidas

212 pelos fabricantes são: para touros, três vezes ao ano; vacas de corte, quatro semanas antes da
213 estação de monta ou parto; bezerros, ao nascimento, três meses de idade e ao desmame; e para
214 novilhas, a cada três meses. Essas aplicações aumentam o número de manejos no curral e, se
215 a fazenda não possui estrutura adequada para a aplicação do produto, essa prática pode ser
216 inviabilizada. Além disso, animais muito reativos no tronco de contenção normalmente
217 apresentam menor desempenho em relação aos calmos (COOKE et al., 2017), e o maior
218 número de manejos no tronco de contenção para aplicação dos MMI pode afetar o
219 desempenho dos animais mais reativos.

220 As atuais soluções com microminerais, contendo Zn, Mn e Cu (quelatados com EDTA
221 dissódico) e Se (como selenito de sódio) não tem causado reação inflamatória no local da
222 injeção (ARTHINGTON e HAVENGA, 2012; ARTHINGTON et al., 2014), ao contrário do que
223 era observado antigamente com soluções contendo Cu (HARVEY e SUTHERLE, 1953). Porém,
224 ARTHINGTON et al. (2014) observaram alterações das proteínas da fase aguda, indicando
225 uma reação inflamatória por até 14 dias após a aplicação dos MMI, o que faz com que a
226 possibilidade dessa reação deva ser levada em conta na escolha do momento da aplicação
227 destes produtos.

228

229 **CONCENTRAÇÃO DE MICROMINERAIS NO SANGUE E FÍGADO APÓS A** 230 **APLICAÇÃO DOS MMI**

231

232 Após a aplicação dos MMI, os minerais circulam pelo corpo, sendo uma parte
233 incorporada nas células, e o restante metabolizado pelo fígado, onde são excretados ou ligados
234 às proteínas de armazenamento para uso em longo prazo (SUTTLE, 2010). Alguns trabalhos
235 avaliaram a concentração de microminerais no fígado, por meio de biópsias, para caracterizar
236 o status de microminerais dos animais (ARTHINGTON e HAVENGA, 2012; ARTHINGTON
237 et al., 2014; POGGE et al., 2012). Como os microminerais podem ser parcialmente
238 armazenados nesse órgão, a aplicação destes na forma injetável pode ser um método
239 interessante. Alguns trabalhos avaliaram a taxa de liberação/desaparecimento dos MMI no
240 soro ou plasma e fígado após a aplicação, e estes são apresentados na Tabela 1 e discutidos a
241 seguir.

242 A aplicação de MMI na forma subcutânea faz com que ocorra aumento da
243 concentração de Zn e Se no soro (TEIXEIRA et al., 2014) e Cu no plasma (POGGE et al., 2012),
244 que permaneceram superiores por aproximadamente duas semanas após a aplicação
245 comparado aos animais controle que não receberam MMI (Tabela 1). O pico da concentração

246 plasmática de Zn, Mn e Se acontece aproximadamente entre 8-10 horas após a aplicação dos
247 MMI, e vão reduzindo até retornar aos níveis basais (POGGE et al. 2012).

248 A concentração dos microminerais no fígado após a aplicação dos MMI permanece
249 elevada por mais tempo do que é observado no soro ou plasma (Tabela 1). Nos trabalhos
250 consultados, o maior período após a aplicação dos MMI que o Zn permaneceu superior ao
251 grupo controle foi de 79 dias (NIEDERMAYER et al., 2017), 15 dias para o Mn (POGGE et al.,
252 2012), 177 dias para o Se (ARTHINGTON et al., 2014) e 100 dias para o Cu (ARTHINGTON et
253 al., 2014). O tempo de permanência no fígado de cada micromineral é altamente variável
254 (Tabela 1), provavelmente sendo afetado pelo status que o animal se encontra no momento da
255 aplicação dos MMI, e animais com deficiência em determinado mineral possivelmente terão
256 seu tempo de estocagem reduzido.

257 A aplicação de MMI contendo Zn, Mn, Se e Cu causou uma redução na concentração
258 de Fe no fígado de bovinos por até 100 dias após a aplicação desta solução (ARTHINGTON
259 et al., 2014). Estes autores também observaram aumento na concentração de ceruloplasmina
260 no plasma pós-aplicação de MMI. Segundo ROESER et al. (1970), a ceruloplasmina é a
261 proteína primária de transporte de Cu no sangue, porém também é um importante mediador
262 para mobilização do Fe corporal. Assim, o maior aporte de Cu fornecido através dos MMI
263 aumentou a concentração de ceruloplasmina e esta provavelmente foi responsável pela
264 redução na concentração de Fe no fígado (ARTHINGTON et al., 2014). Esses resultados
265 mostram que as interações entre minerais não acontecem somente no trato gastrointestinal,
266 mas também após serem absorvidos, podendo afetar tanto a disponibilidade de cada mineral
267 como causar alterações metabólicas que afetam o estoque de microminerais.

268

269 EFEITO NO CONTROLE DO ESTRESSE OXIDATIVO

270

271 A aplicação de MMI pode aumentar a concentração plasmática de enzimas
272 responsáveis pelo controle do estresse oxidativo das células. Após a aplicação, as enzimas
273 SOD e CAT podem ter suas concentrações aumentadas por até 10 dias (TOMASI et al., 2018)
274 e de GSH-Px por até 15 dias (POGGE et al., 2012; Tabela 2). O aumento da concentração de
275 SOD pode acontecer pelo maior aporte de Zn, Mn e Cu que são componentes essenciais das
276 enzimas encontradas na forma de Cu/Zn-SOD e Mn-SOD (MARKCLUND, 1980). Essas
277 metaloenzimas são importantes para catalisar a dismutação do ânion superóxido para
278 oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio (SORDILLO e AITKEN, 2009). Além disso, o Se
279 é componente da enzima GSH-Px, cuja função principal é catalisar a redução de

280 hidroperóxidos, como peróxidos de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos (ROTRUCK et al.,
281 1973). O Cu é um cofator da enzima CAT que é uma heme proteína citoplasmática que tem a
282 função de catalisar a redução do peróxido de hidrogênio para água e oxigênio
283 (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999). Assim, o aumento da concentração destas enzimas
284 antioxidantes com a aplicação dos MMI pode levar a um maior controle do estresse oxidativo
285 nas células e reduzir os danos causados por este.

286

287 EFEITO NO SISTEMA IMUNOLÓGICO E SAÚDE

288

289 A aplicação de MMI pode aumentar o controle do estresse oxidativo nas células e isso
290 pode refletir em melhora no sistema imunológico de bovinos (Teixeira et al., 2014). Segundo
291 Spears e Weiss (2008), as células do sistema imune são sensíveis ao estresse oxidativo por
292 possuírem membranas com altas concentrações de ácidos graxos poli-insaturados que são
293 altamente susceptíveis à peroxidação lipídica.

294 A aplicação de MMI em bezerras recém-nascidas aumentou a capacidade dos
295 neutrófilos fagocitarem, e isto provavelmente aconteceu por estas células terem sofrido menor
296 estresse oxidativo (TEIXEIRA et al., 2014). Os MMI também podem aumentar a produção de
297 anticorpos em resposta à determinadas vacinas. A aplicação de MMI e de uma vacina para
298 diarreia viral bovina (BHV-1, BVDV-1 e BVDV-2) e parainfluenza viral bovina tipo 3 em
299 novilhos de corte fez com que a produção de anticorpos contra BVDV-1 fosse superior em
300 relação ao grupo controle nos dias 14, 30 e 60 após a aplicação de MMI (ARTHINGTON e
301 HAVENGA, 2012). Em outro experimento, a aplicação de MMI em novilhos e touros também
302 aumentou a produção de anticorpos contra BVDV-1 em relação ao controle 14 dias após a
303 aplicação de MMI (ROBERTS et al., 2016), o que pode ser devido ao maior controle do estresse
304 oxidativo e menores danos às células imunológicas. Além disso, particularmente o Zn
305 (presente nos MMI) possui funções na produção de proteínas e formação de ligações
306 dissulfeto (CHARLTON e EWING, 2007), e como os anticorpos são estruturas proteicas
307 ligadas por ligações dissulfeto, o maior aporte de Zn especificamente pode ter refletido em
308 aumento de anticorpos.

309 A melhora no sistema imunológico com a aplicação dos MMI em bovinos pode
310 diminuir a incidência de doenças. A aplicação de 1 mL de MMI em bezerras ao nascimento e
311 30 dias de vida reduziu a incidência de diarreia (49,7 e 41,7% para os tratamentos MMI e
312 controle respectivamente) e de pneumonia, otite ou ambos (49,1 e 41,6% para os tratamentos
313 MMI e controle respectivamente; TEIXEIRA et al., 2014). Em outro experimento com novilhas

314 em confinamento (RICHESON e KEGLEY, 2011), foi testada a aplicação de diferentes soluções
315 contendo microminerais: **MMI-1**: 20 mg de Zn/mL, 20 mg de Mn/mL, 5 mg de Se/mL e 10
316 mg de Cu/mL; **MMI-2**: 48 mg de Zn/mL, 10 mg de Mn/mL, 5 mg de Se/mL e 16 mg de
317 Cu/mL; ambas aplicadas na dose de 1 mL/45 kg de PC; **Controle**: sem aplicação injetável.
318 Esses autores observaram que o tratamento MMI-1 reduziu a morbidade quando comparado
319 ao Controle, e ambas as soluções minerais (MMI-1 e MMI-2) refletiram em menor proporção
320 de animais que necessitaram ser tratados com um segundo ou terceiro tipo de antibiótico.
321 Além disso, o custo com antibióticos por novilha foi inferior para os tratamentos MMI-1 e
322 MMI-2 em relação ao controle. Esses resultados demonstram que a melhora no sistema
323 imunológico, causada pela aplicação de MMI, pode refletir em menor incidência de doenças
324 e menor custo com medicamentos no sistema de produção.

325

326 EFEITO NO GANHO DE PESO E CONSUMO

327

328 Com a melhora no sistema imunológico e no controle do estresse oxidativo pela
329 aplicação de MMI, espera-se que ocorra um aumento no ganho de peso dos animais, porém
330 nem sempre isso acontece (Tabela 3). Vários trabalhos testaram a aplicação de MMI e não
331 encontraram alteração no ganho de peso de bovinos (ARTHINGTON et al., 2014 (Exp. 1);
332 TEIXEIRA et al., 2014; ROBERTS et al., 2016; NIEDERMAYER et al., 2017). Segundo ROBERTS
333 et al. (2016), quando a prevalência de doenças na população de bovinos é baixa, a aplicação
334 de MMI não afeta o ganho de peso. Em ambientes com um nível de desafio sanitário alto, a
335 aplicação de MMI apresenta maior possibilidade de aumentar o ganho de peso.

336 A aplicação de MMI em novilhas após o estresse, devido ao transporte, causou redução
337 no ganho de peso (ARTHINGTON et al., 2014; Exp.2; Tabela 3). Esse efeito foi inesperado e os
338 autores concluíram ser devido ao aumento na concentração de ceruloplasmina - proteína da
339 fase aguda Cu-dependente - que pode afetar o metabolismo dos nutrientes e o desempenho
340 animal (JOHNSON, 1997) e se expressa mais em bovinos com maior status de Cu.

341 O status mineral que o animal se encontra no momento da aplicação dos MMI
342 possivelmente afeta a resposta no ganho de peso. Quando os animais passam por um período
343 consumindo uma dieta deficiente em Zn, Mn, Se e Cu e, posteriormente, consomem uma dieta
344 que atenda às exigências nutricionais, associada à aplicação de MMI, tendem a apresentar
345 maior ganho de peso em relação aos que não recebem MMI (GENTHER e HANSEN, 2014).
346 Animais que não apresentam limitação mineral e consomem uma dieta que atenda às

347 exigências, a aplicação de MMI pode não refletir em aumento no desempenho (GENTHER e
348 HANSEN, 2014).

349

350 EFEITO NO DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS

351

352 A quantidade de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de substâncias antioxidantes
353 precisa estar balanceada no corpo dos animais para que as ROS não causem danos às células.
354 As ROS afetam múltiplos processos fisiológicos, desde a maturação do oócito até a fertilização,
355 desenvolvimento embrionário e manutenção da prenhez (AGARWAL et al., 2005). O maior
356 aporte de microminerais é uma forma de aumentar a concentração de enzimas antioxidantes,
357 melhorando as condições uterinas e, conseqüentemente, a fertilidade das vacas
358 (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999). Baseados nessa hipótese, MALDONADO et al. (2017)
359 avaliaram o efeito da aplicação de MMI 25 dias pré-inseminação artificial (IA), sobre o
360 desenvolvimento das estruturas ovarianas de vacas obesas (escore de condição corporal
361 (ECC) de $4,75 \pm 0,55$; escala de 1-5) e não encontraram efeito dos MMI nas variáveis avaliadas
362 (população de folículos, diâmetro do folículo pré-ovulatório, tempo para aparecimento do
363 estro (após a remoção do dispositivo intravaginal de progesterona) e área do corpo lúteo).
364 Esse foi o único trabalho encontrado que avaliou estas variáveis, sendo necessários mais
365 estudos, inclusive avaliando o efeito dos MMI em vacas com baixos ECC. Além disso, o
366 aumento das enzimas antioxidantes com a aplicação de MMI parece ser eficiente em até 10-15
367 dias após a aplicação (POGGE et al., 2012; TOMASI et al., 2018; Tabela 2). Nossa hipótese é
368 que aplicações mais próximas ao período da IA (menos de 15 dias pré-IA) podem resultar em
369 maior efeito no controle do estresse oxidativo e afetar positivamente os parâmetros ovarianos,
370 porém até o momento não encontramos essas informações na literatura.

371 A aplicação de MMI se mostrou eficiente em aumentar a taxa de prenhez de vacas de
372 corte em vários trabalhos (SALES et al., 2011; MUNDELL et al., 2012; STOKES et al., 2017; Exp.
373 2) apesar de alguns não terem encontrado esse efeito (WILLMORE et al., 2015; STOKES et al.,
374 2017 (Exp 1 e 3); Tabela 4). O status de microminerais que os animais se encontravam no
375 momento da aplicação dos MMI pode ter refletido no aumento ou não na taxa de prenhez e,
376 provavelmente, vacas com limitações de microminerais apresentam maiores chances de
377 responder positivamente aos MMI. A maioria dos trabalhos citados na Tabela 4 realizou a
378 aplicação dos MMI com 30 dias ou mais pré-IATF, com exceção de SALES et al. (2011) que
379 realizaram a aplicação do MMI 17 dias anteriores à transferência dos embriões. Para estas

380 variáveis, também é necessário testar a aplicação de MMI em períodos mais próximos à IA,
381 podendo assim resultar em maior status de microminerais para a vaca durante e após a IA.

382

383 CONCLUSÕES

384

385 Os MMI são uma alternativa para aumentar o status de microminerais dos animais em
386 algum período específico de maior exigência, e aumentam a produção de enzimas
387 antioxidantes, podendo melhorar o sistema imunológico e a saúde, e aumentar o ganho de
388 peso e o desempenho reprodutivo de bovinos. Porém, nem sempre a aplicação deste vai
389 resultar em efeitos benéficos, e provavelmente, animais com deficiências/limitações de
390 microminerais respondam mais eficientemente a essa estratégia de suplementação.

391

392 REFERÊNCIAS

393

394 AGARWAL, A.; GUPTA, S.; SHARMA, R.K. Role of oxidative stress in female reproduction.
395 **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.3, p.1-21, 2005. DOI: 10.1186/1477-7827-3-28.

396

397 ARTHINGTON, J.D.; HAVENGA, L.J. Effect of injectable trace minerals on the humoral
398 immune response to multivalent vaccine administration in beef calves. **Journal of Animal**
399 **Science**, v.90, p.1966–1971, 2012. Doi: 10.2527/jas2011-4024

400

401 ARTHINGTON, J.D.; MORIEL, P.; MARTINS, P.G.M.A.; LAMB, G.C.; HAVENGA, L.J. Effects
402 of trace mineral injections on measures of performance and trace mineral status of pre- and
403 postweaned beef calves. **Journal of Animal Science**, v.92, p.2630–2640, 2014. Doi:
404 10.2527/jas2013-7164

405

406 CHARLTON, S.; EWING, W. **The Minerals Directory**. Context Products Ltd., Leicestershire,
407 UK, 2007. 150p.

408

409 COOKE, R.F.; SCHUBACH, K.M.; MARQUES, R.S.; PERES, R.F.G.; SILVA, L.G.T.;
410 CARVALHO, R.S.; CIPRIANO, R.S.; BOHNERT, D.W.; PIRES, A.V.; VASCONCELOS, E
411 J.L.M. Effects of temperament on physiological, productive, e reproductive responses in *Bos*
412 *indicus* beef cows. **Journal of Animal Science**, v.95, p.1–8, 2017. Doi: 10.2527/jas2016.1098.

413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446

GENTHER, O.N.; HANSEN, S.L. Effect of dietary trace mineral supplementation and a multi-element trace mineral injection on shipping response and growth performance of beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.92, p.2522–2530, 2014. Doi: 10.2527/jas2013-7426.

HARVEY, J.M.; SUTHERLE, A.K. Parenteral copper therapy in ruminants. **The Australian Veterinary Journal**, v.29, p.261-268, 1953. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1953.tb05190.x>.

JOHNSON, R.W. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: An integrated view. **Journal of Animal Science**, v.75, p.1244–1255, 1997. <https://doi.org/10.2527/1997.7551244x>.

MALDONADO, J.G.; SANTOS, R.R.; DE LARA, R.R.; PEÑA, O.G. Effect of injectable trace mineral complex supplementation on development of ovarian structures and serum copper and zinc concentrations in over-conditioned Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v.181, p.57-62, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.03.015>

MANZANO, R.P.; PATERSON, J.; HARBAC, M.M.; LIMA FILHO, R.O. The effect of season on supplemental mineral intake and behavior by grazing steers. **The Professional Animal Scientist**, v.28, p.73–81, 2012. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30317-X](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30317-X).

MARKCLUND, S. Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase in human tissues and extracellular fluids. **Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum**, v.492, p.19–23, 1980. PMID: 6939305.

MUNDELL, L.R.; JAEGER, J.R.; WAGGONER, J.W.; STEVENSON, J.S.; GRIEGER, D.M.; PACHECO, L.A.; BOLTE, J.W.; AUBEL, N.A.; ECKERLE, G.J.; MACEK, M.J.; ENSLEY, S.M.; HAVENGA, L.J.; OLSON, K.C. Effects of prepartum and postpartum bolus injections of trace minerals on performance of beef cows and calves grazing native range. **The Professional Animal Scientist**, v.28, p.82–88, 2012. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30318-1](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30318-1)

National Research Council – NRC. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC, 2000. 248p.

- 447 National Research Council – NRC. Mineral Tolerance of Animals. 2nd rev. ed. Natl. Acad.
448 Press, Washington, DC, 2005. 510p.
449
- 450 National Research Council – NRC. Nutrient requirements of beef cattle. 8th rev. ed. Natl.
451 Acad. Press, Washington, DC, 2016. 475p.
452
- 453 NIEDERMAYER, E.K.; GENTHER-SCHROEDER, O.N.; LOY, D. D.; HANSEN, S.L. The
454 effects of injectable trace minerals on growth performance and mineral status of Angus beef
455 steers raised in a natural feedlot program. **The Professional Animal Scientist**, v.33, p.186–
456 193, 2017. <https://doi.org/10.15232/pas.2016-01570>.
457
- 458 POGGE, D.J.; RICHTER, E.L.; DREWNOSKI, M.E.; HANSEN, S.L. Mineral concentrations of
459 plasma and liver after injection with a trace mineral complex differ among Angus and
460 Simmental cattle. **Journal of Animal Science**, v.90, p.2692-2698, 2012. doi:10.2527/jas2012-
461 4482
462
- 463 RICHESON, J.T.; KEGLEY, E.B. Effect of supplemental trace minerals from injection on health
464 and performance of highly stressed, newly received beef heifers. **The Professional Animal
465 Scientist**, v.27, p.461–466, 2011. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30519-2](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30519-2).
466
- 467 ROBERTS, S.L.; MAY, N.D.; BRAUER, C.L.; GENTRY, W.W.; WEISS, C.P.; JENNINGS, J.S.;
468 RICHESON, J.T. Effect of injectable trace mineral administration on health, performance, and
469 vaccine response of newly received feedlot cattle. **The Professional Animal Scientist**, v.32,
470 p.842–848, 2016. <https://doi.org/10.15232/pas.2016-01543>.
471
- 472 ROESER, H.P.; LEE, G.R.; NACHT, S.; CARTWRIGHT, G.E. The role of ceruloplasmin in iron
473 metabolism. **Journal of Clinical Investigation**, v.49, p.2408–2417, 1970. Doi:
474 10.1172/JCI106460.
475
- 476 ROTRUCK, J.T.; POPE, A.L.; GANTHER, H.E.; SWANSON, A.B.; HAFEMAN, D.G.;
477 HOEKSTRA, W. G. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase.
478 **Science**, v.179, p.588–590, 1973. Doi: 10.1126/science.179.4073.588.
479

- 480 SALES, J.N.S.; PEREIRA, R.V.V.; BICALHO, R.C.; BARUSELLI, P.S. Effect of injectable
481 copper, selenium, zinc and manganese on the pregnancy rate of crossbred heifers (*Bos indicus*
482 × *Bos taurus*) synchronized for timed embryo transfer. **Livestock Science**, v.142, p.59-62, 2011.
483 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.06.014>.
- 484
- 485 SPEARS, J.W.; WEISS, W.P. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity
486 of transition dairy cows. **The Veterinary Journal**, v.176, p.70-76, 2008.
487 <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.015>.
- 488
- 489 SORDILLO, L.M.; AITKEN, S.L. Impact of oxidative stress on the health and immune function
490 of dairy cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.128, p.104-109, 2009.
491 <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.10.305>.
- 492
- 493 STOKES, R.S.; RALPH, A.R.; MICKNA, A.J.; CHAPPLE, W.P.; SCHROEDER, A.R.;
494 IRELAND, F.A.; SHIKE, D.W. Effect of an injectable trace mineral at the initiation of a 14 day
495 CIDR protocol on heifer performance and reproduction. **Translational Animal Science**, v.1,
496 p.458-466, 2017. <https://doi.org/10.2527/tas2017.0050>.
- 497
- 498 SUTTLE, N. F. 2010. Mineral Nutrition of Livestock. 4th ed. CABI Publishing, New York, 2010.
499 572p.
- 500
- 501 TEIXEIRA, A.G.V.; LIMA, F.S.; BICALHO, M.L.S.; KUSSLER, A.; LIMA, S.F.; FELIPPE, M.J.;
502 BICALHO, R.C. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper,
503 zinc, and manganese on immunity, health, and growth of dairy calves. **Journal of Dairy**
504 **Science**, v.97, p.4216-4226, 2014. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7625>.
- 505
- 506 TOMASI, T.; VOLPATO, A.; PEREIRA, W.A.B.; DEBASTIANI, L.H.; BOTTARI, N.B.;
507 MORSCH, V.M.; SCHETINGER, M.R.C.; LEAL, M.L.R.; MACHADO, G.; DA SILVA, A.S.
508 Metaphylactic effect of minerals on the immune response, biochemical variables and
509 antioxidant status of newborn calves. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**,
510 p.1-6, 2018. <https://doi.org/10.1111/jpn.12890>.
- 511
- 512 UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. The mineral nutrition of livestock. 3rd rev. ed. CABI
513 Publishing, New York, 1999. 614p.

514 WILLMORE, C.J.; HALL, J.B.; HARRISON, S.; DREWNOSKI, M.E. Effect of a trace mineral
515 injection on pregnancy rate of Angus beef heifers when synchronized using the 14-day
516 controlled internal drug-releasing insert-prostaglandin F₂ α protocol at a commercial feedlot.
517 **The Professional Animal Scientist**, v.31, p.588-592, 2015.
518 <https://doi.org/10.15232/pas.2015-01412>.
519
520

521 **Tabela 1.** Efeito da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) sobre as concentrações séricas ou
 522 plasmáticas e hepáticas de minerais em bovinos

Categoria	Tratamentos¹	Local avaliado	Delineamento² experimental	Momentos em³ que o MMI foi superior ao CON	Fonte
Bezerras Holandesas recém-nascidas (39,7 ± 0,4 kg)	CON (sem injeção) e MMI (1 mL/animal ao nascimento e aos 30 d)	Soro	Alimentação: leite e concentrado. Coletas: 3 (antes da injeção), 14 e 35 d pós nascimento	Zn: 14 d Mn: ND Se: 14 d Cu: ND Fe: ND	Teixeira et al. (2014)
Novilhos Angus e Simental (332 ± 33 kg)	CON e MMI (1 mL/45 kg de PC)	Plasma	Confinados (dieta de acordo com NRC (2000). Coletas: 0, 8 e 10h após a injeção e 1, 8 e 15 d	Zn: 8 e 10 h Mn: 8 e 10 h Se: 8 e 10 h e 1 d Cu: até 15 d (<i>P</i> = 0,12)	Pogge et al. (2012)
Novilhos Angus (359 ± 36,6 kg)	CON e MMI (1 mL/68 kg de PC)	Plasma	Confinados (dieta de acordo com NRC (2000). Coletas: -5 (antes da injeção), 14 e 79 d	Zn, Mn, Se e Cu: ND	Niedermayer et al. (2017)
Novilhos Angus e Simental (332 ± 33 kg)	CON e MMI (1 mL/45 kg de PC)	Fígado	Confinados (dieta de acordo com NRC (2000). Coletas: -3, 1, 8 e 15 d	Zn: até 15 d Mn até 15 d (<i>P</i> = 0,06) Se: até 15 d Cu: até 15 d	Pogge et al. (2012)
Novilhos Angus (359 ± 36,6 kg)	CON e MMI (1 mL/68 kg de PC)	Fígado	Confinados (dieta de acordo com NRC (2000). Coletas: -5 (antes da injeção), 14 e 79 d	Zn: 14 e 79 d Mn: ND Se: 14 d Cu: 14 d	Niedermayer et al. (2017)
Bezerros e bezerras Brangus recém-nascidos (33,1 ± 0,73 kg)	CON e MMI (1 mL ao nascimento, 100 e 200 d)	Fígado	Alimentação: pastagem e suplemento mineral em pó. Coletas: 150, 200 e 250 d	Zn: ND Mn: ND Se: 150 d Cu: 150, 200 e 250 d Fe: menor para o MMI nos 150, 200 e 250 d	Arthington et al. (2014) Exp.1
Novilhas Brangus (240,5 ± 3,6 kg)	CON e MMI (5 mL/animal)	Fígado	Novilhas oriundas do Exp. 1, transportadas por 1600 km e reaplicados os tratamentos. Confinadas com feno e concentrado.	Zn: 13 d Mn: ND Se: 13 d Cu: 13 d Fe: menor 13 d (<i>P</i> =0,10)	Arthington et al. (2014) Exp. 2

Coletas: 1 d (antes da aplicação dos tratamentos) e 13 d					
Novilhas Brangus recém-desmamadas (209 ± 8,0 kg)	CON e MMI (2,5 mL/animal)	Fígado	Alimentação: pastagem e concentrado; Coleta: 177 d	Zn, Mn e Cu: ND Se: 177 d	Arthington et al. (2014) Exp.3

523 ¹CON: controle, injeção de solução salina, MMI, microminerais injetáveis (Composição: 60 mg de
524 Zn/mL, 10 mg de Mn/mL, 5 mg de Se/mL e 15 mg de Cu/mL (Multimin 90, Multimin, Fort Collins,
525 CO, USA)). PC, peso corporal.

526 ²d, dias após a aplicação dos tratamentos.

527 ³São apresentados somente os momentos de coleta que diferiram estatisticamente ($P \leq 0,05$) ou que
528 apresentaram tendência de diferir. Os valores de tendência adotados foram $P > 0,05$ e $\leq 0,10$ ou $P > 0,05$
529 e $\leq 0,15$, sendo mantido o critério adotado pelos trabalhos originais e os P -values para tendência são
530 mostrados na tabela. ND: não diferiu estatisticamente ($P > 0,05$).

531

532

533 **Tabela 2.** Efeito da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) sobre a concentração de enzimas
 534 antioxidantes no plasma

Categoria	Tratamentos¹	Composição do MMI (mg/mL)	Delineamento experimental	Momentos em que² o MMI foi superior ao CON	Fonte
Bezerras Holandesas recém-nascidas (39,7 ± 0,4 kg)	CON (sem injeção) e MMI (1 mL/animal ao nascimento e aos 30 d)	Zn: 60 Mn: 10 Se: 5 Cu: 15	Alimentação: leite e concentrado. Coletas: 3 (antes da injeção), 14 e 35 d pós nascimento	GSH-Px: 14 d SOD: ND	Teixeira et al. (2014)
Bezerras Holandesas recém-nascidas (39,7 ± 0,4 kg)	CON e MMI (2 mL/animal ao nascimento e aos 30 d)	Zn: 50 Cu: 15	Alimentação: leite, concentrado e pasto. Coletas: 10 (após a injeção), 20 e 30 d	SOD: 10 d CAT: 10 d	Tomasi et al. (2018)
Novilhos Angus e Simental (332 ± 33 kg)	CON e MMI (1 mL/45 kg de PC)	Zn: 60 Mn: 10 Se: 5 Cu: 15	Confinados (dieta de acordo com NRC (2000). Coletas: 0, 8 e 10h após a injeção e 1, 8 e 15 d	GSH-Px: até 15 d	Pogge et al. (2012)

535 ¹CON: controle, injeção de solução salina, MMI, microminerais injetáveis (Teixeira et al., 2014 e Pogge
 536 et al., 2012 utilizaram uma solução comercial Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO, USA e Tomasi
 537 et al., 2018 a solução comercial Suplenut, Biogénesis Bagó, Buenos Aires, Argentina). PC, peso corporal.

538 ²d, dias após a aplicação dos tratamentos.

539 ³São apresentados somente os momentos de coleta que diferiram estatisticamente ($P \leq 0,05$). ND: não
 540 diferiu estatisticamente ($P > 0,05$).

541

542

543 **Tabela 3.** Efeito da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) sobre o desempenho de bovinos

Categoria	Tratamentos¹	Delimitação experimental	GMD^{2,3} (kg/dia)	CMS^{2,4} (kg/dia)	EA^{2,5}	Fonte
Bezerras Holandesas recém-nascidas (39,7 ± 0,4 kg)	CON (sem injeção) e MMI (1 mL/animal ao nascimento e aos 30 d)	Alimentação: leite e concentrado	MMI: 0,778 CON: 0,789 <i>P</i> =0,49	-	-	Teixeira et al. (2014)
Novilhos Angus (359 ± 36,6 kg)	CON e MMI (1 mL/68 kg de PC)	Confinados com dieta de acordo com NRC (2000)	MMI: 1,35 CON: 1,33 <i>P</i> =0,65	MMI: 8,60 CON: 8,91 <i>P</i> =0,18	MMI: 0,103 CON: 0,109 <i>P</i> =0,22	Niedermayer et al. (2017)
Bezerros e bezerras Brangus recém-nascidos (33,1 ± 0,73 kg)	CON e MMI (1 mL ao nascimento, 100 e 200 d)	Alimentação: pastagem e suplemento mineral em pó	MMI: 0,79 CON: 0,78 <i>P</i> =0,55	-	-	Arthington et al. (2014) Exp. 1
Novilhas Brangus (240,5 ± 3,6 kg)	CON e MMI (5 mL/animal)	Oriundas do Exp. 1, transportadas por 1600 km e reaplicado os tratamentos. Confinadas com feno e concentrado	MMI: -0,27 ^b CON: 0,140 ^a <i>P</i> =0,05	-	-	Arthington et al. (2014) Exp. 2
Novilhas Brangus recém-desmamadas (209 ± 8,0 kg)	CON e MMI (2,5 mL/animal)	Alimentação: pastagem e concentrado	MMI: 0,310 ^a CON: 0,260 ^b <i>P</i> =0,06	-	-	Arthington et al. (2014) Exp. 3
Novilhos e touros (275 ± 9,54 kg)	CON e MMI (1 mL/45 kg de PC)	Confinados com dieta de acordo com NRC (2000)	MMI: 1,26 CON: 1,36 <i>P</i> =0,21	MMI: 7,02 CON: 6,98 <i>P</i> =0,83	MMI: 0,18 CON: 0,19 <i>P</i> =0,14	Roberts et al. (2016)
Novilhos cruzados Angus (323 ± 14,8 kg)	CON e MMI (1 mL/68 kg de PC)	Inicialmente metade dos animais consumiram dieta para causar deficiência de microminerais (Def) e o restante consumiu dieta de acordo com o NRC (2000; Não-	Def MMI: 1,49 ^a CON: 1,30 ^b Não-Def MMI: 1,33 ^b	Def MMI: 9,85 CON: 9,06 Não-Def MMI: 9,88	Def MMI: 0,150 CON: 0,143 Não-Def MMI:	Genther e Hansen (2014)

Def).				0,133
Posteriormente	CON:	CON:		
aplicação dos	1,28 ^b	9,94	CON:	
tratamentos e	$P=0,08$	$P=0,22$	0,133	
fornecimento			$P=0,49$	
dieta de acordo				
com o NRC (2000)				
para todos os				
animais				

544 ¹CON: controle, injeção de solução salina, MMI, microminerais injetáveis (Composição: 60 mg de
545 Zn/mL, 10 mg de Mn/mL, 5 mg de Se/mL e 15 mg de Cu/mL (Multimin 90, Multimin, Fort Collins,
546 CO, USA)). PC, peso corporal.

547 ²Diferentes letras na mesma coluna de cada trabalho diferem estatisticamente ($P \leq 0,05$) ou apresentam
548 tendência para diferir estatisticamente ($P > 0,05$ e $\leq 0,10$).

549 ³GMD, ganho médio diário, kg/dia;

550 ⁴CMS, consumo de matéria seca, kg/dia;

551 ⁵EA, eficiência alimentar, GMD/CMS.

552

553 **Tabela 4.** Efeito da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) sobre a taxa de prenhez de vacas

Categoria	Tratamentos¹	Delineamento² experimental	Dados reprodutivos³	Fonte
Vacas e novilhas cruzadas (Angus × Hereford; 497 ± 89 kg)	CON e MMI (1 mL/90 kg de PC), aplicado 105 d anterior ao parto e 30 d anterior a IA	IATF e posterior repasse com touros. Dieta: pastagem e suplemento mineral	Taxa de prenhez com IATF (%): MMI: 60,2 ^a ; CON: 51,2 ^b <i>P</i> =0,05 Taxa de prenhez final (%): MMI: 93,0; CON: 89,9 <i>P</i> =0,24	Mundell et al. (2012)
Novilhas cruzadas (<i>Bos indicus</i> × <i>Bos taurus</i> ; 300-320 kg)	CON e MMI (5 mL/animal) 17 d anterior ao recebimento do embrião	Sincronizadas para receber embrião. Dieta: pastagem, cana de açúcar, suplemento mineral e proteico	Taxa de prenhez 23 d após a TE (%): MMI: 48 ^a ; CON: 36 ^b <i>P</i> =0,015. Taxa de prenhez 48 d após a TE (%): MMI: 43 ^a ; CON: 30 ^b <i>P</i> =0,005. Perda de prenhez dos d 23 ao 48 (%): MMI: 10,6; CON: 17,2 <i>P</i> =0,18	Sales et al. (2011)
Novilhas Angus (428 ± 45,2 kg)	CON e MMI (1 mL/68 kg de PC) 33 d anterior a IA	IATF e posterior repasse com touros. Dieta: Confinadas com dieta de acordo com o NRC (2016) até 14 d anterior a IA e posteriormente pastagem e suplemento mineral	Taxa de prenhez com IATF (%): MMI: 65; CON: 61 <i>P</i> ≥ 0,74 Taxa de prenhez final (%): MMI: 89; CON: 87 <i>P</i> ≥ 0,74	Stokes et al. (2017) Exp. 1
Novilhas cruzadas (Angus × Simental; 426 ± 54,0 kg)	CON e MMI (1 mL/68 kg de PC) 33 d anterior a IA	IATF e posterior repasse com touros. Dieta: Confinadas até a IA e posteriormente pastagem e suplemento mineral	Taxa de prenhez com IATF (%): MMI: 62 ^a ; CON: 45 ^b <i>P</i> =0,07 Taxa de prenhez final (%): MMI: 86; CON: 79 <i>P</i> =0,51	Stokes et al. (2017) Exp. 2
Novilhas Angus (345 ± 39,7 kg)	CON e MMI (1 mL/68 kg de PC) 33 d anterior a IA	IATF e posterior repasse com touros. Dieta: Confinadas até a IA e posteriormente pastagem e suplemento mineral	Taxa de prenhez com IATF (%): MMI: 61; CON: 66 <i>P</i> ≥ 0,50 Taxa de prenhez final (%): MMI: 76; CON: 77 <i>P</i> ≥ 0,50	Stokes et al. (2017) Exp. 3
Novilhas Angus (347 ± 3,0 kg)	CON (sem injeção) e MMI (4 mL/animal,	IATF e posterior repasse com touros.	Taxa de prenhez com IATF (%): MMI: 50; CON: 55 <i>P</i> =0,72	Willmore et al. (2015)

	33 d anterior a IA	Dieta: confinadas com feno, silagem de cevada e mineral	Taxa de prenhez final (%): MMI: 85; CON: 87 <i>P=0,53</i>
554	¹ CON: controle, injeção de solução salina, MMI, microminerais injetáveis (Composição: 60 mg de		
555	Zn/mL, 10 mg de Mn/mL, 5 mg de Se/mL e 15 mg de Cu/mL (Multimin 90, Multimin, B Fort Collins,		
556	CO, USA)). PC, peso corporal; d, dias; IA, inseminação artificial.		
557	² IATF, inseminação artificial em tempo fixo.		
558	³ Diferentes letras diferem estatisticamente ($P \leq 0,05$) ou apresentam tendência para diferir		
559	estatisticamente ($P > 0,05$ e $\leq 0,10$).		
560			
561			

562 **CAPÍTULO 2 – MICROMINERAIS INJETÁVEIS PÓS-NATAL SOBRE A**
563 **ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, SISTEMA IMUNOLÓGICO, SAÚDE E**
564 **DESEMPENHO DE CABRITOS BOER NO PERÍODO PRÉ-DESMAME**
565

O artigo a seguir está redigido de acordo com as exigências para publicação no periódico *Small Ruminant Research* excetuando-se o idioma.

566 **Microminerais injetáveis pós-natal sobre a atividade antioxidante, sistema imunológico,**
567 **saúde e desempenho de cabritos Boer no período pré-desmame**

568

569 Marcelo Vedovatto^a, Gumercindo Lorian Franco^{a*}

570

571 ^aFaculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do
572 Sul, Av. Senador Filinto Muller, nº. 2443, Campo Grande/MS, Brazil, 79070-900.

573 *Autor para correspondência: gumercindo.franco@ufms.br

574

575

576 **Resumo**

577 Objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) pós-natal sobre
578 a atividade antioxidante, sistema imunológico, saúde e desempenho de cabritos Boer no
579 período pré-desmame. Utilizaram-se 125 cabritos (62 machos e 63 fêmeas) com peso corporal
580 (PC) inicial de $6,6 \pm 1,82$ kg e 0 até 10 d de idade, os quais permaneceram confinados por 56
581 d em seis baias junto com as cabras. Distribuíram-se os cabritos pelo tipo de parto, sexo e PC
582 em dois tratamentos: Salina, injeção de solução salina (0,1 mL/4,5 kg de PC) e MMI (0,1
583 mL/4,5 kg de PC). Os MMI apresentavam 60 mg de Zn/mL, 10 mg de Mn/mL, 5 mg de Se/mL
584 e 15 mg de Cu/mL. Os animais foram avaliados diariamente quanto à presença de diarreia e
585 pesados nos d 0, 28, e 56. Amostras de sangue da veia jugular foram coletadas nos d 0, 3, 7,
586 14, 28 e 56 para análises hematológicas e concentração das enzimas superóxido dismutase
587 (SOD) e glutathiona peroxidase (GSH-Px). Os animais que receberam MMI tenderam a
588 aumentar ($P \leq 0,10$) a concentração de SOD no d 7, e aumentaram ($P \leq 0,05$) a concentração
589 de GSH-Px nos d 3 e 7 em relação ao grupo Salina. Não houve efeito de tratamento ou
590 tratamento \times dia ($P > 0,05$) nas concentrações plasmáticas de leucócitos, neutrófilos, linfócitos
591 e monócitos. Para a concentrações de eosinófilos houve efeito de tratamento ($P \leq 0,05$), com
592 maior concentração para os animais que receberam MMI em relação a Salina, e não houve
593 efeito de tratamento \times dia ($P > 0,05$). A concentrações de hemácias, hemoglobina, e volume
594 globular, volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média
595 (CHCM) não mostraram efeito de tratamento e tratamento \times dia ($P > 0,05$). Nos animais que
596 receberam MMI a hemoglobina corpuscular média (HCM) diminuiu no d 3 ($P \leq 0,05$) e a de
597 plaquetas aumentou no d 7 ($P \leq 0,05$) em relação aos que receberam Salina. Não houve efeito
598 dos MMI na taxa de mortalidade ($P > 0,05$), porém a taxa de animais com diarreia ($P \leq 0,05$)
599 foi reduzida em relação à Salina e não houve efeito de tratamento ou tratamento \times dia ($P >$
600 $0,05$) para PC e ganho médio diário (GMD). A aplicação de MMI em cabritos recém-nascidos

601 aumenta a concentração de enzimas antioxidantes (SOD e GSH-Px) e plaquetas, e melhora o
602 sistema imunológico (aumento na quantidade de eosinófilos), reduz a HCM e a incidência de
603 diarreia e não afeta a taxa de mortalidade e o desempenho.

604

605 **Palavras-chave:** caprinos; diarreia; GMD; glutathiona peroxidase, hemograma, superóxido
606 dismutase

607

608 **1. Introdução**

609 A deficiência de microminerais em animais normalmente está associada ao aumento
610 dos danos causados pelo estresse oxidativo às células, sistema imunológico deficiente, maior
611 incidência de doenças e menor desempenho produtivo e reprodutivo (NRC, 2005). Há sete
612 micronutrientes que são considerados essenciais para caprinos e que, em condições práticas
613 devem ser adicionados à dieta: Co, Cu, I, Fe, Mn, Se e Zn (NRC, 2007).

614 O NRC (2007) tem definido as exigências de microminerais em g/animal/dia para as
615 diferentes categorias de caprinos e para cabritos em crescimento, as exigências são ajustadas
616 pelo peso corporal (PC) e pelo ganho médio diário (GMD). Segundo o NRC (2005) essas
617 exigências nutricionais são alteradas por diversos fatores, entre eles pela interação entre os
618 minerais e a presença de antagonistas na dieta. Por exemplo, o coeficiente de absorção do Cu
619 é negativamente afetado pela concentração de Mo, S e Fe na dieta, e o coeficiente de absorção
620 do Zn é afetado pela quantidade de fitato, Fe, Ca e Cu na dieta (NRC, 2005). Um método
621 alternativo de fornecer microminerais evitando os problemas causados pela presença de
622 antagonistas ou pela interação dos minerais na dieta é através dos microminerais injetáveis
623 (MMI; Arthington et al., 2014). Além disso, para cabritos recém-nascidos, o consumo de
624 alimento é baixo e altamente variável, e a aplicação de MMI pode ser uma alternativa para
625 fornecer uma quantidade conhecida de microminerais para todos os animais de um mesmo lote.

626 Em bezerros de corte, a aplicação de MMI contendo Zn, Mn, Se e Cu aumentou a
627 concentração destes microminerais no fígado (Arthington et al., 2014), melhorou componentes
628 do sistema imunológico e aumentou a concentração de enzimas relacionadas à atividade
629 antioxidante (Teixeira et al., 2014; Tomasi et al., 2018), e essas alterações refletiram em
630 melhoria na saúde dos animais (Teixeira et al., 2014), o que conseqüentemente pode melhorar
631 o desempenho.

632 Apesar de vários estudos terem testado a aplicação de MMI contendo Zn, Mn, Se e Cu
633 em bovinos, este método de fornecimento de microminerais ainda não foi avaliado em caprinos.
634 Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar se a aplicação de MMI período pós-natal altera a
635 concentração de enzimas com atividade antioxidante (superóxido dismutase (SOD) e glutathione
636 peroxidase (GSH-Px)), sistema imunológico, saúde (taxa de diarreia e mortalidade) e
637 desempenho de cabritos Boer no período pré-desmame.

638

639 **2. Material e Métodos**

640 Este estudo foi conduzido de acordo com os padrões éticos aplicados à pesquisa com
641 animais e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de
642 Mato Grosso do Sul (UFMS) sob o protocolo nº 754/2016.

643

644 *2.1 Animais, tratamentos e colheita de amostras*

645 O experimento teve duração de 56 d e foi realizado na Fazenda Água Boa, localizada
646 em Bandeirantes, MS, Brasil, a 19°53'15,9" latitude sul e 54°24'43,0" longitude oeste. Foram
647 utilizados 125 cabritos com 0 a 10 d de idade (62 machos e 63 fêmeas) da raça Boer. Estes
648 possuíam peso corporal (PC) médio inicial de $6,6 \pm 1,82$ kg e foram identificados com brinco
649 auricular numerado. Antes do início do experimento selecionaram-se 71 cabras, oriundas de
650 uma estação de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e diagnosticadas como prenhas.

651 Estas permaneceram durante os primeiros quatro meses de gestação em pasto de capim-
652 marandú [*Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster, cv. Marandu] e, no último
653 mês de gestação, foram transferidas para o confinamento, sendo alojadas em seis baias (± 12
654 cabras/baia). Cada baia ($\pm 50 \text{ m}^2$) possuía bebedouro com reabastecimento automático,
655 comedouros e estrutura de *creep-feeding* ($\pm 6 \text{ m}^2$; para fornecimento de concentrado somente
656 aos cabritos).

657 No último mês de gestação, as cabras receberam concentrado na proporção de 1,5% do
658 PC, silagem de milho e suplemento mineral *ad libitum* (Tabela 1). A silagem e o concentrado
659 eram misturados e fornecidos em duas refeições diárias (8:00 e 16:00 h). A quantidade de
660 silagem foi ajustada diariamente para proporcionar sobras de 50 g/kg, e a mistura mineral era
661 fornecida em cochos separados e reabastecidos periodicamente. Após o parto, a quantidade de
662 concentrado foi alterada para 1% do PC e o restante do manejo alimentar permaneceu o mesmo.
663 Essas dietas atenderam ou excederam as exigências de proteína bruta (PB) e minerais para
664 cabras com 50 kg (parto duplo) no final da gestação e início da lactação (NRC, 2007). Para os
665 cabritos, o concentrado (Tabela 1) foi fornecido *ad libitum* via *creep-feeding*, também em duas
666 refeições diárias (8:00 e 16:00 h) e a quantidade era ajustada diariamente para proporcionar
667 sobras de 50 g/kg. Este atendeu ou excedeu as exigências de PB e minerais para cabritos da
668 raça Boer, com peso médio de 10 kg e ganho médio diário (GMD) de 0,100 kg/dia (NRC,
669 2007). Além do concentrado, os cabritos também tinham livre acesso à dieta das cabras.

670 Das 71 cabras selecionadas, 6 apresentaram parto triplo, 42 partos duplos e 23 partos
671 simples. Os cabritos com 0-10 dias após o nascimento foram divididos por tipo de parto, sexo
672 e PC em dois tratamentos: **Salina**, injeção de solução salina (0,1 mL/4,5 kg de PC) e **MMI**,
673 microminerais injetáveis (0,1 mL/4,5 kg de PC). Os MMI apresentavam 60 mg de Zn/mL, 10
674 mg de Mn/mL, 5 mg de Se/mL e 15 mg de Cu/mL (Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO,
675 USA). Com aproximadamente 30 d de vida, os cabritos foram vacinados contra clostridioses

676 (Sintoxan 9TH, Merial Saúde Animal, Brasil) e pasteurelose e paratifo (Tifopasteurina,
677 Hertape Calier Saúde Animal, Brasil).

678 Os animais foram pesados no início do experimento (d 0; anterior a aplicação dos
679 tratamentos) 28, e 56 d após. Além disso, diariamente os cabritos eram avaliados quanto à
680 presença de diarreia e, quando necessário, medicados. Também foram feitas colheitas de
681 sangue na veia jugular de 12 animais por tratamento (6 machos e 6 fêmeas/tratamento) nos d
682 0, 3, 7, 14, 28 e 56 em dois tubos de sangue a vácuo (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin
683 Lakes, NJ, USA) contendo heparina sódica (5 mL) ou K₂EDTA (4 mL). Após a colheita, os
684 tubos foram imediatamente armazenados em caixa térmica com gelo e, aqueles contendo
685 heparina sódica, foram centrifugados a 1200 × g por 30 min para obtenção do plasma, que foi
686 armazenado a -20°C para posteriores análises da concentração das enzimas SOD e GSH-Px.
687 Os tubos contendo K₂EDTA foram armazenados em geladeira por uma noite e, no dia seguinte
688 à colheita, realizaram-se as análises hematológicas nas amostras de sangue. Para análise da
689 composição química da silagem, foram coletadas amostras em diferentes locais do silo, secas
690 a 60°C por 5 d, moídas a 1 mm e armazenadas para posterior análise.

691

692 *2.2 Análises laboratoriais*

693 A silagem foi analisada de acordo com o AOAC (2000): matéria seca (MS), método
694 930.15; proteína bruta (PB), método 976.05; extrato etéreo (EE), método 920.39 e matéria
695 mineral (MM), método 942.05. A concentração de fibra em detergente neutro (FDN), obteve-
696 se de acordo com a metodologia de Van Soest et al. (1991) e os carboidratos não fibrosos (CNF)
697 foram calculados de acordo com o NRC (2001): $CNF (\%) = 100 - (\% FDN + \% PB + \% EE +$
698 $\% MM)$. Todas as análises da concentração de minerais foram feitas no Laboratório de Nutrição
699 Animal da Embrapa Pantanal (Corumbá, MS, Brasil) com exceção do Se, que foi analisado no
700 Laboratório de Minerais da Universidade de São Paulo (Pirassununga, SP, Brasil). Os

701 concentrados e a mistura mineral em pó não foram analisados e os valores apresentados são
702 referentes aos níveis de garantia descritos pelos fabricantes.

703 As enzimas GSH-Px e SOD foram determinadas por meio de kits comerciais para
704 ELISA (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA; número dos catálogos 703102 e 706002,
705 respectivamente). Os coeficientes de variação inter e intra-ensaios para SOD foram 5,4 e 8,1%
706 e para GSH-Px foram 5,2 e 9,6% respectivamente. As amostras de sangue total foram enviadas
707 ao Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Campo
708 Grande, MS) para realização do hemograma em equipamento automatizado (pocH-100iV
709 DIFF Sysmex).

710

711 *2.3 Análises estatísticas*

712 Os dados de GSH-Px, SOD, hemograma PC e GMD foram analisados pelo
713 procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA, versão 9,4) com a aproximação
714 Satterthwaite para determinar os graus de liberdade do denominador para efeitos fixos. O
715 modelo estatístico para GMD continha como efeito fixo tratamento e sexo e, como variável
716 aleatória, animal (tratamento \times sexo) e animal (baia). Os modelos estatísticos para GSH-Px,
717 SOD, leucograma, eritograma, plaquetograma, e PC continham como efeito fixo tratamento,
718 dia, sexo e as interações entre tratamento \times dia e, como variável aleatória, animal (tratamento
719 \times sexo) e animal (baia). Estes, foram analisados como medidas repetidas no tempo, sendo o
720 termo específico o dia e o sujeito o animal (tratamento \times sexo). Os resultados do d 0 de todas
721 as variáveis (exceção para GMD) foram incluídos como covariáveis em cada respectiva análise,
722 porém as variáveis GSH-Px, volume globular, volume corpuscular médio (VCM),
723 concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), monócitos e eosinófilos
724 apresentaram $P > 0,10$ para covariável, e assim foram retirados dos modelos. Foi escolhida a
725 estrutura de covariância que melhor se ajustou aos dados de cada variável pelo menor critério

726 de informação de Akaike. As estruturas de covariância utilizadas foram toeplitz [PC, volume
727 globular, VCM, hemoglobina corpuscular média (HCM), monócitos e eosinófilos], não
728 estruturada (CHCM), simétrica composta (SOD e linfócitos) e auto regressiva de ordem 1
729 (GSH-Px, hemácias, hemoglobina, plaquetas, leucócitos totais e neutrófilos). Os dados binários
730 de taxa de mortalidade e diarreia foram analisados pelo procedimento GLIMMIX do SAS (SAS
731 Inst. Inc., Cary, NC, USA, versão 9,4), com a aproximação Satterthwaite para determinar os
732 graus de liberdade do denominador para efeitos fixos. Os modelos estatísticos continham como
733 efeito fixo o tratamento e sexo e, como variável aleatória, animal (tratamento \times sexo) e animal
734 (baia). Para todas as análises a função pdiff foi utilizada quando detectada significância no
735 teste-F e todos os resultados são reportados como LSMEANS seguidos por erro padrão da
736 média (EPM). A significância foi definida quando $P \leq 0,05$, e tendências quando $P > 0,05$ e \leq
737 0,10.

738

739 **3.0 Resultados**

740 Para a enzima SOD houve tendência para efeito de tratamento ($P \leq 0,10$), efeito de dia
741 ($P \leq 0,05$), não houve efeito de sexo ($P > 0,05$) e tendência para interação entre tratamento \times
742 dia ($P \leq 0,10$). Os MMI tenderam a aumentar a concentração de SOD em relação à Salina
743 somente no d 14 (Figura 1). Para a enzima GSH-Px houve efeito de tratamento, dia, e interação
744 tratamento \times dia ($P \leq 0,05$), e não houve para sexo ($P > 0,05$). A aplicação dos MMI aumentou
745 a concentração de GSH-Px em relação à Salina somente nos d 3 e 7 após a aplicação (Figura
746 1).

747 Para os valores absolutos de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos não houve efeito
748 de tratamento, sexo, e interação tratamento \times dia ($P > 0,05$), porém houve efeito de dia ($P \leq$
749 0,05; Tabela 2). Não houve efeito de tratamento, sexo, dia e interação tratamento \times dia ($P >$
750 0,05) para os valores absolutos de monócitos (Tabela 2). Para a quantidade de eosinófilos

751 houve efeito de tratamento ($P \leq 0,05$), com maior concentração para os animais que receberam
752 MMI em relação aos que receberam Salina, e não houve efeito de sexo, dia e interação
753 tratamento \times dia ($P > 0,05$; Tabela 2).

754 Para a quantidade de hemácias e CHCM não houve efeito de tratamento, sexo e
755 interação tratamento \times dia ($P > 0,05$), porém houve efeito de dia ($P \leq 0,05$; Tabela 3). Para a
756 concentração de hemoglobina, volume globular e VCM não houve efeito de tratamento, sexo,
757 dia e interação tratamento \times dia ($P > 0,05$; Tabela 3). Para HCM não houve efeito de tratamento
758 e sexo ($P \leq 0,05$), porém houve efeito de dia e interação entre tratamento \times dia ($P \leq 0,05$) e a
759 aplicação de MMI reduziu a HCM somente no d 3 em relação à Salina (Tabela 3). Para a
760 quantidade de plaquetas não houve efeito de tratamento e sexo ($P \leq 0,05$), porém houve efeito
761 de dia e interação entre tratamento \times dia ($P \leq 0,05$). Para esta variável os animais que receberam
762 MMI foram superiores aos que receberam Salina somente no d 7 (Tabela 3).

763 Para a taxa de mortalidade não houve efeito de tratamento e sexo ($P > 0,05$; Figura 2).
764 Em contrapartida para a taxa de animais que apresentaram diarreia houve tendência ($P \leq 0,10$)
765 para os animais do grupo MMI apresentarem menor percentual que os do grupo Salina, e não
766 houve efeito de sexo ($P > 0,05$; Figura 2). Para o PC não houve efeito de tratamento, sexo, e
767 interação tratamento \times dia ($P > 0,05$), porém houve efeito de dia, com aumento do PC ao
768 decorrer do experimento ($P \leq 0,05$; Tabela 4). Os tratamentos também não afetaram o GMD
769 ($P > 0,05$; Tabela 4).

770

771 **4.0 Discussão**

772 Houve tendência para a aplicação dos MMI aumentar a concentração de SOD no d 14
773 e aumento da concentração de GSH-Px nos d 3 e 7 em relação a aplicação de Salina. Já tem
774 sido reportado que a aplicação de MMI aumenta a concentração de SOD (Tomasi et al., 2018)
775 e de GSH-Px (Teixeira et al., 2014) em bezerros, o que pode ter se repetido com caprinos, no

776 entanto não encontramos outro artigo que avaliou o efeito dessa mistura de microminerais em
777 cabritos. A SOD e a GSH-Px são importantes para a atividade antioxidante das células
778 (Marklund, 1980; Rotruck et al., 1973). O aumento da concentração de SOD com a aplicação
779 de MMI deve ter acontecido pelo maior aporte de Zn, Mn e Cu, os quais são componentes
780 essenciais das enzimas SODs, encontradas na forma de Cu/Zn-SOD e Mn-SOD (Marklund,
781 1980). As SODs são importantes para catalisar a dismutação do ânion superóxido para oxigênio
782 molecular e peróxido de hidrogênio (Sordillo and Aitken, 2009). Além disso, o Se é
783 componente da enzima GSH-Px, que catalisa a redução de hidroperóxidos, como peróxidos de
784 hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos (Rotruck et al., 1973). No nosso estudo, a aplicação de
785 MMI aumentou a atividade antioxidante das células até 14 d após, por meio do aumento da
786 enzima GSH-Px até 7 d, e da SOD 14 d após a aplicação.

787 A aplicação de MMI aumentou em 2,5 vezes a concentração de eosinófilos em relação
788 à de Salina. A maior quantidade de eosinófilos pode ser consequência de um melhor controle
789 dos danos causados pelo estresse oxidativo a esses leucócitos pela maior produção de SOD e
790 GSH-Px. Segundo Spears and Weiss (2008), as células do sistema imune são sensíveis ao
791 estresse oxidativo por possuírem membranas com altas concentrações de ácidos graxos poli-
792 insaturados, que são altamente susceptíveis a peroxidação lipídica. Além disso, apesar da
793 quantidade de neutrófilos no presente estudo não ter sido aumentada pela aplicação de MMI,
794 estes podem ter tido sua função fagocítica aumentada. A aplicação de 1 mL de MMI aos 0 e 30
795 d após o nascimento em bezerras Holandesas aumentou a atividade fagocítica dos neutrófilos
796 (Teixeira et al., 2014).

797 A concentração HCM foi reduzida três dias após a aplicação dos MMI. Avaliando
798 níveis de inclusão de Cu na dieta de cabritos, o fornecimento de uma dose alta de Cu (100
799 mg/dia) em relação ao não fornecimento (0 mg/dia) também reduziu a HCM (Solaiman et al.,
800 2007). Em outro experimento, Arthington et al. (2014) observaram que a aplicação de MMI

801 em bezerras e novilhas reduziu o estoque de Fe no fígado e aumentou a concentração de
802 ceruloplasmina. Segundo Roeser et al. (1970), a ceruloplasmina é a proteína primária de
803 transporte de Cu no sangue e é um importante mediador para mobilização do Fe no corpo.
804 Logo, é possível que o Cu presente no MMI tenha afetado negativamente o estoque de Fe, e
805 esse afetou a HCM. Apesar da aplicação de MMI ter diminuído a HCM, esta se encontrava
806 (7,64 pg) dentro do intervalo de referência aceito para caprinos, que é de 5,2 a 8,0 pg (Jackson
807 and Cockcroft, 2002).

808 A aplicação do MMI aumentou a quantidade de plaquetas somente no d 7 em relação à
809 de Salina, coincidindo com o pico de produção de GSH-Px no plasma. Esses resultados podem
810 indicar que as plaquetas também são altamente susceptíveis ao estresse oxidativo, ou tem sua
811 produção na medula óssea afetada por este.

812 A aplicação de MMI apresentou tendência em reduzir a proporção de animais com
813 diarreia em relação à de Salina. De forma similar, a aplicação de MMI em bezerras aos 0 e 30
814 dias de vida reduziu a incidência de diarreia (49,7 e 41,7% para os tratamentos MMI e Salina
815 respectivamente) e de pneumonia, otite ou ambos (49,1 e 41,6% para os tratamentos MMI e
816 Salina respectivamente; Teixeira et al., 2014). No presente trabalho os MMI aumentaram a
817 concentração das enzimas GSH-Px e SOD e, essas, possivelmente reduziram os danos causados
818 pelo estresse oxidativo às células imunes, e isso aumentou a resistência contra patógenos,
819 reduzindo a incidência de diarreia. O aumento da quantidade de eosinófilos pode ter aumentado
820 a resistência ou o controle mais efetivo de endoparasitas (Gleich and Adolphson, 1986), como
821 os do gênero *Eimeria* sp., que são conhecidos por causar diarreia (Chartier and Paraud, 2012).
822 Além disso, os MMI podem ter aumentado a produção de anticorpos contra as vacinas
823 aplicadas nos cabritos, como verificado em bovinos por Roberts et al. (2016), em que a
824 aplicação de MMI aumentou a produção de anticorpos contra herpesvírus bovino tipo 1. Se, no
825 presente experimento a aplicação de MMI aumentou a produção de anticorpos contra

826 clostridioses (vacina aplicada no d 30), isso também pode ter contribuído para redução da
827 incidência de diarreia nestes animais.

828 A melhora no sistema imunológico, o aumento na atividade antioxidante e a redução na
829 incidência de diarreia não refletiram em aumento no PC ou GMD ($P > 0,05$) com a aplicação
830 de MMI. É possível que o período de experimento (56 dias) não tenha sido suficiente para
831 observar diferenças no desempenho e, assim, experimentos futuros devem avaliar o efeito da
832 aplicação de MMI sobre desempenho de cabritos por um período maior, envolvendo a fase pós-
833 desmame.

834

835 **5.0 Conclusão**

836 A aplicação de MMI (0,1 mL/4,5 kg de PC) em cabritos recém-nascidos aumentou
837 concentração de enzimas antioxidantes e o número de plaquetas, melhorou o sistema
838 imunológico (aumentou a quantidade de eosinófilos), reduziu a HCM e a incidência de diarreia
839 e não afetou a taxa de mortalidade e o desempenho. Assim essa pode ser uma estratégia para
840 melhorar a saúde dos cabritos lactentes, e reduzir a utilização de medicamentos, podendo
841 refletir em menor resistência dos patógenos aos mais diversos princípios ativos utilizados, e
842 também em menor custo de produção.

843

844 **Conflito de interesse**

845 Os autores declaram não haver conflito de interesse.

846

847 **Agradecimentos**

848 Nós gostaríamos de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
849 Superior (CAPES) pela bolsa de estudos fornecida ao primeiro autor, à Fundação de Apoio ao
850 Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul

851 (FUNDECT; 116/2016) por patrocinar o estudo, à empresa Multimin (Fort Collins, CO, USA)
852 pela doação do suplemento mineral injetável e à empresa Apris Cabrito pela possibilidade de
853 execução do experimento na Fazenda Água Boa (Bandeirantes, MS, Brasil).

854

855 **Referências**

856 AOAC, 2000. Official methods of analysis, 17th ed. Association of Official Analytical
857 Chemists, Gaithersburg, MD.

858

859 Arthington, J.D., Moriel, P., Martins, P.G.M.A., Lamb, G.C., Havenga, L.J., 2014. Effects of
860 trace mineral injections on measures of performance and trace mineral status of pre- and
861 postweaned beef calves. *J. Anim. Sci.* 92, 2630–2640.

862

863 Chartier, C., Paraud, C., 2012. Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. *Small*
864 *Rumin. Res.* 103, 84–92.

865

866 Gleich, G.J., Adolphson, C.R., 1986. The eosinophilic leukocyte: structure and function. *Adv.*
867 *Immunol.* 39, 177–253

868

869 Jackson, P., Cockcroft, P., 2002. Clinical examination of farms animals. Blackwell Science
870 Ltd, Malden, USA.

871

872 Markclund, S., 1980. Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase
873 in human tissues and extracelular fluids. *Acta. Physiol. Scand. Suppl.* 492, 19–23.

874

875 National Research Council – NRC, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed.
876 Washington, DC: National Academy Press.

877

878 National Research Council – NRC, 2005. Mineral Tolerance of Animals. 2nd rev. ed.
879 Washington, DC: National Academy Press.

880

881 National Research Council – NRC, 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminant: Sheep,
882 Goats, Cervides and New World Camelids. Washington, DC: National Academy Press.

883

884 Roberts, S.L., May, N.D., Brauer, C.L., Gentry, W.W., Weiss, C.P., Jennings, J.S., Richeson,
885 J.T., 2016. Effect of injectable trace mineral administration on health, performance, and
886 vaccine response of newly received feedlot cattle. Prof. Anim. Sci. 32, 842–848.

887

888 Roeser, H.P., Lee, G.R., Nacht, S., Cartwright, G.E., 1970. The role of ceruloplasmin in iron
889 metabolism. J. Clin. Invest. 49, 2408–2417.

890

891 Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D.G., Hoekstra, W. G.,
892 1973. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science. 179,
893 588–590.

894

895 Solaiman, S.G., Craig Jr, T.J., Reddy, G., Shoemaker, C.E., 2007. Effect of high levels of Cu
896 supplement on growth performance, rumen fermentation, and immune responses in goat kids.
897 Small Rumin. Res. 69, 115–123.

898

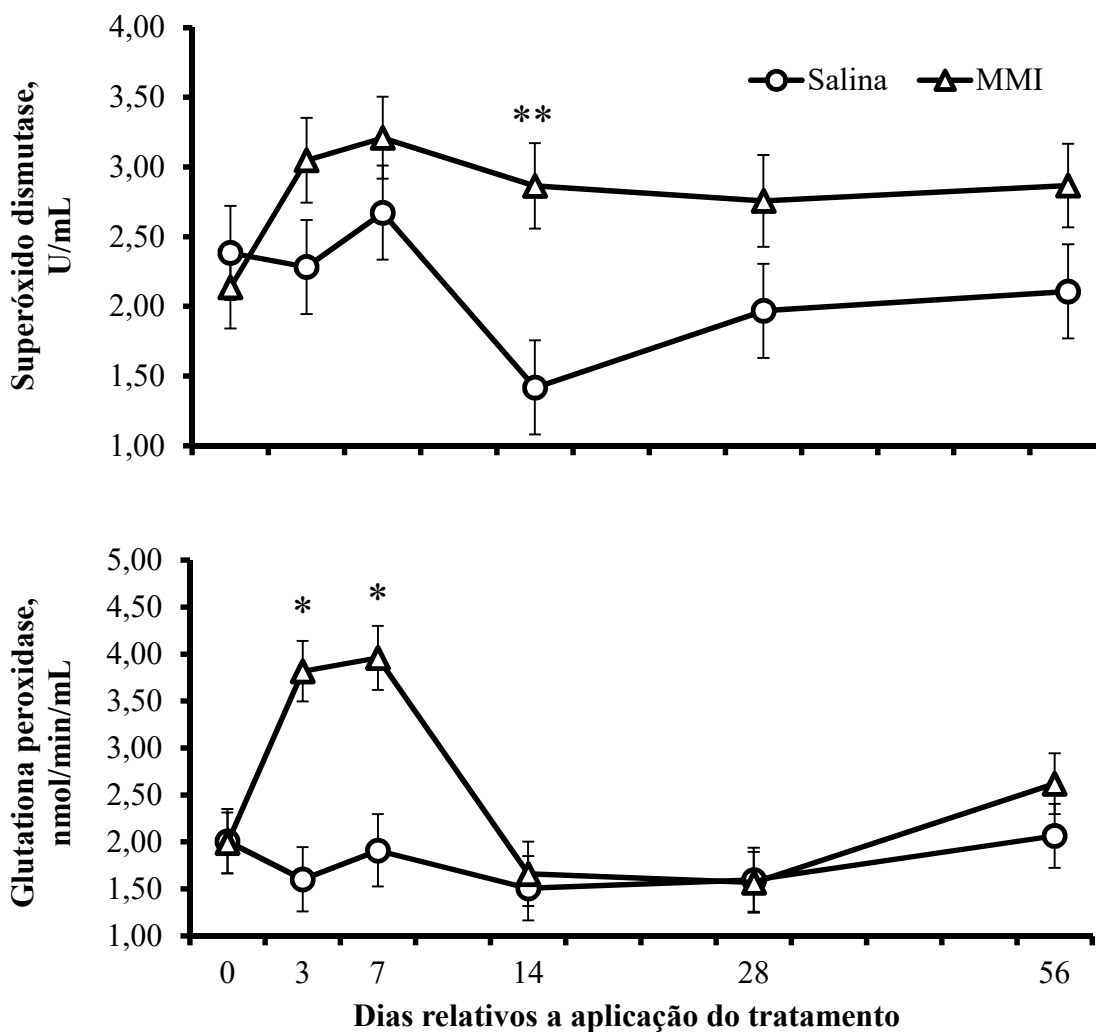
- 899 Sordillo, L.M., Aitken, S.L., 2009. Impact of oxidative stress on the health and immune
900 function of dairy cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 128, 104–109
901
- 902 Spears, J.W., Weiss, W.P., 2008. Role of antioxidants and trace elements in health and
903 immunity of transition dairy cows. *Vet. J.* 176, 70–76.
904
- 905 Teixeira, A.G.V., Lima, F.S., Bicalho, M.L.S., Kussler, A., Lima, S.F., Felipe, M.J., Bicalho,
906 R.C., 2014. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc,
907 and manganese on immunity, health, and growth of dairy calves. *J. Dairy. Sci.* 97, 4216–4226.
908
- 909 Tomasi, T., Volpato, A., Pereira, W.A.B., Debastiani, L.H., Bottari, N.B., Morsch, V.M.,
910 Schetinger, M.R.C., Leal, M.L.R., Machado, G., Da Silva, A.S. 2018. Metaphylactic effect of
911 minerals on the immune response, biochemical variables and antioxidant status of newborn
912 calves. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 1-6.
913
- 914 Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Symposium: carbohydrate methodology,
915 metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *J. Dairy. Sci.* 74, 3583–3597.
916

917 **Tabela 1.** Composição química dos alimentos fornecidos para as cabras e cabritos

Item	Silagem ¹	Concentrado ^{2 3} Cabras	Concentrado ^{2 4} Cabritos	Suplemento ^{2 5} mineral
<i>g/kg de MS</i>				
PB	63,00	160,00	215,00	-
FDN	467,20	-	-	-
EE	24,30	30,00	30,00	-
MM	52,20	-	-	-
CNF	393,30	-	-	-
Ca	0,03	12,00	10,00	160,00
P	0,79	4,80	4,00	47,33
Na	1,07	2,10	1,50	133,33
K	6,00	6,50	5,50	18,80
Mg	0,95	2,00	2,00	13,33
S	NA	2,10	2,80	13,33
<i>mg/kg de MS</i>				
I	NA	0,78	0,51	26,67
Co	NA	0,64	0,50	20,00
Fe	0,49	51,97	85,00	166,67
Zn	traços	56,20	35,00	1133,00
Mn	7,83	35,00	35,00	900,00
Se	0,07	0,42	1,20	10,00
Cu	traços	14,00	25,00	266,67

918 ¹Composição química analisada.919 ²Níveis de garantia descritos pelos fabricantes.920 ³Caprinos Manutenção Caprivaes, Só Sal Nutrição e Saúde Animal, Campo Grande, MS,
921 Brasil.922 ⁴Caprinos Creep Caprivaes, Só Sal Nutrição e Saúde Animal, Campo Grande, MS, Brasil.923 ⁵Caprinofós, DSM Produtos Nutricionais, Brasil. Esse produto foi misturado com NaCl na
924 proporção de 2:1 como recomenda o fabricante e os valores apresentados foram ajustados para
925 essa mistura final.

926 NA: não analisado.



927

928

929 **Figura 1.** Efeito da aplicação de microminerais injetáveis sobre a concentração das enzimas
 930 superóxido dismutase (U/mL) e glutathiona peroxidase (nmol/min/mL) em cabritos. Os
 931 símbolos * representam diferença significativa ($P \leq 0,05$) e ** tendência ($P \leq 0,10$) para os
 932 tratamentos nos respectivos dias. Barras verticais representam o erro padrão da média.
 933 Tratamentos: Salina, injeção de solução salina (0,1 mL/4,5kg de PC), MMI, microminerais
 934 injetáveis (0,1 mL/4,5kg de PC; Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO, USA). Para a enzima
 935 superóxido dismutase houve tendência para tratamento ($P = 0,0614$) e tratamento \times dia ($P =$
 936 $0,0508$), houve efeito para dia ($P = 0,0297$) e não houve para sexo ($P = 0,5002$). Para a enzima
 937 glutathiona peroxidase houve efeito para tratamento ($P = 0,0001$), dia ($P = 0,0002$) e tratamento
 938 \times dia ($P = 0,0009$), e não houve para sexo ($P = 0,1508$).

939

940 **Tabela 2.** Efeito dos microminerais injetáveis sobre o leucograma de cabritos

Itens	Tratamentos ¹		Média ² dia	EPM ³	<i>P</i> -value ⁴		
	Salina	MMI			Trat	Dia	Trat × dia
Leucócitos, ×10 ³ cells/μL					0,89	0,0038	0,7033
d 0	13,75	14,71	14,23 ^{CD}	1,11			
d 3	14,30	13,68	13,99 ^D	1,11			
d 7	16,09	15,04	15,57 ^{BC}	1,11			
d 14	16,79	17,27	17,03 ^{AB}	1,11			
d 28	19,03	17,72	18,37 ^A	1,11			
d 56	15,15	17,97	17,56 ^A	1,17			
Neutrófilos, ×10 ³ cells/μL					0,9611	0,0044	0,8833
d 0	6,34	7,40	6,87 ^B	1,09			
d 3	7,44	7,05	7,24 ^B	1,09			
d 7	8,10	7,47	7,79 ^B	1,09			
d 14	7,63	8,43	8,03 ^B	1,09			
d 28	7,69	7,34	7,51 ^B	1,09			
d 56	11,23	10,45	10,84 ^A	1,14			
Linfócitos, ×10 ³ cells/μL					0,7981	≤0,0001	0,3322
d 0	7,11	6,98	7,04 ^{BC}	0,67			
d 3	6,70	6,47	6,58 ^C	0,67			
d 7	7,77	7,55	7,66 ^B	0,67			
d 14	7,75	8,21	7,98 ^B	0,67			
d 28	10,78	9,83	10,30 ^A	0,67			
d 56	5,30	7,18	6,24 ^C	0,70			
Monócitos, ×10 ³ cells/μL	0,28	0,22	-	0,20	0,8383	0,2399	0,5512
Eosinófilos, ×10 ³ cells/μL	0,10 ^b	0,25 ^a		0,05	0,0478	0,3155	0,6393

941 ¹Tratamentos: Salina, injeção de solução salina (0,1 mL/4,5 kg de PC), MMI, microminerais
 942 injetáveis (0,1 mL/4,5kg de PC; Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO, USA).

943 ²São apresentadas médias por dia quando o *P*-value para Dia é ≤ 0,10 e Trat × dia > 0,10.

944 ³Erro padrão da média.

945 ⁴Trat, efeito de tratamento; Dia, efeito de dia; Trat × dia, interação entre tratamento e dia. *P*-

946 value para sexo: leucócitos (*P* = 0,7046), neutrófilos (*P* = 0,8375), linfócitos (*P* = 0,6199),

947 monócitos (*P* = 0,3085).

948

949 **Tabela 3.** Efeito dos microminerais injetáveis sobre o eritrograma e a concentração de
 950 plaquetas sanguíneas de cabritos

Itens ⁵	Tratamentos ¹		Médias ² dia	EPM ³	P-value ⁴		
	Salina	MMI			Trat	Dia	Trat × dia
Hemácias, ×10 ⁶ cells/μL					0,2038	≤0,0001	0,1453
d 0	13,25	13,37	13,31 ^D	0,57			
d 3	13,46	14,32	13,88 ^D	0,57			
d 7	15,04	14,80	14,92 ^C	0,57			
d 14	15,13	16,33	15,73 ^B	0,57			
d 28	15,28	16,18	15,73 ^B	0,57			
d 56	16,25	18,03	17,14 ^A	0,59			
Hemoglobina, g/dL	10,47	10,76	-	0,26	0,4464	0,3298	0,2834
Volume globular (%)	30,77	34,74	-	2,90	0,3630	0,2392	0,5157
VCM, fL	19,99	21,15	-	1,23	0,5266	0,5546	0,2671
HCM, pg					0,2140	≤0,0001	0,0163
d 0	8,29 ^A	8,25 ^A	-	0,12			
d 3	8,08 ^{Ba}	7,64 ^{Bb}	-	0,12			
d 7	7,27 ^C	7,13 ^C	-	0,12			
d 14	6,93 ^D	6,71 ^D	-	0,12			
d 28	6,59 ^E	6,49 ^E	-	0,12			
d 56	6,04 ^F	6,07 ^F	-	0,12			
CHCM, pg					0,2154	≤0,0001	0,1345
d 0	37,04	37,13	37,09 ^A	0,61			
d 3	36,90	35,44	36,17 ^B	0,71			
d 7	35,56	34,67	35,12 ^C	0,66			
d 14	35,34	34,02	34,68 ^D	0,74			
d 28	36,20	35,00	35,60 ^{BC}	0,65			
d 56	35,03	33,81	34,42 ^D	0,52			
Plaquetas, ×10 ³ cells/μL					0,7122	≤0,0001	0,0081
d 0	129,10 ^{BC}	100,47 ^{BC}	-	13,52			
d 3	161,19 ^A	125,17 ^{AB}	-	14,26			
d 7	97,60 ^{DEb}	144,60 ^{Aa}	-	13,52			
d 14	154,79 ^{AB}	142,28 ^A	-	14,32			
d 28	89,22 ^E	80,38 ^C	-	13,52			
d 56	119,43 ^{CD}	132,95 ^A	-	14,21			

951 ¹Tratamentos: Salina, injeção de solução salina (0,1 mL/4,5 kg de PC), MMI, microminerais
 952 injetáveis (0,1 mL/4,5kg de PC; Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO, USA).

953 ²São apresentadas médias por dia quando o P-value para Dia é ≤ 0,10 e Trat × dia > 0,10.

954 ³Erro padrão da média.

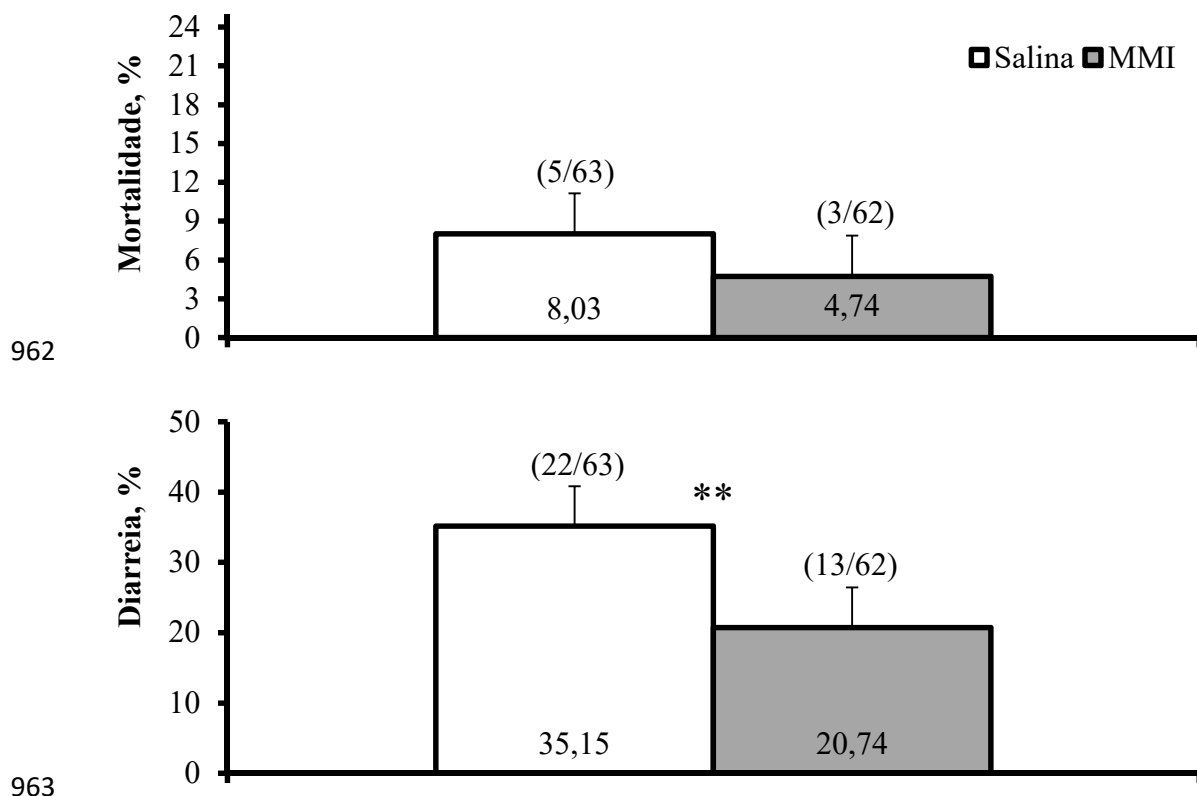
955 ⁴Trat, efeito de tratamento; Dia, efeito de dia; Trat × dia, interação entre tratamento e dia.

956 ⁵VCM, volume corpuscular médio, HCM, hemoglobina corpuscular média, CHCM,
957 concentração de hemoglobina corpuscular média.

958 *P*-value para sexo: hemácias ($P = 0,6334$), hemoglobina ($P = 0,6624$), volume globular ($P =$
959 $0,1044$), VCM ($P = 0,4248$), HCM ($P = 0,8072$), CHCM ($P = 0,2579$) e plaquetas ($P = 0,3784$).

960

961



962

963

964 **Figura 2.** Efeito da aplicação de microminerais injetáveis sobre a taxa de mortalidade e de

965 diarreia em cabritos. Os símbolos ** representam tendência ($P \leq 0,10$) para os tratamentos.

966 Barras verticais representam o erro padrão da média. Valores entre parênteses representam o

967 número de animais mortos ou que apresentaram diarreia pelo número total de animais por

968 tratamento. Tratamentos: Salina, injeção de solução salina (0,1 mL/4,5 kg de PC), MMI,

969 microminerais injetáveis (0,1 mL/4,5 kg de PC; Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO,

970 USA). Para a taxa de mortalidade não houve efeito de tratamento ($P = 0,4619$) e sexo ($P =$

971 $0,4619$). Para a taxa de diarreia houve tendência para tratamento ($P = 0,0756$), e não houve

972 efeito para sexo ($P = 0,3012$).

973

974 **Tabela 4.** Efeito dos microminerais injetáveis sobre o peso corporal (PC) e ganho médio diário
 975 (GMD) de cabritos

Itens	Tratamentos ¹		Médias ² dia	EPM ³	P-value ⁴		
	Salina	MMI			Trat	Dia	Trat × dia
PC, kg					0,7197	< 0,0001	0,9219
d 0	6,61	6,62	6,61 ^C	0,24			
d 28	9,11	9,21	9,16 ^B	0,24			
d 56	12,15	12,34	12,24 ^A	0,24			
GMD, kg/d							
d 0 ao d 28	0,089	0,093	-	0,01	0,7185		
d 28 ao d 56	0,130	0,130	-	0,01	0,9791		
d 0 ao d 56	0,098	0,102	-	0,01	0,6667		

976 ¹Tratamentos: Salina, injeção de solução salina (0,1 mL/4,5 kg de PC), MMI, microminerais
 977 injetáveis (0,1 mL/4,5kg de PC; Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO, USA).

978 ²São apresentadas médias por dia quando o P-value para Dia é $\leq 0,10$ e Trat × dia $> 0,10$.

979 ³Erro padrão da média.

980 ⁴Trat, efeito de tratamento; Dia, efeito de dia; Trat × dia, interação entre tratamento e dia. P-
 981 value para sexo: PC (P = 0,5259) e GMD d 0 ao d 28 (P = 0,4093), GMD d 28 ao d 56 (P =
 982 0,8219) e GMD d 0 ao d 56 (P = 0,2269).

983

984 **CAPÍTULO 3 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS NO DESMAME SOBRE O**
985 **DESEMPENHO, CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E SISTEMA**
986 **IMUNOLÓGICO DE BEZERROS NELORE**
987
988

O artigo a seguir está redigido de acordo com as exigências para publicação no periódico *Livestock Science* excetuando-se o idioma.

989 **Microminerais injetáveis no desmame sobre o desempenho, concentração de enzimas**
990 **antioxidantes e sistema imunológico de bezerros Nelore**

991

992 Marcelo Vedovatto^a, Gumercindo Lorian Franco^{a*}

993

994 ^aFaculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do
995 Sul, Av. Senador Filinto Muller, nº. 2443, Campo Grande/MS, Brazil, 79070-900.

996 *Autor para correspondência: gumercindo.franco@ufms.br

997

998 **Resumo**

999 Objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) no momento do
1000 desmame sobre a concentração de enzimas antioxidantes, sistema imunológico e desempenho
1001 de bezerros Nelore no período pós-desmame. Foram utilizados 159 bezerros recém-
1002 desmamados (8 ± 1 mês de idade), com peso corporal (PC) médio de $213 \pm 31,7$ kg. Estes
1003 foram divididos pelo PC em dois tratamentos: **Salina**, injeção de solução salina (1 mL/45 kg
1004 de PC) e **MMI**, microminerais injetáveis (1 mL/45 kg de PC) contendo Zn, Mn, Se e Cu na
1005 composição. Os MMI apresentavam 60 mg de Zn/mL, 10 mg de Mn/mL, 5 mg de Se/mL e 15
1006 mg de Cu/mL. Os animais foram mantidos em pastagem de capim-xaraés e pesados no início
1007 do experimento (d 0), 22, 64 e 115 dias após. Também foram feitas colheitas de sangue nos d
1008 0, 7, 22 e 64 para hemograma, e determinação da concentração da superóxido dismutase (SOD)
1009 e glutathiona peroxidase (GSH-Px). A aplicação de MMI aumentou ($P \leq 0,05$) a concentração
1010 de SOD somente no d 7 e a concentração de GSH-Px ($P \leq 0,05$) no d 7 e d 21. A aplicação dos
1011 MMI aumentou ($P \leq 0,05$) a quantidade de leucócitos somente no d 64 e não houve efeito de
1012 tratamento ou tratamento \times dia ($P > 0,05$) para neutrófilos e mastócitos. Houve tendência ($P <$
1013 $0,10$) para os MMI aumentarem a quantidade de linfócitos no d 64 e não houve efeito de
1014 tratamento e tratamento \times dia ($P > 0,05$) para monócitos. Houve tendência ($P < 0,10$) para os
1015 MMI aumentarem a quantidade de eosinófilos no d 21 e não houve efeito de tratamento ou
1016 tratamento \times dia ($P > 0,05$) para hemácias, hemoglobina, volume globular, volume corpuscular
1017 médio (VCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM). Os MMI reduziram ($P \leq 0,05$) a
1018 concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e houve tendência ($P < 0,10$) para
1019 reduzirem quantidade de plaquetas no d 21. Não houve efeito de tratamento ou tratamento \times
1020 dia ($P > 0,05$) para PC, e de tratamento ($P > 0,05$) para ganho médio diário (GMD). Assim, a
1021 aplicação de MMI em bezerros no momento do desmame aumenta a concentração de enzimas

1022 antioxidantes, plaquetas sanguíneas, e melhora o sistema imunológico, reduz a CHCM e não
1023 afeta o PC ou o GMD.

1024

1025 **Palavras-chave:** bovinos; ganho de peso; glutathione peroxidase, hemograma, superóxido
1026 dismutase

1027

1028 **1. Introdução**

1029 Os microminerais são importantes em vários processos biológicos relacionados ao
1030 crescimento, função antioxidante das células e sistema imunológico (Underwood and Suttle,
1031 1999). Bovinos criados a pasto normalmente, não têm suas exigências de microminerais
1032 atendidas pelas forrageiras, e faz-se necessário realizar suplementação. Essa pode ser feita por
1033 vários métodos, como: mistura mineral em pó, fontes de minerais adicionadas a blocos
1034 nutricionais ou suplementos proteico/energético (Arthington et al., 2014), bolus intraruminais
1035 contendo microminerais de liberação lenta (Underwood and Suttle, 1999) e MMI (Arthington
1036 et al., 2014).

1037 O principal método de suplementação mineral para bovinos mantidos em pastagem é
1038 através de mistura mineral em pó. Porém, a quantidade consumida desta mistura é altamente
1039 variável entre os animais de um mesmo rebanho e estação do ano (Manzano et al., 2012), e o
1040 status de microminerais dos animais de um mesmo lote provavelmente não seja o mesmo. Os
1041 MMI complementam os métodos tradicionais de suplementação, pois eliminam a variabilidade
1042 individual de consumo por meio da aplicação de uma quantidade conhecida em todos os
1043 animais do mesmo rebanho.

1044 Os MMI são provavelmente mais eficientes se forem aplicados em algum momento do
1045 ciclo de produção de maior exigência, de maior necessidade de controle do estresse oxidativo
1046 ou de aumento do status imunológico. O desmame é um evento estressante na vida do bezerro,

1047 com alterações no comportamento, mediadores hormonais do estresse, e função imune pós
1048 desmame (Lynch et al., 2012). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar se a aplicação de
1049 MMI no momento do desmame pode afetar a produção de enzimas antioxidantes, sistema
1050 imunológico e desempenho pós-desmame de bezerros Nelore em gramíneas tropicais de baixa
1051 qualidade.

1052

1053 **2. Material e Métodos**

1054 Este estudo foi conduzido de acordo com os padrões éticos aplicados à pesquisa com
1055 animais e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de
1056 Mato Grosso do Sul (UFMS) sob o protocolo nº 754/2016.

1057 *2.1 Animais, tratamentos e coletas de amostras*

1058 O experimento foi realizado de 29 de maio a 21 de setembro de 2016, na Fazenda Bela
1059 Vista, localizada em Camapuã, MS, Brasil, a 19°0'41,15'' latitude sul e 53°45'13,28'' longitude
1060 oeste. Foram utilizados 159 bezerros da raça Nelore com 8 ± 1 mês de idade. Estes possuíam
1061 PC médio inicial de $213 \pm 31,7$ kg e foram identificados numericamente por meio de ferro
1062 incandescente na perna e receberam ivermectina 1% (Ivomec, Merial, Brasil) no momento do
1063 desmame (d 0). No mesmo dia, os animais foram divididos pelo PC em dois tratamentos:
1064 injeção de solução salina (**Salina**; 0.9% NaCl; 1 mL/45 kg de PC) e microminerais injetáveis
1065 (**MMI**; 1 mL/45kg de PC). A solução mineral injetável apresentava 60 mg de Zn/mL, 10 mg
1066 de Mn/mL, 5 mg de Se/mL e 15 mg de Cu/mL (Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO,
1067 USA).

1068 Imediatamente após a aplicação dos tratamentos (d 0), os animais foram deslocados
1069 para uma pastagem de aproximadamente 20 ha (pastagem A), onde permaneceram por 22 dias
1070 (d 22). Após este período foram deslocados para outra pastagem de aproximadamente 40 ha
1071 (pastagem B), onde ficaram até o final do experimento. Ambas as áreas eram formadas com

1072 capim-xaraés (*Urochloa brizantha* cv Xaraés) e tinham cochos para suplementação mineral e
1073 bebedouros com reabastecimento automático. O suplemento mineral foi fornecido com
1074 expectativa de consumo de 60 g/animal/dia e apresentava a seguinte composição (Fosbovi 15,
1075 DSM Produtos Nutricionais, Brasil) em g/kg ou mg/kg: Ca, 88 g, P, 65 g, Na, 145 g, S, 4690
1076 mg, Co, 44,50 mg, Fe, 1500 mg, I, 60 mg, F, 650 mg, Zn, 2880 mg, Mn, 1050 mg, Se, 10 mg
1077 e Cu, 1200 mg. A qualidade da forrageira nas pastagens foi avaliada por meio de colheitas
1078 manuais, simulando o pastejo, e realizada em quatro momentos (d 0, 21, 64 e 115), e na
1079 sequência foram secas em estufa de ventilação forçada a 60°C por 5 d, moídas a 1 mm e,
1080 posteriormente, analisada a composição química.

1081 Os animais foram pesados no período da manhã (8:00 h) nos d 0, 21, 64 e 115. Estes
1082 não passaram por jejum alimentar ou hídrico para não causar estresse, pois este afetaria os
1083 parâmetros sanguíneos avaliados no estudo. Foram feitas colheitas de sangue na veia jugular
1084 (10 animais/tratamento) nos d 0, 7, 21 e 64 em dois tubos a vácuo (Vacutainer, Becton
1085 Dickinson, Franklin Lakes, NJ) contendo heparina sódica (10 mL) ou K₂EDTA (4 mL). Após
1086 a colheita, os tubos foram imediatamente armazenados em caixa térmica com gelo e, aqueles
1087 contendo heparina sódica, foram centrifugados a 1200 × g por 30 min para obtenção do plasma.
1088 No mesmo dia da colheita o plasma foi armazenado a -20°C para posteriores análises da
1089 concentração das enzimas SOD e GSH-Px. Os tubos contendo K₂EDTA foram armazenados
1090 em geladeira por uma noite e, no dia seguinte à colheita foram realizadas as análises
1091 hematológicas nas amostras de sangue.

1092

1093 2.2 Análises laboratoriais

1094 A forrageira foi analisada de acordo com AOAC (2000): matéria seca (MS), método
1095 930.15; proteína bruta (PB), método 976.05; extrato etéreo (EE), método 920.39 e matéria
1096 mineral (MM), método 942.05. A concentração de fibra em detergente neutro (FDN) e ácido

1097 (FDA) foi feita de acordo com a metodologia de Van Soest et al. (1991), e os carboidratos não
1098 fibrosos (CNF) foram calculados de acordo com o NRC (2001): $CNF (\%) = 100 - (\% FDN +$
1099 $\% PB + \% EE + \% MM)$. Todas as análises da concentração de minerais foram feitas no
1100 Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Pantanal (Corumbá, MS), com exceção do Se que
1101 foi analisado no Laboratório de Minerais da Universidade de São Paulo (Pirassununga, SP). As
1102 enzimas GSH-Px e SOD foram determinadas por meio de kits comerciais para ELISA (Cayman
1103 Chemical, Ann Arbor, MI; número dos catálogos 703102 e 706002, respectivamente). Os
1104 coeficientes de variação inter e intra-ensaios para SOD foram 4,9 e 7,2% e para GSH-Px foram
1105 4,2 e 9,8%, respectivamente. As amostras completas de sangue foram enviadas ao Laboratório
1106 de Patologia Clínica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Campo Grande, MS)
1107 para realização do hemograma em equipamento automatizado (pocH-100iV DIFF Sysmex®).

1108

1109 *2.3 Análises estatísticas*

1110 Todos os dados foram analisados como delineamento inteiramente casualizado e foi
1111 utilizado o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA, versão 9,4) com a
1112 aproximação Satterthwaite para determinar os graus de liberdade do denominador para efeitos
1113 fixos. O modelo estatístico para GMD continha como efeito fixo o tratamento e, como variável
1114 aleatória, animal (tratamento). Os modelos estatísticos para todas as outras variáveis continham
1115 efeitos fixos de tratamento, dia e interação resultante, e animal (tratamento) como variável
1116 aleatória. Estes foram analisados como medidas repetidas no tempo, usando dia como termo
1117 específico e animal (tratamento) como sujeito. Para estas, os resultados do d 0 foram incluídos
1118 como covariáveis em cada respectiva análise, porém a variável GSH-Px apresentou $P > 0,10$
1119 para covariável, e assim foram retirados do modelo. Foi escolhida a estrutura de covariância
1120 que melhor se ajustou aos dados de cada variável pelo menor critério de informação de Akaike.
1121 A função PDIFF foi utilizada quando detectada significância no teste-F e todos os resultados

1122 são reportados como LSMEANS seguidos por erro padrão da média (EPM). A significância
1123 foi definida quando $P \leq 0,05$, e tendências quando $P > 0,05$ e $\leq 0,10$.

1124 **3.0 Resultados**

1125 Para a enzima SOD não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$), porém houve tendência
1126 para dia ($P < 0,10$) e interação tratamento \times dia ($P \leq 0,05$). A aplicação de MMI aumentou a
1127 concentração de SOD somente no d 7 em relação à de Salina (Figura 1). Para a enzima GSH-
1128 Px não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$), porém houve efeito de dia e interação tratamento
1129 \times dia ($P \leq 0,05$). A aplicação de MMI aumentou a concentração de GSH-Px no d 7 e 21 (Figura
1130 1).

1131 Para leucócitos, não houve efeito de tratamento e dia ($P > 0,05$), porém houve interação
1132 entre tratamento \times dia ($P \leq 0,05$). A aplicação de MMI aumentou a concentração de leucócitos
1133 somente no d 64 em relação à de Salina (Tabela 2). Para os neutrófilos e mastócitos não houve
1134 efeito de tratamento, dia e interação tratamento \times dia ($P > 0,05$; Tabela 2). Para os linfócitos
1135 não houve efeito de dia ($P > 0,05$), porém, houve tendência para dia e, também, para interação
1136 entre tratamento \times dia ($P < 0,10$). A aplicação de MMI tendeu a aumentar a concentração de
1137 linfócitos somente no d 64 (Tabela 2). Para os monócitos não houve efeito de tratamento e
1138 interação tratamento \times dia ($P > 0,05$), porém houve efeito de dia ($P \leq 0,05$; Tabela 2). Para os
1139 eosinófilos não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$), mas houve para dia ($P \leq 0,05$) e tendência
1140 para interação entre tratamento \times dia ($P < 0,10$). A aplicação de MMI tendeu a aumentar a
1141 concentração de eosinófilos somente no d 21 em relação à de Salina (Tabela 2).

1142 Para hemácias, hemoglobina e volume globular do sangue não houve efeito de
1143 tratamento e interação tratamento \times dia ($P > 0,05$), porém houve efeito de dia para estas ($P \leq$
1144 $0,05$; Tabela 3). Para volume corpuscular médio (VCM) e hemoglobina corpuscular média
1145 (HCM) não houve efeito de tratamento, dia ou interação tratamento \times dia ($P > 0,05$; Tabela 3).
1146 A aplicação de MMI reduziu ($P \leq 0,05$) a concentração de hemoglobina corpuscular média

1147 (CHCM) e não houve efeito de dia ou interação tratamento \times dia para esta ($P > 0,05$). Para as
1148 plaquetas não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$), mas houve efeito de dia ($P \leq 0,05$) e
1149 tendência para a interação tratamento \times dia ($P < 0,10$). A aplicação de MMI tendeu a aumentar
1150 a concentração destas somente no d 21 (Tabela 3).

1151 A aplicação de MMI não afetou o PC e o GMD dos animais ($P > 0,05$) e para o PC não
1152 houve interação tratamento \times dia ($P > 0,05$), somente aumento do PC dos animais ao longo do
1153 experimento (efeito de dia; $P \leq 0,05$; Tabela 4).

1154

1155 **4.0 Discussão**

1156 A aplicação de MMI aumentou a produção das enzimas SOD no d 7 e de GSH-Px no d
1157 7 e 21 após a aplicação. Os microminerais Zn, Mn, Se e Cu são componentes de uma série de
1158 enzimas que estão relacionadas ao controle do estresse oxidativo das células (Rotruck et al.,
1159 1973) e podem afetar o sistema imunológico e resistência às doenças (Sordillo and Aitken,
1160 2009; Teixeira et al., 2014). Os microminerais Zn, Mn e o Cu são componentes das enzimas
1161 SODs, encontradas na forma de Cu/Zn-SOD e Mn-SOD (Markclund, 1980). Essas
1162 metaloenzimas catalisam a dismutação do ânion superóxido para oxigênio molecular e
1163 peróxido de hidrogênio (Sordillo and Aitken, 2009). O Se é componente da enzima GSH-Px
1164 que apresenta como função principal catalisar a redução de hidroperóxidos, como peróxidos de
1165 hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos (Rotruck et al., 1973). Logo, o aumento da concentração
1166 das enzimas SOD e GSH-Px com a aplicação de MMI indicou um maior controle do estresse
1167 oxidativo das células em até 21 d após a injeção.

1168 A aplicação de MMI aumentou a concentração de leucócitos e também apresentou
1169 tendência de incrementar a concentração de linfócitos e eosinófilos. A aplicação de MMI
1170 aumentou a produção de SOD e GSH-PX e, possivelmente fez, com que ocorresse menor
1171 peroxidação lipídica e danos celulares aos leucócitos. Segundo Spears and Weiss (2008), as

1172 células do sistema imune são sensíveis ao estresse oxidativo devido: (i) possuírem membranas
1173 com altas concentrações de ácidos graxos poli-insaturados que são altamente susceptíveis à
1174 peroxidação lipídica; (ii) as células do sistema imune produzem grandes quantidade de espécies
1175 reativas de oxigênio quando estimuladas e, assim, é necessário aumento da quantidade de
1176 substâncias antioxidantes.

1177 Apesar da concentração de neutrófilos no presente estudo não ter sido aumentada pela
1178 aplicação de MMI, sua função fagocítica pode ter sido melhorada. A aplicação de 1 mL de
1179 MMI em bezerras da raça Holandesa ao nascimento e 30 d após nascimento, aumentou a
1180 capacidade dos neutrófilos de fagocitarem (Teixeira et al., 2014). Além disso, em outros
1181 estudos, a aplicação de MMI melhorou a resposta a vacinas, aumentando a produção de
1182 anticorpos contra herpesvírus bovino tipo 1 (Arthington and Havenga, 2012; Roberts et al.,
1183 2016).

1184 A aplicação de MMI causou redução da CHCM do sangue. O aumento do aporte de Cu
1185 com a aplicação de MMI pode ter afetado negativamente o estoque de Fe e, como este é
1186 componente fundamental da hemoglobina, isso pode ter refletido em redução da CHCM.
1187 Arthington et al. (2014) aplicaram 1 mL de Salina ou MMI em bezerros ao nascimento, 100 e
1188 200 d de idade e observaram aumento da concentração de Cu e redução de Fe no fígado. No
1189 mesmo trabalho, após o desmame, as novilhas foram transportadas por 24 h e, na sequência,
1190 receberam 5 mL dos mesmos tratamentos e foram alojadas em uma única pastagem, sendo
1191 observado aumento na concentração de ceruloplasmina com a aplicação de MMI. Segundo
1192 Roeser et al. (1970), a ceruloplasmina é a proteína primária de transporte de Cu no sangue,
1193 porém, também é um importante mediador para mobilização do Fe no corpo. Assim, é possível
1194 que o maior aporte de Cu proporcionado pela aplicação de MMI, tenha causado uma alteração
1195 fisiológica que afetou negativamente o aporte de Fe para a hemoglobina, e isso afetou a CHCM.

1196 Apesar da aplicação de MMI ter diminuído a CHCM, esta se encontrava dentro da faixa normal
1197 aceita para bovinos que é de 30-36 g/dL (Jackson and Cockcroft, 2002).

1198 A aplicação de MMI apresentou tendência de aumentar a produção de plaquetas 21 d
1199 após o desmame, e a concentração de plaquetas para os animais do grupo MMI foi praticamente
1200 o dobro das encontradas para os do grupo Salina. Esse aumento coincidiu, exatamente, com o
1201 pico de produção de GSH-Px (21 d após o desmame), o que indica um possível efeito positivo
1202 do controle do estresse oxidativo com a produção e/ou proteção das plaquetas.

1203 A melhora no sistema imunológico e no controle do estresse oxidativo não refletiu em
1204 aumento do PC ou GMD com a aplicação de MMI. Segundo Roberts et al. (2016), quando a
1205 incidência de doenças na população de bovinos é baixa, a aplicação de MMI não afeta o ganho
1206 de peso. No presente trabalho, durante todo o estudo não foi diagnosticada a presença de
1207 nenhuma doença nos animais dos dois tratamentos. Assim, a melhora no sistema imunológico
1208 com a aplicação de MMI em um sistema de produção naturalmente com baixa presença de
1209 doenças, não encontrou oportunidade de melhorar do status sanitário e, conseqüentemente, o
1210 desempenho produtivo.

1211 O GMD do d 0 ao 22 foi muito baixo (0,063 kg/d), no entanto, a qualidade nutricional
1212 do pasto nesse período foi a melhor durante o experimento, porém, curiosamente, esse foi o
1213 período que os animais apresentaram menor desempenho. O estresse causado aos bezerros pelo
1214 processo de desmame, associado ao alojamento destes em uma pastagem diferente daquela em
1215 que estavam, provavelmente aumentou o nível de estresse (Lynch et al., 2012) e pode ter
1216 afetado o negativamente o consumo de forragem e contribuído para o baixo GMD.
1217 Posteriormente ao d 22, os animais foram alojados em uma segunda pastagem, com forragem
1218 de baixa qualidade. O déficit hídrico nesse período (final da estação seca) contribuiu para a
1219 baixa qualidade da forragem, e a ausência de suplementação proteica/energética fez com que o
1220 desempenho continuasse baixo até o final do estudo.

1221 Não é possível afirmar que os animais estavam deficientes em Zn, Mn, Se e Cu no
1222 período do desmame, pois não foram colhidas amostras de fígado para análise desses
1223 microminerais. Porém, o status mineral, provavelmente, diferiu entre os animais, pois o
1224 consumo de suplemento mineral é altamente variável entre animais, dias e estação do ano
1225 (Manzano et al., 2012) e a aplicação de microminerais injetáveis é uma estratégia para aumentar
1226 o aporte de microminerais (Arthington et al., 2014). Quando os animais passam por um período
1227 consumindo uma dieta deficiente somente em Zn, Mn, Se e Cu e, posteriormente, consomem
1228 uma dieta que atenda às exigências nutricionais associados à aplicação de MMI, estes
1229 apresentam maior GMD em relação aos que não recebem MMI (Genther and Hansen, 2014).
1230 No atual estudo, as maiores deficiências, provavelmente, foram proteína e energia. Assim,
1231 apesar do maior aporte de microminerais através dos MMI, a alta deficiência de
1232 macronutrientes (principalmente PB) limitou o crescimento e fez com que a aplicação de MMI
1233 não afetasse o desempenho produtivo. Experimentos futuros devem avaliar o efeito deste
1234 produto em animais mantidos em pastagens, porém consumindo suplementação
1235 proteica/energética e que possibilitem maiores ganhos de peso.

1236

1237 **5.0 Conclusão**

1238 A aplicação de MMI no momento do desmame aumentou a concentração de enzimas
1239 antioxidantes, plaquetas e melhorou componentes do sistema imunológico, reduziu a
1240 concentração de CHCM e não afetou o ganho de peso de bezerros Nelore em pastagens de
1241 gramíneas tropicais de baixa qualidade.

1242

1243 **Conflito de interesse**

1244 Os autores declaram não haver conflito de interesse.

1245 Agradecimentos

1246 Nós gostaríamos de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
1247 Superior (CAPES) pela bolsa de estudos fornecida ao primeiro autor, à Fundação de Apoio ao
1248 Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul
1249 (FUNDECT; 116/2016) por patrocinar o estudo, à empresa Multimin (Fort Collins, CO, USA,)
1250 pela doação do MMI e à Fazenda Bela Vista (Camapuã, MS, Brasil) pela possibilidade de
1251 execução do experimento.

1252

1253 Referências

1254 AOAC, 2000. Official methods of analysis, 17th ed. Association of Official Analytical
1255 Chemists, Gaithersburg, MD.

1256

1257 Arthington, J.D., Havenga, L.J., 2012. Effect of injectable trace minerals on the humoral
1258 immune response to multivalent vaccine administration in beef calves. *J. Anim. Sci.* 90, 1966–
1259 1971.

1260

1261 Arthington, J.D., Moriel, P., Martins, P.G.M.A., Lamb, G.C., Havenga, L.J., 2014. Effects of
1262 trace mineral injections on measures of performance and trace mineral status of pre- and
1263 postweaned beef calves. *J. Anim. Sci.* 92, 2630–2640.

1264

1265 Genter, O.N., Hansen, S.L., 2014. Effect of dietary trace mineral supplementation and a multi-
1266 element trace mineral injection on shipping response and growth performance of beef cattle. *J.*
1267 *Anim. Sci.* 92, 2522–2530.

1268

- 1269 Jackson, P., Cockcroft, P., 2002. Clinical examination of farms animals. Blackwell Science
1270 Ltd, Malden, USA.
1271
- 1272 Lynch, E.M., McGee, M., Doyle, S., Earley, B., 2012. Effect of pre-weaning concentrate
1273 supplementation on peripheral distribution of leukocytes, functional activity of neutrophils,
1274 acute phase protein and behavioural responses of abruptly weaned and housed beef calves.
1275 BMC. Vet. Res. 8, 1–11.
1276
- 1277 Manzano, R.P., Paterson, J., Harbac, M.M., Lima Filho, R.O., 2012. The effect of season on
1278 supplemental mineral intake and behavior by grazing steers. Prof. Anim. Sci. 28, 73–81.
1279
- 1280 Markclund, S., 1980. Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase
1281 in human tissues and extracelular fluids. Acta. Physiol. Scand. Suppl. 492, 19–23.
1282
- 1283 NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington,
1284 DC.
1285
- 1286 NRC. 2016. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 8th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington,
1287 DC.
1288
- 1289 Roberts, S.L., May, N.D., Brauer, C.L., Gentry, W.W., Weiss, C.P., Jennings, J.S., Richeson,
1290 J.T., 2016. Effect of injectable trace mineral administration on health, performance, and
1291 vaccine response of newly received feedlot cattle. Prof. Anim. Sci. 32, 842–848.
1292

- 1293 Roeser, H.P., Lee, G.R., Nacht, S., Cartwright, G.E., 1970. The role of ceruloplasmin in iron
1294 metabolism. *J. Clin. Invest.* 49, 2408–2417.
- 1295
- 1296 Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D.G., Hoekstra, W. G.,
1297 1973. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science.* 179,
1298 588–590.
- 1299
- 1300 Sordillo, L.M., Aitken, S.L., 2009. Impact of oxidative stress on the health and immune
1301 function of dairy cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 128, 104–109
- 1302
- 1303 Spears, J.W., Weiss, W.P., 2008. Role of antioxidants and trace elements in health and
1304 immunity of transition dairy cows. *Vet. J.* 176, 70–76.
- 1305
- 1306 Teixeira, A.G.V., Lima, F.S., Bicalho, M.L.S., Kussler, A., Lima, S.F., Felipe, M.J., Bicalho,
1307 R.C., 2014. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc,
1308 and manganese on immunity, health, and growth of dairy calves. *J. Dairy. Sci.* 97, 4216–4226.
- 1309
- 1310 Underwood, E.J., Suttle, N.F., 1999. *The mineral nutrition of livestock.* 3rd ed. CABI
1311 Publishing, New York.
- 1312
- 1313 Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Symposium: carbohydrate methodology,
1314 metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *J. Dairy. Sci.* 74, 3583–3597.
- 1315

1316 **Tabela 1.** Composição química do capim-xaraés durante o experimento

Itens ¹	Pastagem A		Pastagem B		Exigências (NRC, 2016)
	Dia 0 (29/05/2016)	Dia 21 (20/06/2016)	Dia 64 (01/08/2016)	Dia 115 (21/09/2016)	
MS (g/kg)	272,56	299,53	352,20	343,97	-
<i>g/kg de MS</i>					
PB	90,62	80,94	39,98	49,26	-
FDN	730,61	701,78	697,39	677,37	-
FDA	376,31	351,96	374,10	371,19	-
Lignina	40,60	37,60	31,10	32,10	-
EE	21,81	22,71	22,76	24,48	-
MM	60,32	56,30	80,22	89,12	-
CNF	96,64	138,27	159,64	159,77	-
Ca	1,27	2,42	1,46	2,44	-
P	1,78	1,48	0,92	1,19	-
Na	1,85	1,86	1,48	1,86	0,6 – 0,8
K	11,52	12,33	10,01	10,83	6,00
Mg	1,84	2,92	1,12	1,67	1,00
<i>mg/kg de MS</i>					
Fe	127,71	135,32	155,02	111,48	50,00
Zn	28,73	22,07	14,20	11,35	30,00
Mn	139,34	157,53	71,55	127,02	20,00
Se	0,07	0,08	0,08	0,06	0,10
Cu	5,99	5,36	2,77	1,43	10,00

1317 ¹MS, matéria seca; PB, proteína bruta; FDN, fibra em detergente neutro; FDA, fibra em
1318 detergente ácido; EE, extrato etéreo; CNF, carboidratos não fibrosos (100-(Cinzas + PB +
1319 FDN + EE); NRC, 2001); MM, matéria mineral (cinzas).

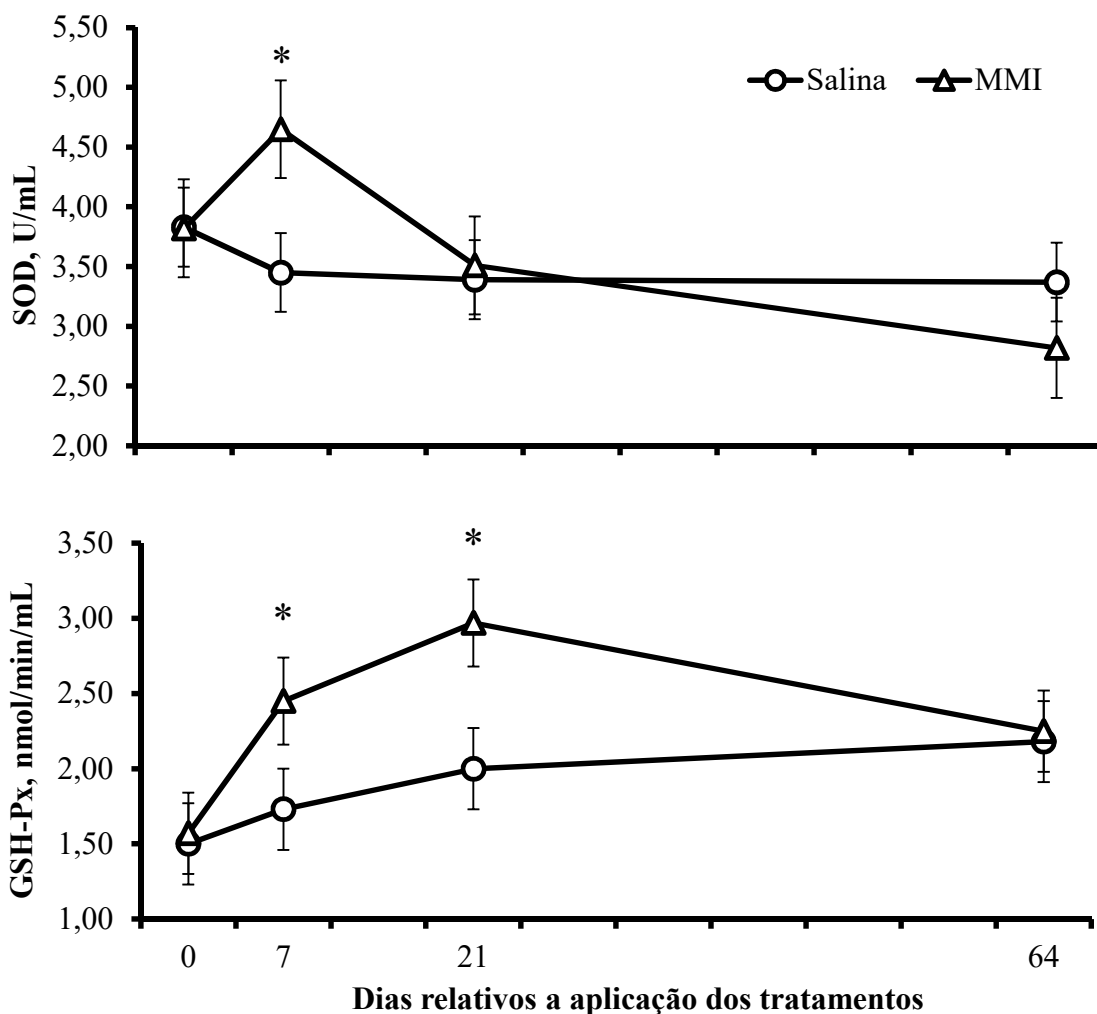
1320

1321

1322

1323

1324



1327 **Figura 1.** Efeito da aplicação de microminerais injetáveis sobre a concentração das enzimas
 1328 superóxido dismutase (SOD; U/mL) e glutathiona peroxidase (GSH-Px; nmol/min/mL) de
 1329 bezerros. Tratamentos: Salina, injeção de solução salina (1 mL/45 kg de PC), MMI,
 1330 microminerais injetáveis (1 mL/45 kg de PC; Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO, USA).
 1331 Barras verticais representam o erro padrão da média. Para a enzima SOD não houve efeito de
 1332 tratamento ($P = 0,4298$), porém houve tendência para dia ($P = 0,0671$) e interação tratamento
 1333 \times dia ($P = 0,0448$). Para a enzima GSH-Px não houve efeito de tratamento ($P = 0,3864$) porém
 1334 houve efeito de dia ($P = 0,0311$) e interação tratamento \times dia ($P = 0,0060$). O símbolo *
 1335 representa diferença significativa ($P \leq 0,05$) para os tratamentos nos respectivos dias.

1336

1337 **Tabela 2.** Efeito da aplicação de microminerais injetáveis sobre o leucograma de bezerras

Itens	Tratamentos ¹		Média ² dia	EPM ³	P-value ⁴		
	Salina	MMI			Trat	Dia	Trat × dia
Leucócitos, ×10 ³ cells/μL					0,3243	0,1339	0,0411
d 0	20,27 ^A	18,86 ^B	-	1,34			
d 7	17,16 ^B	18,57 ^B	-	1,34			
d 21	18,06 ^{AB}	19,12 ^B	-	1,34			
d 64	17,61 ^{Bb}	22,56 ^{Aa}	-	1,34			
Neutrófilos, ×10 ³ cells/μL	4,51	4,78	-	0,43	0,6702	0,1061	0,7639
Linfócitos, ×10 ³ cells/μL					0,2659	0,0798	0,0783
d 0	14,14 ^A	13,57 ^{AB}	-	1,09			
d 7	11,06 ^B	12,20 ^B	-	1,09			
d 21	12,29 ^{AB}	12,34 ^B	-	1,09			
d 64	11,52 ^{Bb}	15,75 ^{Aa}	-	1,09			
Monócitos, ×10 ³ cells/μL					0,7229	0,0001	0,3527
d 0	0,18	0,32	0,25 ^C	0,17			
d 7	0,53	0,54	0,53 ^B	0,17			
d 21	0,41	0,29	0,35 ^{BC}	0,17			
d 64	1,12	0,85	0,99 ^A	0,17			
Eosinófilos, ×10 ³ cells/μL					0,5121	0,0025	0,0649
d 0	1,34 ^A	1,08 ^A	-	0,21			
d 7	0,38 ^B	0,72 ^A	-	0,21			
d 21	0,23 ^{Bb}	0,85 ^{Aa}	-	0,21			
d 64	0,64 ^B	0,48 ^B	-	0,21			
Mastócitos, ×10 ³ cells/μL	0,04	0,03	-	0,03	0,8896	0,1410	0,9959

1338 ¹Tratamentos: Salina, injeção de solução salina (1 mL/45 kg de PC), MMI, microminerais

1339 injetáveis (1 mL/45 kg de PC; Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO, USA).

1340 ²São apresentadas médias por dia quando o P-value para Dia é < 0,10 e Trat × dia > 0,10.1341 ³Erro padrão da média.1342 ⁴Trat, efeito de tratamento; Dia, efeito de dia; Trat × dia, interação entre tratamento e dia.

1343

1344 **Tabela 3.** Efeito da aplicação de microminerais injetáveis sobre o eritograma e a concentração
 1345 de plaquetas sanguíneas de bezeros

Itens ⁵	Tratamentos ¹		Médias ² dia	EPM ³	P-value ⁴		
	Salina	MMI			Trat	Dia	Trat × dia
Hemácias, ×10 ⁶ cells/μL					0,3871	0,0164	0,1478
d 0	10,23	10,05	10,13 ^A	0,30			
d 7	9,02	9,78	9,40 ^B	0,30			
d 21	9,57	9,62	9,60 ^B	0,30			
d 64	9,95	10,25	10,10 ^A	0,30			
Hemoglobina, g/dL					0,8085	0,0027	0,3627
d 0	12,77	12,31	12,54 ^A	0,31			
d 7	11,02	11,63	11,32 ^C	0,31			
d 21	11,76	11,57	11,66 ^{BC}	0,31			
d 64	12,17	11,98	12,08 ^{AB}	0,31			
Volume globular (%)					0,2497	0,0064	0,2890
d 0	38,11	37,30	37,70 ^A	0,96			
d 7	33,18	36,03	34,61 ^C	0,96			
d 21	35,28	35,56	35,42 ^B	0,96			
d 64	36,74	37,84	37,29 ^A	0,96			
VCM, fL	37,12	37,13	-	0,21	0,9722	0,6587	0,9999
HCM, pg	12,33	12,10	-	0,16	0,3300	0,1814	0,5253
CHCM, pg	33,35 ^a	32,53 ^b	-	0,22	0,0250	0,4048	0,1153
Plaquetas, ×10 ³ cells/μL					0,3797	0,0340	0,0829
d 0	287,50 ^{AB}	292,22 ^A	-	42,39			
d 7	365,36 ^A	371,22 ^A	-	88,07			
d 21	214,78 ^{Bb}	430,64 ^{Aa}	-	73,53			
d 64	240,36 ^B	232,36 ^B	-	51,06			

1346 ¹Tratamentos: Salina, injeção de solução salina (1 mL/45 kg de PC), MMI, microminerais
 1347 injetáveis (1 mL/45 kg de PC; Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO, USA).

1348 ²São apresentadas médias por dia quando o P-value para Dia é < 0,10 e Trat × dia > 0,10.

1349 ³Erro padrão da média.

1350 ⁴Trat, efeito de tratamento; Dia, efeito de dia; Trat × dia, interação entre tratamento e dia.

1351 ⁵VCM, volume corpuscular médio, HCM, hemoglobina corpuscular média, CHCM,
 1352 concentração de hemoglobina corpuscular média.

1353

1354

1355 **Tabela 4.** Efeito da aplicação de microminerais injetáveis sobre o desempenho de bezerros

Itens ⁵	Tratamentos ¹		Médias ² dia	EPM ³	P-value ⁴		
	Salina	MMI			Trat	Dia	Trat × dia
PC, kg					0,8515	<0,0001	0,9802
d 0 (desmame)	212,62	212,72	212,67 ^D	0,85			
d 21	214,09	214,00	214,05 ^C	0,85			
d 64	219,79	220,01	219,90 ^B	0,85			
d 115	233,25	233,70	233,47 ^A	0,85			
GMD, kg/d							
d 0 ao d 21	0,067	0,058	-	0,03	0,8670		
d 21 ao d 64	0,136	0,143	-	0,03	0,7781		
d 64 ao d 115	0,264	0,268	-	0,02	0,8406		
d 0 ao d 115	0,179	0,182		0,01	0,8323		

1356 ¹Tratamentos: Salina, injeção de solução salina (1 mL/45 kg de PC), MMI, microminerais
 1357 injetáveis (1 mL/45 kg de PC; Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO, USA).

1358 ²São apresentadas médias por dia quando o P-value para Dia é < 0,10 e Trat × dia > 0,10.

1359 ³Erro padrão da média.

1360 ⁴Trat, efeito de tratamento; Dia, efeito de dia; Trat × dia, interação entre tratamento e dia.

1361 ⁵PC, peso corporal; GMD, ganho médio diário.

1362

1363 **CAPÍTULO 4 – MICROMINERAIS INJETÁVEIS 30 DIAS PRÉ-IATF SOBRE A**
1364 **CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES, PROTEÍNAS DA FASE**
1365 **AGUDA, DINÂMICA DAS ESTRUTURAS OVARIANAS E TAXA DE PRENHEZ**
1366 **EM VACAS NELORE**

1367

1368

1369

O artigo a seguir está redigido de acordo com as exigências para publicação no periódico *Journal of Animal Science* excetuando-se o idioma.

1370 *Running Head: microminerais injetáveis e reprodução*

1371

1372

Microminerais injetáveis 30 dias pré-IATF sobre a concentração de enzimas

1373

antioxidantes, proteínas da fase aguda, dinâmica das estruturas ovarianas e taxa de

1374

prenhez em vacas Nelore

1375

1376

M. Vedovatto,† G. L. Franco†¹

1377

1378

1379

†Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do

1380

Sul, Av. Senador Filinto Muller, nº. 2443, Campo Grande/MS, Brasil, 79070-900.

1381

¹Autor para correspondência: gumercindo.franco@ufms.br

1382

1383

1384

1385

1386

1387

1388 **RESUMO:** Dois experimentos foram conduzidos com os objetivos de avaliar o efeito da
1389 aplicação de microminerais (Zn, Mn, Se e Zn) injetáveis (**MMI**) 30 dias (**d**) pré-inseminação
1390 artificial (**IA**) sobre a concentração de enzimas antioxidantes, proteínas da fase aguda,
1391 dinâmica das estruturas ovarianas, peso corporal (**PC**), escore de condição corporal (**ECC**) e
1392 taxa de prenhez em vacas Nelore. No Exp. 1 foram utilizadas 20 vacas múltiparas com ECC
1393 (1-9) = $4,8 \pm 0,4$ e PC = $387,7 \pm 35,1$ kg, mantidas em pastagem e recebendo suplemento
1394 mineral em pó *ad libitum*. O estudo teve duração de 60 d e compreendeu o período de 30 d
1395 anterior (**d -30**) à IA (**d 0**) até 30 d após (**d 30**). Os animais foram divididos pelo ECC e PC em
1396 dois tratamentos: 1) injeção de solução salina (**Salina**; 6 mL/animal) ou de microminerais
1397 injetáveis (6 mL/animal), ambos aplicados no d -30. Todas as vacas foram sincronizadas por
1398 um protocolo de IA em tempo fixo (**IATF**), inseminadas no d 0, e o diagnóstico de gestação
1399 foi realizado no d 30. As estruturas ovarianas foram avaliadas no d 0 (diâmetro do folículo
1400 dominante) e no d 14 (diâmetro do corpo lúteo) e fizeram-se colheitas de sangue nos d -30, -
1401 26, -22, -17, -11, 0, 7, 14, 21 e 30 para análise das concentrações de superóxido dismutase
1402 (**SOD**), glutathiona peroxidase (**GSH-Px**), haptoglobina e ceruloplasmina. No Exp. 2 foram
1403 avaliadas 573 vacas, com aproximadamente 400 kg de PC e ECC de $4,8 \pm 0,5$, localizadas em
1404 duas fazendas comerciais, mantidas em pastagens, e recebendo suplemento mineral em pó *ad*
1405 *libitum*. Estas foram divididas aleatoriamente em dois tratamentos e sincronizadas para IATF
1406 como descrito no Exp. 1. A única variável avaliada nesse experimento foi a taxa de prenhez no
1407 d 30 e os dados deste foram analisados em conjunto com os do Exp. 1. A aplicação de MMI
1408 aumentou a concentração de SOD ($P = 0,01$) nos d -17 e -11 e de GSH-Px ($P < 0,01$) no d -26
1409 em relação a de Salina. Os MMI não alteraram ($P > 0,05$) a concentração de haptoglobina e
1410 ceruloplasmina, e também o PC, mudança de PC, ECC, mudança de ECC, folículo dominante,
1411 volume do corpo lúteo e taxa de prenhez, porém apresentaram tendência ($P = 0,10$) para reduzir
1412 5,6 mm o diâmetro do corpo lúteo em relação a aplicação de Salina. Assim a aplicação de MMI

1413 aumentou a concentração de enzimas antioxidantes, não alterou as proteínas da fase aguda e o
1414 desempenho reprodutivo, porém tendeu a reduzir o diâmetro do corpo lúteo.

1415

1416 **Palavras-chave:** ceruloplasmina, corpo lúteo, enzimas antioxidantes, estresse oxidativo,
1417 haptoglobina, reprodução.

1418

1419

INTRODUÇÃO

1420

1421 Deficiências de microminerais em vacas de corte podem diminuir a taxa de concepção,
1422 e aumentar do período de anestro, reabsorção fetal, as taxas de retenção de placenta, de abortos,
1423 de nascimentos prematuros, ovários císticos, casos de metrite, entre outros inúmeros problemas
1424 reprodutivos (Corah and Ives, 1991). Microminerais como Zn, Mn, Se e Cu são componentes
1425 de determinadas enzimas antioxidantes e estão diretamente ligados à eficiência do controle
1426 espécies reativas de oxigênio (ROS) e à reprodução de vacas (Sordillo and Aitken, 2009). As
1427 ROS afetam desde a maturação do oócito até a fertilização, sobrevivência e desenvolvimento
1428 embrionário e manutenção da prenhez (Agarwal et al., 2005).

1429 Bovinos mantidos em pastagem nem sempre tem suas exigências de minerais
1430 totalmente supridas pelo pasto, e assim se faz necessário realizar suplementação. O principal
1431 método de fornecimento, é através de mistura mineral em pó, porém, esta apresenta consumo
1432 altamente variável entre os animais do mesmo lote (Manzano et al., 2012) possivelmente
1433 resultando em alguns animais com menor status de microminerais. A aplicação de
1434 microminerais injetáveis (**MMI**), além de assegurar o fornecimento de uma dose conhecida
1435 para todos os animais do lote, não sofre interferência de antagonistas da dieta (Arthington et
1436 al. 2014). Além disso, o estresse é conhecido por reduzir o consumo de alimentos em bovinos
1437 (Bruno et al., 2016), e como as vacas são manejadas várias vezes no curral durante o período
1438 de inseminação artificial em tempo fixo (**IATF**), estas podem inclusive ter o consumo de
1439 suplemento mineral reduzido, o que agrega mais valor à aplicação de MMI nessa fase.

1440 Nossa hipótese foi que a aplicação de MMI pode melhorar a reprodução de vacas de
1441 corte sincronizadas para IATF. Para isso foram conduzidos dois experimentos com os objetivos
1442 de avaliar o efeito da aplicação de MMI 30 d pré-IA sobre a concentração de enzimas
1443 antioxidantes, proteínas da fase aguda, dinâmica das estruturas ovarianas, peso corporal (**PC**),
1444 escore de condição corporal (**ECC**) e taxa de prenhez em vacas Nelore.

MATERIAL E MÉTODOS

1445

1446 Ambos experimentos foram conduzidos de acordo com os padrões éticos aplicados à
1447 pesquisa com animais e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade
1448 Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) sob o protocolo nº 754/2016.

1449

1450 *Animais, tratamentos e colheita de amostras*

1451 *Experimento 1.* Foi conduzido na Fazenda Escola da Faculdade de Medicina
1452 Veterinária e Zootecnia da UFMS, Terenos, Mato Grosso do Sul, Brasil (20°26'50.8"S
1453 54°50'21.5"W). Foram selecionadas 20 vacas multíparas da raça Nelore, com ECC (escala de
1454 1-9) = $4,8 \pm 0,4$ e PC = $387,7 \pm 35,1$ kg. Todas as vacas apresentavam corpo lúteo ou folículo
1455 dominante > 7,0 mm no início do experimento. O estudo teve duração de 60 dias (d; 29 de
1456 novembro de 2016 à 29 de janeiro de 2017) e compreendeu o período de 30 d anterior (d -30)
1457 à IA (d 0) e 30 d após (d 30).

1458 Os animais foram alojados em um único piquete de 12 ha formado com capim-marandú
1459 [*Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster, cv. Marandu; Tabela 1] e tiveram
1460 livre acesso à água e suplemento mineral (Tabela 2). A qualidade das forrageiras foi avaliada
1461 através de colheitas manuais simulando o pastejo em três momentos (d -30, 0 e 30) e na
1462 sequência foram secas em estufa de ventilação a 60°C por 5 d, moídas a 1 mm, formada uma
1463 única amostra composta e posteriormente analisada a composição química.

1464 Os animais foram divididos pelo ECC e PC em dois tratamentos: 1) injeção de solução
1465 salina (**Salina**; 0.9% NaCl; 6 mL/animal) ou microminerais injetáveis (**MMI**; 6 mL/animal),
1466 ambos aplicados 30 d pré-IA. Os MMI apresentavam 60 mg de Zn/mL, 10 mg de Mn/mL, 5
1467 mg de Se/mL e 15 mg de Cu/mL (Multimin90, Multimin, Fort Collins, CO).

1468 Todas as vacas tiveram o estro sincronizado para IATF por um protocolo de 11 d (d -
1469 11 ao 0) e todas possuíam corpo lúteo no início do protocolo. No d -11 foi administrado na

1470 forma injetável [intramuscular (IM)] 2,0 mg de benzoato de estradiol (IM; Gonadiol; Zoetis,
1471 São Paulo, Brasil) e inserção de dispositivo intravaginal, de primeiro uso, contendo 1,9 g de
1472 progesterona (CIDR; Zoetis, São Paulo, Brasil). No d -2 realizou-se a remoção do dispositivo
1473 de progesterona, injeção de 12,5 mg de PGF_{2α} (IM; Lutalyse; Zoetis, São Paulo, Brasil), 1,0 mg
1474 de cipionato de estradiol (IM; ECP; Zoetis, São Paulo, Brasil) e 300 UI de eCG (IM;
1475 Novormon; Zoetis, São Paulo, Brasil). No d 0 todas as vacas foram inseminadas, por um único
1476 inseminador, com sêmen do mesmo touro Nelore. No d 30 foi realizado o diagnóstico de
1477 gestação por ultrassonografia transretal (Mindray DP 2200 VET com transdutor de 7,5 MHz,
1478 Shenzhen, China).

1479 As estruturas ovarianas foram avaliadas por ultrassonografia transretal (Mindray DP
1480 2200 VET com transdutor de 7,5 MHz, Shenzhen, China), sendo mensurados os diâmetros
1481 (mm) do folículo dominante no d 0 e do corpo lúteo no d 14. O volume do corpo lúteo (cm³)
1482 foi calculado utilizando-se a fórmula para volume da esfera [$V=4/3\pi(D/2)^3$ onde D é o máximo
1483 diâmetro (mm) do corpo lúteo (Cooke et al., 2009)]. O peso corporal e ECC foram coletados
1484 nos d -30, 0 e 30 e o ECC foi avaliado de acordo com Herd and Sprott, (1986) por um único
1485 avaliador blindado para os tratamentos.

1486 Colheu-se sangue da veia caudal mediana nos d -30, -26, -22, -17, -11, 0, 7, 14, 21 e 30
1487 em um tubo a vácuo (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) contendo heparina
1488 sódica (10 mL). Após a colheita os tubos foram imediatamente armazenados em caixa térmica
1489 com gelo e posteriormente centrifugados a 1200 × g por 30 min para obtenção do plasma que
1490 foi armazenado a -20°C para posteriores análises da concentração das enzimas superóxido
1491 dismutase (SOD), glutathiona peroxidase (GSH-Px), haptoglobina e ceruloplasmina.

1492 **Experimento 2.** Foi conduzido em duas fazendas comerciais localizadas no estado de
1493 Mato Grosso do Sul, Brasil, no período de outubro de 2016 a março de 2017, com 573 vacas
1494 múltíparas da raça Nelore, com aproximadamente 400 kg de PC, e com ECC de $4,8 \pm 0,5$. A

1495 Fazenda São José do Nabileque está localizada em Corumbá, MS, Brasil (20°05'49.9"S
1496 57°20'41.4"W) e, nesta, foram avaliadas 191 vacas, mantidas em um único lote com a
1497 forrageira capim-humidícola [*Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga]. A Fazenda
1498 Campo Verde está localizada em Jaraguari, MS, Brasil (20°24'29.8"S54°05'25.3"W) e, nesta,
1499 foram avaliadas 382 vacas divididas em três lotes (55, 180, e 147 vacas por lote) com a
1500 forrageira capim-marandú [*Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster, cv.
1501 Marandu]. O método de pastejo nas duas fazendas foi o rotacionado e todos os animais tinham
1502 livre acesso à água e suplemento mineral em pó (Tabela 2). A qualidade das forrageiras foi
1503 avaliada através de colheitas manuais realizadas em três momentos (d-30, 0 e 30), sendo secas
1504 em estufa de ventilação forçada a 60°C por 5 d, moídas a 1 mm, formada uma única amostra
1505 composta por fazenda e posteriormente analisada a composição química.

1506 Os animais foram aleatoriamente divididos em dois tratamentos: 1) aplicação de Salina
1507 (6 mL/animal) ou de MMI (6 mL/animal), ambos aplicados no d -30. A composição dos MMI
1508 foi a mesma do experimento 1. Todas as vacas foram tiveram o estro sincronizado para IATF
1509 por um protocolo de 11 d (d -11 ao d 0), da mesma forma como descrito no experimento 1. Em
1510 cada lote, as vacas foram inseminadas com sêmen de um único touro Nelore ou Angus, pelo
1511 mesmo inseminador. No d 30 foi realizado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia
1512 (Mindray DP 2200 VET com transdutor de 7,5 MHz, Shenzhen, China) e a única variável
1513 avaliada nesse experimento foi a taxa de prenhez.

1514 *Análises laboratoriais*

1515 As forrageiras foram analisadas de acordo com AOAC (2000): matéria seca, método
1516 930.15; proteína bruta (**PB**), método 976.05; extrato etéreo (**EE**), método 920.39 e matéria
1517 mineral (**MM**), método 942.05. A concentração de fibra em detergente neutro (**FDN**), fibra em
1518 detergente ácido e lignina foram feitas de acordo com a metodologia de Van Soest et al. (1991)
1519 e os carboidratos não fibrosos (**CNF**) calculados de acordo com o NRC (2001): CNF (%) =

1520 100 – (% FDN + % PB + % EE + % MM). Todas as análises da concentração de minerais
1521 foram feitas pelo Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Pantanal (Corumbá, MS,
1522 Brasil), com exceção do Se que foi analisado pelo Laboratório de Minerais da Universidade de
1523 São Paulo (Pirassununga, SP, Brasil).

1524 As enzimas SOD e GSH-Px foram determinadas por meio de kits comerciais para
1525 ELISA (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI; número dos catálogos 706002 e 703102,
1526 respectivamente). A concentração de haptoglobina foi analisada conforme descrito por Cooke
1527 and Arthington (2013) e de ceruloplasmina conforme descrito por Demetriou et al. (1974). Os
1528 coeficientes de variação inter e intra-ensaios para SOD foram 4,9 e 7,2%, GSH-Px, 4,2 e 9,8%,
1529 haptoglobina, 4,23 e 2,90% e ceruloplasmina, 4,43 e 5,06%, respectivamente.

1530

1531 *Análises estatísticas*

1532 Os dados de SOD, GSH-Px, haptoglobina, ceruloplasmina, estruturas ovarianas, PC,
1533 mudança de PC, ECC, mudança de ECC, foram analisados pelo procedimento MIXED do SAS
1534 (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA, versão 9,4) com a aproximação Satterthwaite para determinar
1535 os graus de liberdade do denominador para efeitos fixos. Os modelos estatísticos para as
1536 estruturas ovarianas, mudança de PC e mudança de ECC continham efeito fixo de tratamento,
1537 e vaca (tratamento) como variável aleatória. Os modelos estatísticos para SOD e GSH-Px,
1538 haptoglobina, ceruloplasmina, PC e ECC continham como efeito fixo tratamento, dia e a
1539 interação e vaca (tratamento) como variável aleatória. O termo específico para medidas
1540 repetidas foi dia usando vaca (tratamento) como sujeito. Para estas, os resultados do d 0 foram
1541 incluídos como covariáveis em cada respectiva análise, porém a variável GSH-Px apresentou
1542 $P > 0,10$ para covariável e, assim, os valores de d 0 foram retirados do modelo. Foi escolhida
1543 a estrutura de covariância que melhor se ajustou aos dados pelo menor critério de informação
1544 de Akaike em cada análise. As estruturas de covariância utilizadas foram toepliz (haptoglobina

1545 e PC), e autoregressiva de ordem 1 (SOD e GSH-Px, ceruloplasmina e ECC). A taxa de prenhez
1546 foi analisada pelo procedimento GLIMMIX do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA, versão
1547 9,4) com a aproximação Satterthwaite para determinar os graus de liberdade do denominador
1548 para efeitos fixos. Os modelos estatísticos continham como efeito fixo o tratamento e, como
1549 variável aleatória vaca (tratamento \times lote) e lote. Para esta análise, os dados do experimento 1
1550 (20 vacas) e experimento 2 (573 vacas) foram analisados conjuntamente. Para todas as análises
1551 a função PDIFF foi utilizada quando detectada significância no teste-F e todos os resultados
1552 são reportados como LSMEANS seguidos por erro padrão da média (EPM). A significância
1553 foi definida quando $P \leq 0,05$, e tendências quando $P > 0,05$ e $\leq 0,10$.

1554

1555 RESULTADOS

1556

1557 *Experimento 1 – enzimas, variáveis de dinâmica ovariana, PC e ECC.* Não houve efeito de
1558 tratamento ($P = 0,21$), porém houve efeito de dia ($P < 0,01$) e interação tratamento \times dia ($P =$
1559 $0,01$) para a enzima SOD. A aplicação de MMI aumentou a concentração de SOD nos d -22 e
1560 -17 (que correspondem a 8 e 13 d após a aplicação do tratamento, respectivamente) em relação
1561 à de Salina (Figura 1a). Para GSH-Px, houve efeito de tratamento ($P = 0,05$), dia ($P < 0,01$) e
1562 interação tratamento \times dia ($P < 0,01$). A aplicação de MMI aumentou a concentração de GSH-
1563 Px no dia -26 (que corresponde a 4 d após a aplicação do tratamento; Figura 1b).

1564 Não houve efeito de tratamento ($P = 0,45$), dia ($P = 0,40$) ou interação tratamento \times dia
1565 ($P = 0,46$) para a concentração de haptoglobina (Figura 2a). Também não houve efeito de
1566 tratamento ($P = 0,78$), ou interação tratamento \times dia ($P = 0,92$), porém houve efeito de dia (P
1567 $< 0,01$) para a concentração de ceruloplasmina (Figura 2b).

1568 Não foram detectadas diferenças significativas entre tratamentos ($P > 0,05$) para o
1569 diâmetro do folículo dominante, volume do corpo lúteo, mudança de ECC e mudança de PC,

1570 (Tabela 3). Porém, foi observada tendência ($P = 0,10$) para redução do corpo lúteo nos animais
1571 que receberam MMI (Tabela 3). Não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$) ou interação
1572 tratamento \times dia ($P > 0,05$) para PC e ECC (Tabela 3).

1573

1574 *Experimento 1 e 2 – taxa de prenhez.* Efeito de tratamento não foi detectado ($P = 0,15$) para
1575 na taxa de prenhez (Figura 3).

1576

1577

DISCUSSÃO

1578 A aplicação de MMI aumentou a concentração das enzimas antioxidantes SOD por até
1579 13 d e de GSH-Px por até 4 d após a aplicação. O aumento da concentração de SOD com a
1580 aplicação de MMI pode acontecer pelo maior aporte de Zn, Mn Cu, os quais são componentes
1581 das enzimas Cu/Zn-SOD e Mn-SOD (Markclund, 1980). Essas metaloenzimas contribuem para
1582 catalisar a dismutação do ânion superóxido para oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio
1583 (Sordillo and Aitken, 2009). Já o Se, é componente da enzima GSH-Px, que tem como função
1584 principal catalisar a redução de hidroperóxidos, como peróxidos de hidrogênio e
1585 hidroperóxidos lipídicos (Rotruck et al., 1973). Logo, o aumento dessas enzimas antioxidantes
1586 pode levar a um maior controle dos danos causados pelo estresse oxidativo.

1587 A aplicação de MMI não alterou a concentração das proteínas da fase aguda
1588 haptoglobina e ceruloplasmina. Esta última é uma proteína Cu-dependente, e bovinos com
1589 maior status de Cu, proporcionado pela aplicação de MMI, podem apresentar maiores
1590 concentrações desta proteína em resposta ao estresse (Arthington et al., 2014). As vacas do
1591 experimento 1 foram manejadas no curral 11 vezes durante todo o estudo e, possivelmente,
1592 isso aumentou o estresse aos animais; porém, apesar da concentração de ceruloplasmina ter
1593 aumentado após os manejos iniciais, o maior aporte de Cu pela aplicação dos MMI não refletiu
1594 em aumento da concentração de ceruloplasmina. Ainda que as forrageiras utilizadas nesse

1595 experimento possuísem baixa concentração de Cu, o fornecimento de suplemento mineral
1596 pode ter assegurado um status de Cu suficiente para a máxima produção de ceruloplasmina em
1597 resposta ao estresse e, assim, o complemento de Cu oferecido pelos MMI possivelmente não
1598 foi necessário. Em outro estudo, a aplicação de MMI resultou em maior concentração de
1599 haptoglobina em novilhas estressadas pelo desmame abrupto e transporte (Arthington et al.,
1600 2014). Apesar da haptoglobina teoricamente não ter relação com Zn, Mn Se e Cu, esses autores
1601 sugeriram que isso pode ser reflexo de uma pequena reação inflamatória no local da injeção,
1602 apesar desta não ter sido visualmente observado naquele estudo. Da mesma forma, no presente
1603 estudo também foi não visualmente identificado reação inflamatória no local da injeção.

1604 A aplicação dos MMI apresentou tendência para reduzir o diâmetro do corpo lúteo. A
1605 hipótese inicial foi que a aplicação de MMI poderia aumentar o controle do estresse oxidativo
1606 das células e isso poderia incrementar o tamanho do corpo lúteo. Porém, como a aplicação de
1607 MI causou aumento da concentração das enzimas antioxidantes até no máximo 13 d após a
1608 aplicação, essas não estavam sendo influenciadas pelos MMI durante o desenvolvimento do
1609 corpo lúteo. No entanto, a redução no diâmetro deste é um pouco mais difícil de explicar, pois
1610 a aplicação de MMI não aumentou a concentração de haptoglobina e ceruloplasmina que
1611 pudessem indicar uma reação inflamatória. Em outro estudo, Arthington et al. (2014)
1612 observaram aumento na concentração de haptoglobina, ceruloplasmina, e proteína solúvel em
1613 ácido, indicando uma reação inflamatória por aproximadamente duas semanas após a aplicação
1614 dos MMI em bezerras recém desmamadas. Uma das diferenças entre o experimento de
1615 Arthington et al. (2014) e o atual, foi a dose utilizada (aproximadamente 1 mL/44 kg de PC e
1616 1 mL/65 kg de PC, respectivamente). Assim essa menor dose utilizada no atual estudo pode
1617 não ter causado reação inflamatória suficiente para alterar as concentrações de haptoglobina e
1618 ceruloplasmina, mas pode ter afetado a concentração de citocinas pró-inflamatórias, como o

1619 fator de necrose tumoral (TNF- α) e determinadas interleucinas. Algumas destas, como a
1620 interleucina 1 pode funcionar como um inibidor da luteinização intraovariana (Adashi, 1990).

1621 Não foi identificado efeito dos MMI no PC, ECC ou mudança destes ao longo do
1622 experimento. Isso pode ter acontecido pelo fato do pasto associado ao suplemento mineral ter
1623 proporcionado um status de microminerais suficiente para o máximo desempenho destas
1624 variáveis. Segundo Genter and Hansen (2014), quando os animais passam por um período
1625 consumindo uma dieta deficiente em Zn, Mn Se e Cu e, posteriormente consomem uma dieta
1626 que atenda às exigências nutricionais, associado à aplicação de MMI, estes tendem a apresentar
1627 maior ganho de peso em relação ao controle, porém, se os animais não estão deficientes a
1628 aplicação de MMI não afeta o ganho de peso.

1629 Os MMI não alteraram a taxa de prenhez das vacas, e uma possível explicação para isso
1630 foi que a pastagem e o suplemento mineral consumido tenham atendido às exigências de
1631 microminerais para esta variável. Porém, nós acreditamos que essa ausência de efeito seja
1632 principalmente porque os MMI foram aplicados em um período muito distante (30 d) da IA.
1633 Como as enzimas antioxidantes foram aumentadas somente entre 4-13 d após a aplicação dos
1634 MMI, provavelmente o controle do estresse oxidativo no período posterior à IA, deve ter sido
1635 baixo ou não influenciado pela aplicação de MMI. Experimentos futuros devem avaliar o efeito
1636 da aplicação dos MMI sobre a concentração de citocinas pró-inflamatórias e outros indicativos
1637 de uma possível reação inflamatória. Além disso, é necessário testar a aplicação deste em um
1638 período inferior a 13 d da IA sobre a taxa de prenhez de vacas.

1639 Resumidamente, a aplicação de MMI 30 d pré-IA em vacas, aumenta a concentração
1640 das enzimas antioxidantes (SOD e GSH-Px), não altera a concentração de proteínas da fase
1641 aguda (haptoglobina e ceruloplasmina), PC, mudança de PC, ECC, mudança de ECC, diâmetro
1642 do folículo dominante, volume do corpo lúteo e taxa de prenhez, porém apresenta tendência
1643 para reduzir o diâmetro do corpo lúteo.

LITERATURA CITADA

- 1644
1645 Adashi, E. Y. 1990. The potential relevance of cytokines to ovarian physiology: the emerging
1646 role of resident ovarian cells of the white blood cell series. *Endocrinol. Rev.* 11:454-
1647 64. doi:10.1210/edrv-11-3-454.
- 1648 Agarwal, A., S. Gupta, and R. K. Sharma. 2005. Role of oxidative stress in female
1649 reproduction. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 3:1:21. doi:10.1186/1477-7827-3-28.
- 1650 AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*, 17th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg,
1651 MD.
- 1652 Arthington, J. D., P. Moriel, P. G. M. A. Martins, G.C. Lamb, and L. J. Havenga. 2014. Effects
1653 of trace mineral injections on measures of performance and trace mineral status of pre-
1654 and postweaned beef calves. *J. Anim. Sci.* 92:2630–2640. doi: 10.2527/jas.2013-7164.
- 1655 Bruno, K. A., E. S. Vanzant, K. A. Vanzant, and K. R. McLeod. 2016. Relationships of a novel
1656 objective chute score and exit velocity with growth performance of receiving cattle. *J.*
1657 *Anim. Sci.* 94:4819–4831. doi: 10.2527/jas.2016-0438.
- 1658 Cooke, R. F., J. D. Arthington, B. R. Austin, and J. V. Yelich. 2009. Effects of acclimation to
1659 handling on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-
1660 crossbred heifers. *J. Anim. Sci.* 87:3403-3412. doi: 10.2527/jas.2009-1910.
- 1661 Cooke, R. F., and J. D. Arthington. 2013. Concentrations of haptoglobin in bovine plasma
1662 determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity. *J. Anim.*
1663 *Physiol. Anim. Nutr.* 97:531–536. doi:10.1111/j.1439-0396.2012.01298x.
- 1664 Corah, L. R., and S. Ives. 1991. The Effects of Essential Trace Minerals on Reproduction in
1665 Beef Cattle. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 7:41-57. doi:10.1016/S0749-
1666 0720(15)30809-4.

- 1667 Demetriou, J. A., P. A. Drewes, and J. B. Gin. 1974. Ceruloplasmin. In: D. C. Cannon and J.
1668 W. Winkelman, editors, *Clinical chemistry*. Harper and Row, Hagerstown, MD. p. 857–
1669 864.
- 1670 Genther, O. N., and S. L. Hansen. 2014. Effect of dietary trace mineral supplementation and a
1671 multi-element trace mineral injection on shipping response and growth performance of
1672 beef cattle. *J. Anim. Sci.* 92:2522-2530. doi:10.2527/jas.2013-7426.
- 1673 Herd, D., and L. S. Sprott. 1986. Body condition, nutrition, and reproduction of beef cows.
1674 Texas A&M Univ. Ext. Bull. 1526. Texas A&M AgriLife Extension Service, College
1675 Station, TX.
- 1676 Manzano, R. P., J. Paterson, M. M. Harbac, and R.O. Lima Filho. 2012. The effect of season
1677 on supplemental mineral intake and behavior by grazing steers. *Prof. Anim. Sci.* 28:73–
1678 81. doi:10.15232/S1080-7446(15)30317-X.
- 1679 Markclund, S. 1980. Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase
1680 in human tissues and extracellular fluids. *Acta. Physiol. Scand. Suppl.* 492:19-23.
1681 PMID:6939305.
- 1682 NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci, Washington,
1683 DC.
- 1684 NRC. 2016. *Nutrient requirements of beef cattle*. 8th revised edition. Natl. Acad. Sci,
1685 Washington, DC.
- 1686 Rotruck, J. T., A. L. Pope, H. E. Ganther, A. B. Swanson, D. G. Hafeman, and W. G. Hoekstra
1687 1973. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*.
1688 doi:179:588-590. doi:10.1126/science.179.4073.588.
- 1689 Sordillo, L. M., and S. L. Aitken. 2009. Impact of oxidative stress on the health and immune
1690 function of dairy cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 128:104–109.
1691 doi:10.1016/j.vetimm.2008.10.305.

- 1692 Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral
1693 detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy*
1694 *Sci.* 74:3583–3597. doi:10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.

1695 **Tabela 1.** Composição química das forrageiras das fazendas (Faz) onde foram feitos os
 1696 experimentos.

Item	Pastagens			Exigências ¹ (NRC, 2016)
	Exp.1	Exp.2		
	Faz. Escola UFMS	Faz. Campo Verde	Exp.2 Faz. São José do Nabileque	
Matéria seca, g/kg	301,9	310,5	360,6	-
<i>g/kg de MS</i>				
Proteína bruta	64,6	71,3	45,5	-
Fibra em detergente neutro	741,7	720,3	700,6	-
Fibra em detergente ácido	415,9	347,0	383,9	-
Lignina	47,0	36,5	44,1	-
Extrato etéreo	20,4	21,8	22,5	-
Matéria mineral	82,0	86,5	75,2	-
Carboidratos não fibrosos	91,3	100,1	156,2	-
Ca	1,46	2,42	1,83	-
P	0,61	1,45	0,76	-
Na	2,24	1,85	2,61	1,0
K	10,14	10,59	7,50	7,0
Mg	1,08	1,88	2,08	2,0
<i>mg/kg de MS</i>				
Fe	42,58	177,3	113,44	50,0
Zn	19,68	31,9	11,02	30,0
Mn	104,36	138,8	88,98	40,0
Se	0,08	0,16	0,16	0,10
Cu	3,20	4,32	2,10	10,0

1697 ¹Exigências para vacas no início da lactação estabelecidas pelo NRC (2016).

1698

1699 **Tabela 2.** Níveis de garantia dos suplementos minerais em pó utilizado nas diferentes fazendas
 1700 (Faz).

Item	Suplemento mineral		
	Exp. 1 ¹	Exp.2 ²	Exp.2 ³
	Faz. Escola UFMS	Faz. Campo Verde	Faz. São José do Nabileque
<i>g/kg de matéria seca</i>			
Ca	196,0	150,0 – 220,0	139,0 – 155,0
P	90,0	81,0	80,0
Na	99,0	114,0	130,0
Mg	20,0	-	10,0
S	20,0	14,0	40,0
<i>mg/kg de matéria seca</i>			
F	900,0	810,0	800,0
Co	200,0	60,0	80,0
I	180,0	78,0	100,0
Fe	2400,0	-	-
Zn	3000,0	5250,0	5000,0
Mn	1670,0	1040,0	1040,0
Se	40,0	22,0	26,0
Cu	1200,0	1500,0	1350,0
UI/kg			
Vitamina A	150000,0	-	-
Vitamina D3	30000,0	-	-
Vitamina E	1500,0	-	-

1701 ¹Mega Fós 90 Milk (AgroMega Indústria de Alimentos Animal), Tamboara, PR, Brasil).

1702 ²Fórmula Campo Verde (MCassab Comércio e Indústria, Campo Grande, MS, Brasil).

1703 ³BellNutri (Trouw Nutrition, Mirassol, SP, Brasil).

1704 **Tabela 3.** Efeito da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) sobre as estruturas ovarianas,
 1705 peso corporal e escore de condição corporal (Exp. 1).

Item	Tratamentos ¹		EPM	P-Value ²	
	MMI	Salina		Trat	Trat × dia
Estruturas ovarianas					
Diâmetro do folículo dominante (d 0), mm	13,7	13,7	1,1	0,99	
Diâmetro do corpo lúteo (d 14), mm	30,3	35,9	2,3	0,10	
Volume do corpo lúteo (d 14), cm ³	15,5	29,2	6,0	0,12	
Peso corporal, kg ³				0,21	0,23
d -30	387,7	387,7	3,562		
d 0	396,5	388,5	3,562		
d 30	413,2	408,7	3,562		
Mudança de peso corporal, kg					
d -30 ao d 0	8,8	0,8	4,475	0,22	
d 0 ao d 30	16,7	20,2	2,783	0,39	
d -30 ao d 30	25,5	21,0	5,069	0,54	
Escore de condição corporal ⁴				0,53	0,59
d -30	4,8	4,8	0,238		
d 0	4,6	4,7	0,238		
d 30	4,2	4,6	0,238		
Mudança de escore de condição corporal					
d -30 ao d 0	-0,2	-0,1	0,263	0,79	
d 0 ao d 30	-0,4	-0,1	0,227	0,36	
d -30 ao d 30	-0,6	-0,2	0,316	0,38	

1706 ¹MMI, microminerais injetáveis (6 mL/animal), Salina, injeção de solução salina (6
 1707 mL/animal).

1708 ²Trat, tratamento; Trat × dia, interação entre tratamento e dia.

1709 ³Efeito de dia ($P < 0,01$), com médias de 387,7^b, 392,5^b e 410,9^a ($\pm 2,519$) kg para d 0, d 30 e
 1710 d 60 respectivamente.

1711 ⁴Avaliado de acordo com Herd and Sprott (1986). Não houve efeito de dia ($P = 0,16$).

1712 **Figura 1.** Efeito na concentração de superóxido dismutase (Figura 1a) e glutathione peroxidase
1713 (Figura 1b) no Exp. 1. MMI, microminerais injetáveis (6 mL/animal), Salina, injeção de
1714 solução salina (6 mL/animal). Para superóxido dismutase não houve efeito de tratamento ($P =$
1715 $0,21$), porém houve efeito de dia ($P < 0,01$) e interação tratamento \times dia ($P = 0,01$). Para
1716 glutathione peroxidase, houve efeito de tratamento ($P = 0,05$), dia ($P < 0,01$) e interação
1717 tratamento \times dia ($P < 0,01$). * $P \leq 0,05$.

1718

1719 **Figura 2.** Efeito na concentração de haptoglobina (Figura 2a) e ceruloplasmina (Figura 2b) no
1720 Exp. 1. MMI, microminerais injetáveis (6 mL/animal), Salina, injeção de solução salina (6
1721 mL/animal). Para haptoglobina não houve efeito de tratamento ($P = 0,45$), dia ($P = 0,40$) ou
1722 interação tratamento \times dia ($P = 0,46$). Para ceruloplasmina não houve efeito de tratamento (P
1723 $= 0,78$), ou interação tratamento \times dia ($P = 0,92$), porém houve efeito de dia ($P < 0,01$).

1724

1725 **Figura 3.** Efeito sobre a taxa de prenhez no Exp. 1 e Exp. 2 (analisados conjuntamente). MMI,
1726 microminerais injetáveis (6 mL/animal), Salina, injeção de solução salina (6 mL/animal).
1727 Barras verticais representam o EPM. Valores na parte inferior das colunas representam o
1728 LSMEANS. Valores entre parênteses representam o número de vacas prenhez/número de vacas
1729 submetidas a IATF. Não houve efeito de tratamento ($P = 0,15$).

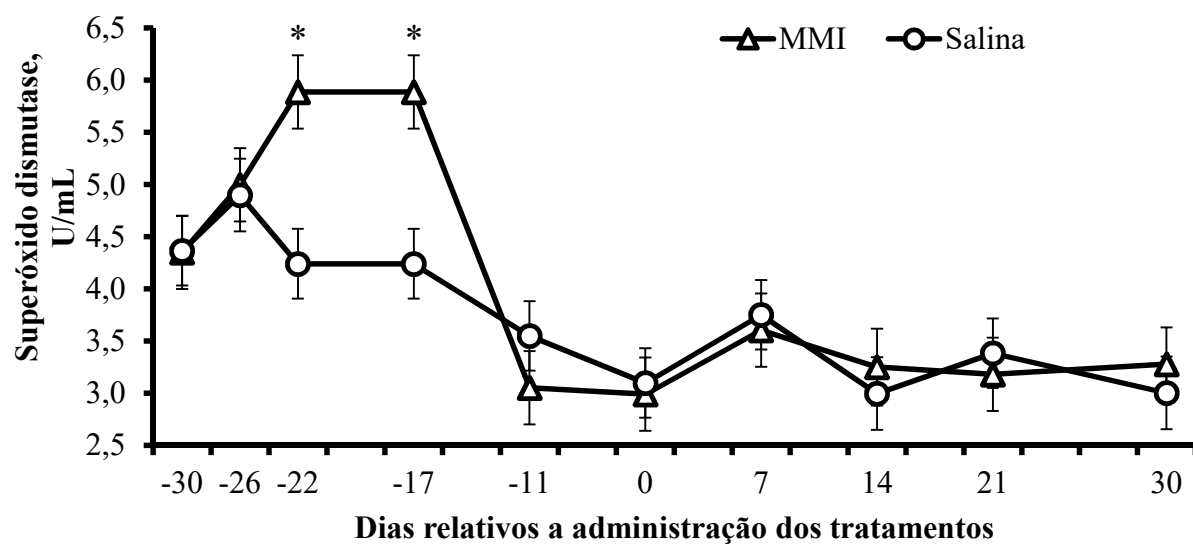
1730

1731

1732

1733 Figura 1a

1734



1735

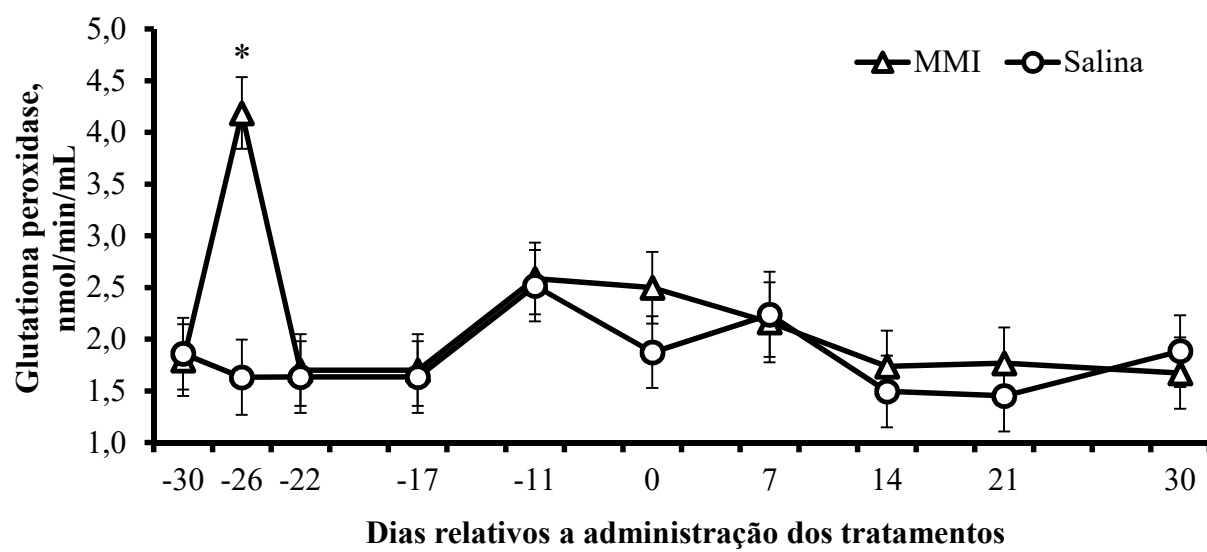
1736

1737

1738

1739 Figura 1b

1740

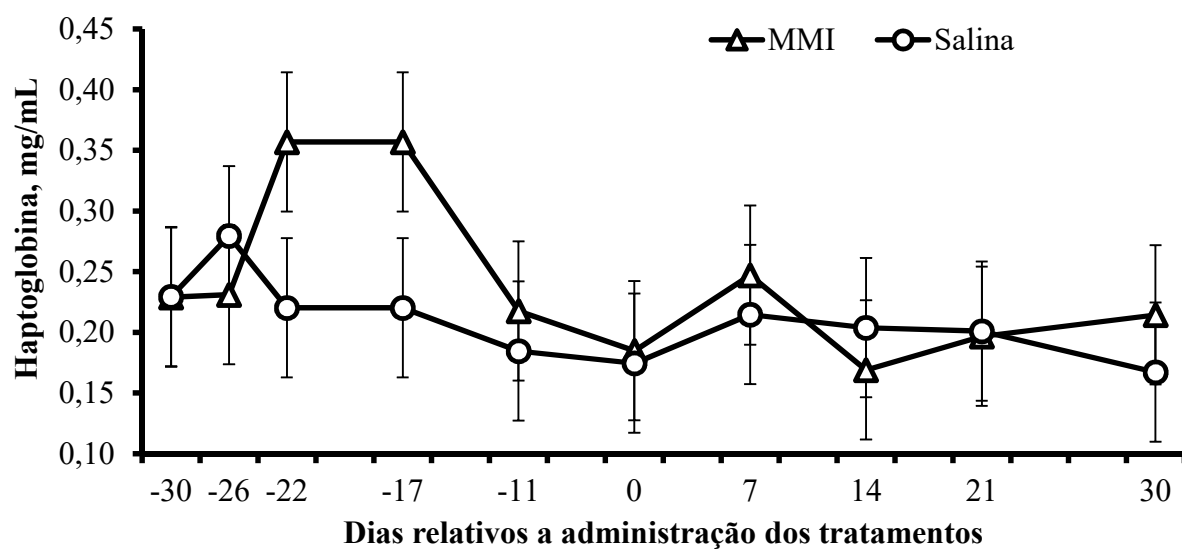


1741

1742

1743 Figura 2a

1744



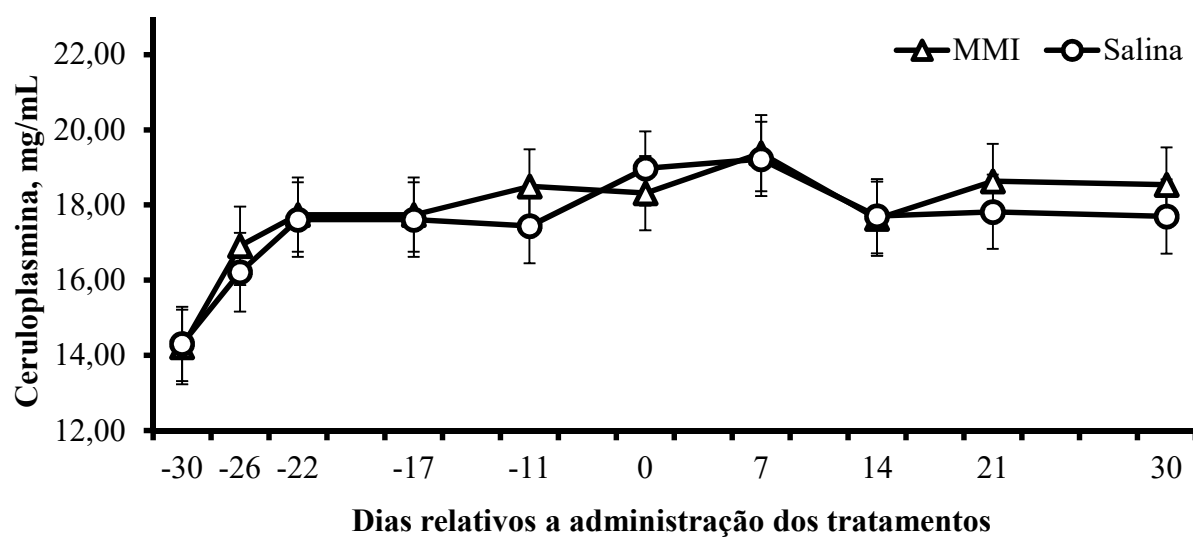
1745

1746

1747

1748 Figura 2b

1749



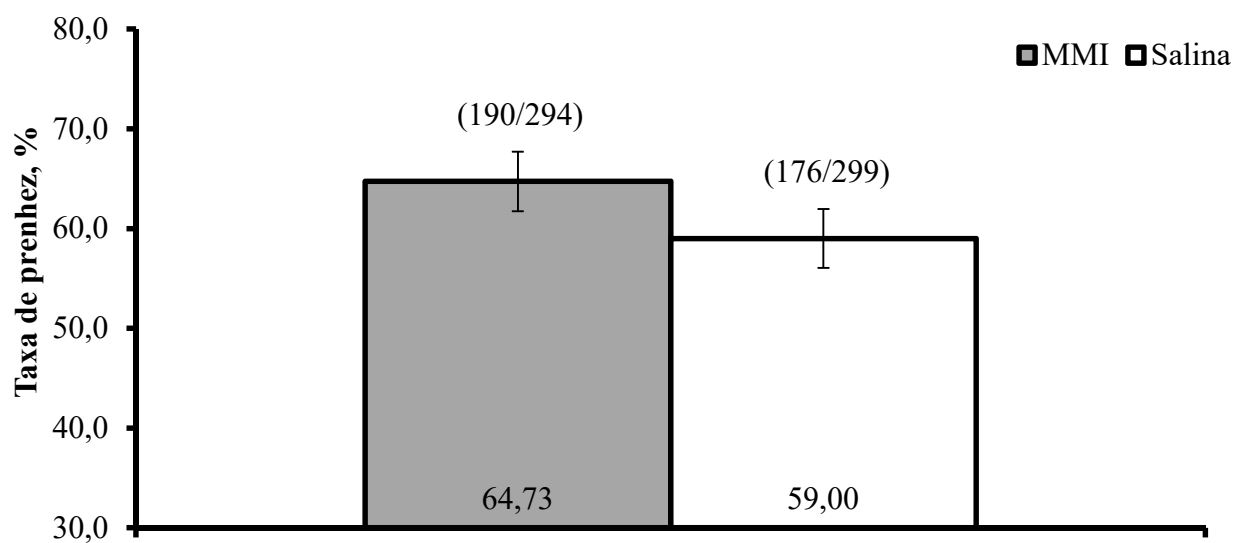
1750

1751

1752

1753 Figura 3

1754



1755

1756

1757

1758 **CAPÍTULO 5 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS 11 DIAS PRÉ-IATF SOBRE A**
1759 **CONCENTRAÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES, PROTEÍNAS DA FASE**
1760 **AGUDA, DINÂMICA DAS ESTRUTURAS OVARIANAS E TAXA DE PREENHEZ**
1761 **EM VACAS NELORE**

1762

1763

1764

1765

O artigo a seguir está redigido de acordo com as exigências para publicação no periódico *Journal of Animal Science* excetuando-se o idioma.

1766 *Running Head: microminerais injetáveis e reprodução*

1767

1768 **Microminerais injetáveis 11 dias pré-IATF sobre a concentração de enzimas**

1769 **antioxidantes, proteínas da fase aguda, dinâmica das estruturas ovarianas e taxa de**

1770

preñez em vacas Nelore

1771

1772

M. Vedovatto,† G. L. Franco†¹

1773

1774

1775 †Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do

1776

Sul, Av. Senador Filinto Muller, nº. 2443, Campo Grande/MS, Brasil, 79070-900.

1777

¹Autor para correspondência: gumercindo.franco@ufms.br

1778

1779

1780

1781

1782

1783

1784 **RESUMO:** Dois experimentos foram conduzidos com os objetivos de avaliar o efeito da
1785 aplicação de microminerais (Zn, Mn, Se e Cu) injetáveis (**MMI**) 11 d pré-inseminação artificial
1786 (**IA**) sobre a concentração de enzimas antioxidantes, proteínas da fase aguda, dinâmica das
1787 estruturas ovarianas, peso corporal (**PC**), escore de condição corporal (**ECC**) e taxa de prenhez
1788 em vacas Nelore. No Exp. 1 foram utilizadas 20 vacas múltiparas com $ECC(1-9) = 4,7 \pm 0,6$
1789 e $PC = 396,7 \pm 23,9$ kg, mantidas em pastagem e recebendo suplemento mineral em pó *ad*
1790 *libitum*. Estas foram divididas pelo ECC e PC em dois tratamentos: 1) injeção de solução salina
1791 (**Salina**; 6 mL/animal) ou de MMI (6 mL/animal), ambos aplicados no d -11. As vacas tiveram
1792 o estro sincronizado por um protocolo de IA (d -11 ao d 0) em tempo fixo (**IATF**) e foram
1793 inseminadas no d 0, e realizado o diagnóstico de gestação no d 30. As estruturas ovarianas
1794 foram avaliadas no d 0 (diâmetro do folículo dominante) e 14 (diâmetro do corpo lúteo) e
1795 fizeram-se colheitas de sangue nos d -11, -9, -4, 0, 7, 14, 21 e 30 para análise de superóxido
1796 dismutase (**SOD**), glutathiona peroxidase (**GSH-Px**), haptoglobina e ceruloplasmina. No Exp.
1797 2 foram avaliadas 1144 vacas com aproximadamente 400 kg de PC, e ECC de $5,0 \pm 0,7$,
1798 localizadas em três fazendas comerciais, mantidas em pastagens e recebendo suplemento
1799 mineral em pó *ad libitum*. Estas foram divididas pelo ECC em dois tratamentos e sincronizadas
1800 para IATF como descrito no Exp.1. A única variável avaliada nesse experimento foi a taxa de
1801 prenhez no d 30 e os dados foram analisados em conjunto com os do Exp. 1. A aplicação de
1802 MMI tendeu a aumentar ($P = 0,06$) as concentrações de SOD do d -4 a 30 e aumentou ($P <$
1803 $0,01$) a concentração de GSH-Px nos d -9 e -4 em relação a injeção Salina. A injeção de MMI
1804 não afetou as ($P > 0,05$) concentrações de haptoglobina e ceruloplasmina, PC, mudança de PC
1805 e diâmetro do folículo dominante, porém reduziram o diâmetro ($P = 0,05$) e volume ($P = 0,03$)
1806 do corpo lúteo em relação a injeção Salina. A injeção de MMI tendeu a aumentar o ECC ($P =$
1807 $0,06$) e apresentar 0,6 ponto a mais de ECC ($P = 0,06$) do d -11 a 30, e de aumentar ($P = 0,08$)
1808 5,15 % a de taxa de prenhez em relação à injeção Salina. Assim, a aplicação de MMI tendeu a

1809 aumentar a concentração de enzimas antioxidantes, ECC e a taxa de prenhez, não altera as
1810 proteínas da fase aguda e o PC, porém, reduz o diâmetro e o volume do corpo lúteo de vacas.

1811

1812 **Palavras-chave:** corpo lúteo, ceruloplasmina, enzimas antioxidantes, estresse oxidativo,
1813 haptoglobina, reprodução.

1814

1815

INTRODUÇÃO

1816

1817 A aplicação de microminerais injetáveis (**MMI**) tem sido uma estratégia utilizada pelos
1818 pecuaristas para fornecer uma quantidade conhecida de microminerais para todos os animais
1819 de um mesmo rebanho, evitando problemas de flutuação no consumo e de antagonistas da dieta,
1820 que normalmente ocorrem com o consumo de mistura mineral em pó por bovinos (Arthington
1821 et al., 2014). Para vacas de corte, se recomenda a aplicação de microminerais injetáveis
1822 aproximadamente 30 d anteriormente a inseminação artificial (**IA**) ou o início da estação de
1823 monta (Multimin, Fort Collins, CO), e alguns trabalhos que seguiram essa recomendação
1824 observaram aumento na taxa de prenhez (Mundell et al., 2012; Stokes et al., 2017-Exp.2)
1825 enquanto outros não encontraram diferença (Willmore et al., 2015; Stokes et al., 2017-Exp.1 e
1826 3).

1827 Uma das principais funções dos microminerais no corpo é ser componente de enzimas
1828 antioxidantes, e o Zn, Mn e o Cu são componentes da superóxido dismutase (**SOD**) e o Se da
1829 glutathiona peroxidase (**GSH-Px**), ambas essenciais para o controle do estresse oxidativo nas
1830 células (Sordillo and Aitken, 2009). As espécies reativas de oxigênio (ROS) podem afetar a
1831 reprodução, pois alteram múltiplos processos fisiológicos desde a maturação do oócito até a
1832 fertilização, sobrevivência e desenvolvimento embrionário e manutenção da prenhez (Agarwal
1833 et al., 2005). Porém, a utilização de MMI se mostrou eficiente em aumentar a concentração de
1834 SOD (Tomasi et al., 2018) e de GSH-Px (Pogge et al., 2012) por, no máximo 10 e 15 d após a
1835 aplicação, respectivamente. Nossa hipótese foi que a aplicação de MMI 11 d pré-IA possa ser
1836 mais eficiente em aumentar o desempenho reprodutivo do que as aplicações que são
1837 comumente feitas 30 d pré-IA, por possibilitar maior controle do estresse oxidativo no período
1838 posterior a IA.

1839 Para vacas submetidas à IATF, a recomendação de aplicar os MMI 30 d pré-IA resulta
1840 em um manejo a mais no curral, aumentando a mão-de-obra e o estresse dos animais. Vários

1841 protocolos de IATF iniciam entre 10 a 11 d pré-IA e, assim, se a aplicação dos MMI coincidir
1842 com o início do protocolo de IATF pode-se reduzir os custos operacionais e as interações
1843 negativas com os animais. Desta forma, dois experimentos foram conduzidos para avaliar o
1844 efeito da aplicação de MMI 11 d pré-IA sobre a produção de enzimas antioxidantes, proteínas
1845 da fase aguda, dinâmica das estruturas ovarianas, peso corporal (PC), e escore de condição
1846 corporal (ECC; Exp. 1 e 2), além da taxa de prenhez (Exp. 2) em vacas Nelore pastejando
1847 gramíneas tropicais.

1848

1849

MATERIAL E MÉTODOS

1850 Este estudo foi conduzido de acordo com os padrões éticos aplicados à pesquisa com
1851 animais e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de
1852 Mato Grosso do Sul (UFMS) sob o protocolo nº 754/2016.

1853

Animais, tratamentos e colheita de amostras

1854 *Experimento 1.* Foi conduzido na Fazenda Escola da Faculdade de Medicina
1855 Veterinária e Zootecnia da UFMS, Terenos, Mato Grosso do Sul, Brasil (20°26'50.8"S
1856 54°50'21.5"W). Foram selecionadas 20 vacas multíparas da raça Nelore com ECC (escala de
1857 1-9) = $4,7 \pm 0,6$ e PC = $396,7 \pm 23,9$ kg. Todas as vacas apresentavam corpo lúteo ou folículo
1858 dominante > 7,0 mm no início do experimento. O estudo teve duração de 41 d (19 de dezembro
1859 de 2016 a 29 de janeiro de 2017) e compreendeu o período de 11 d anterior (d -11) à IA (d 0)
1860 e 30 d após (d 30).

1861 Os animais foram alojados em um único piquete de 12 ha formado com capim-marandú
1862 [*Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster, cv. Marandu; Tabela 1] e tiveram
1863 livre acesso à água e suplemento mineral (Tabela 2). A qualidade das forrageiras foi avaliada
1864 através de colheitas manuais, simulando o pastejo, em três momentos (d -11, 0 e 30) e, na
1865

1866 sequência, foram secas em estufa de ventilação a 60°C por 5 d, moídas a 1 mm, formada uma
1867 única amostra composta e posteriormente analisada a composição química.

1868 Os animais foram divididos pelo ECC e PC em dois tratamentos: 1) injeção de solução
1869 salina (**Salina**; 6 mL/animal) ou MMI (6 mL/animal) e ambos foram aplicados no d -11. Os
1870 MMI apresentavam 60 mg de Zn/mL, 10 mg de Mn/mL, 5 mg de Se/mL, e 15 mg de Cu/mL
1871 (Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO).

1872 Todas as vacas tiveram o estro sincronizado para IATF por um protocolo de 11 d (d -
1873 11 ao d 0) e todas possuíam corpo lúteo no início deste. No d -11 foi administrado na forma
1874 injetável [intramuscular (IM)] 2,0 mg de benzoato de estradiol (IM; Gonadiol; Zoetis, São
1875 Paulo, Brasil) e inserção de dispositivo intravaginal, de primeiro uso, contendo 1,9 g de
1876 progesterona (CIDR; Zoetis, São Paulo, Brasil). No d -2 foi realizada a remoção do dispositivo
1877 de progesterona, injeção de 12,5 mg de PGF_{2α} (IM; Lutalyse; Zoetis, São Paulo, Brasil), 1,0 mg
1878 de cipionato de estradiol (IM; ECP; Zoetis, São Paulo, Brasil) e 300 UI de eCG (IM;
1879 Novormon; Zoetis, São Paulo, Brasil). No d 0 todas as vacas foram inseminadas por um único
1880 inseminador e com sêmen do mesmo touro Nelore. No d 30 foi realizado o diagnóstico de
1881 gestação por ultrassonografia transretal (Mindray DP 2200 VET com transdutor de 7,5 MHz,
1882 Shenzhen, China).

1883 As estruturas ovarianas foram avaliadas por ultrassonografia transretal (Mindray DP
1884 2200 VET com transdutor de 7,5 MHz, Shenzhen, China), sendo mensurados os diâmetros
1885 (mm) do folículo dominante no d 0 e do corpo lúteo no d 14. O volume (cm³) do corpo lúteo
1886 foi calculado utilizando-se a fórmula para volume da esfera [$V=4/3\pi(D/2)^3$ onde D é o máximo
1887 diâmetro (mm) do corpo lúteo (Cooke et al., 2009)]. O PC e ECC foram mensurados nos d -
1888 11, 0 e 30, e o ECC avaliado de acordo com Herd and Sprott, (1986) por um único avaliador
1889 blindado para os tratamentos.

1890 Colheu-se sangue na veia caudal mediana nos d -11, -9, -4, 0, 7, 14, 21 e 30 em um tubo
1891 a vácuo (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) contendo heparina sódica (10
1892 mL). Após a colheita os tubos foram imediatamente armazenados em caixa térmica com gelo
1893 e, posteriormente, centrifugados a $1200 \times g$ por 30 min para obtenção do plasma, que foi
1894 armazenado a -20°C para posteriores análises das concentrações das enzimas SOD, GSH-Px,
1895 haptoglobina e ceruloplasmina.

1896 **Experimento 2.** Foi conduzido em três fazendas comerciais localizadas no estado do
1897 Mato Grosso do Sul, Brasil, no período de outubro de 2016 a março de 2017, com 1144 vacas
1898 múltíparas da raça Nelore, com aproximadamente 400 kg de PC, e com ECC de $5,0 \pm 0,7$. A
1899 Fazenda São José do Nabileque está localizada em Corumbá, MS, Brasil ($20^{\circ}05'49.9''\text{S}$
1900 $57^{\circ}20'41.4''\text{W}$) e, nesta, foram avaliadas 425 vacas, mantidas três lotes (203, 93 e 129 vacas
1901 por lote) com a forrageira capim-humidícola [*Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone &
1902 Zuloaga]. A Fazenda Campo Verde está localizada em Jaraguari, MS, Brasil ($20^{\circ}24'29.8''\text{S}$
1903 $54^{\circ}05'25.3''\text{W}$) e, nesta, foram avaliadas 192 vacas mantidas em um único lote com a forrageira
1904 capim-marandú [*Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster, cv. Marandu]. A
1905 Fazenda Seriema está localizada em Miranda, MS, Brasil ($20^{\circ}24'02.0''\text{S}$ $56^{\circ}18'11.2''\text{W}$) e,
1906 nesta, foram avaliadas 527 vacas, mantidas em quatro lotes (140, 137, 122 e 128 vacas por lote)
1907 com a forrageira capim-decumbens [*Urochloa decumbens* (Stapf) R.D. Webster]. O método de
1908 pastejo nas três fazendas foi o rotacionado e todos os animais tinham livre acesso à água e
1909 suplemento mineral em pó (Tabela 2). A qualidade das forrageiras foi avaliada através de
1910 colheitas manuais realizadas em 3 momentos (d -11, 0 e 30) e na sequência foram secas em
1911 estufa de ventilação a 60°C por 5 d, moídas a 1 mm, formada uma única amostra composta por
1912 fazenda e posteriormente analisada a composição química.

1913 Os animais foram divididos aleatoriamente em dois tratamentos: 1) Salina (6
1914 mL/animal) ou MMI (6 mL/animal), ambos aplicados no d -11. A composição dos MMI e o

1915 protocolo de IATF é o mesmo que foi descrito no experimento 1. Em cada lote as vacas foram
1916 inseminadas com sêmen de um único touro Nelore ou Angus, pelo mesmo inseminador. No d
1917 30 foi realizado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia (Mindray DP 2200 VET com
1918 transdutor de 7,5 MHz, Shenzhen, China) e a única variável avaliada nesse experimento foi a
1919 taxa de prenhez.

1920

1921 *Análises laboratoriais*

1922 As forrageiras foram analisadas de acordo com AOAC (2000): matéria seca, método
1923 930.15; proteína bruta (**PB**), método 976.05; extrato etéreo (**EE**), método 920.39 e matéria
1924 mineral (**MM**), método 942.05. A concentração de fibra em detergente neutro (**FDN**), fibra em
1925 detergente ácido e lignina foram feitas de acordo com a metodologia de Van Soest et al. (1991)
1926 e os carboidratos não fibrosos (**CNF**) calculados de acordo com o NRC (2001): $CNF (\%) =$
1927 $100 - (\% FDN + \% PB + \% EE + \% MM)$. Todas as análises da concentração de minerais
1928 foram feitas pelo Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Pantanal (Corumbá, MS,
1929 Brasil), com exceção do Se que foi analisado pelo Laboratório de Minerais da Universidade de
1930 São Paulo (Pirassununga, SP, Brasil).

1931 As enzimas SOD e GSH-Px foram determinadas por meio de kits comerciais para
1932 ELISA (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI; número dos catálogos 706002 e 703102,
1933 respectivamente). A concentração de haptoglobina foi analisada conforme descrito por Cooke
1934 and Arthington (2013) e de ceruloplasmina conforme descrito por Demetriou et al. (1974). Os
1935 coeficientes de variação inter e intra-ensaios para SOD foram 4,6 e 6,7%, GSH-Px, 4,9 e 9,1%,
1936 haptoglobina, 3,9 e 9,4% e ceruloplasmina, 2,0 e 4,3%, respectivamente.

1937

1938 *Análises estatísticas*

1939 As variáveis SOD, GSH-Px, haptoglobina, ceruloplasmina, estruturas ovarianas, PC,
1940 mudança de PC, ECC, mudança de ECC, foram analisadas pelo procedimento MIXED do SAS
1941 (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA, versão 9,4) com a aproximação Satterthwaite para determinar
1942 os graus de liberdade do denominador para efeitos fixos. Os modelos estatísticos para as
1943 estruturas ovarianas, mudança de PC e mudança de ECC continuam como efeito fixo
1944 tratamento e, como variável aleatória, vaca (tratamento). Os modelos estatísticos para SOD e
1945 GSH-Px, haptoglobina, ceruloplasmina, PC e ECC continuam como efeito fixo tratamento, dia
1946 e a interação e, como variável aleatória, vaca (tratamento). O termo específico para medidas
1947 repetidas foi dia, e para sujeito, vaca (tratamento). Para estas, os resultados do d 0 foram
1948 incluídos como covariáveis em cada respectiva análise, porém a variável haptoglobina
1949 apresentou $P > 0,10$ para covariável e, assim, os valores de d 0 foram retirados do modelo. Foi
1950 escolhida a estrutura de covariância que melhor se ajustou aos dados pelo menor critério de
1951 informação de Akaike em cada análise. As estruturas de covariância utilizadas foram toepliz
1952 (haptoglobina), e autoregressiva de ordem 1 (SOD e GSH-Px, ceruloplasmina, PC e ECC).

1953 A taxa de prenhez foi analisada pelo procedimento GLIMMIX do SAS (SAS Inst. Inc.,
1954 Cary, NC, USA, versão 9,4) com a aproximação Satterthwaite para determinar os graus de
1955 liberdade do denominador para efeitos fixos. Os modelos estatísticos continuam como efeito
1956 fixo o tratamento, e como variável aleatória, vaca (tratamento \times lote) e lote. Para esta análise,
1957 os dados do experimento 1 (20 vacas) e experimento 2 (1144 vacas) foram analisados
1958 conjuntamente.

1959 Para todas as análises a função pdiff foi utilizada quando detectada significância no
1960 teste-F e todos os resultados são reportados como LSMEANS seguidos por EPM. A
1961 significância foi definida quando $P \leq 0,05$, e tendências quando $P > 0,05$ e $\leq 0,10$.

1962

RESULTADOS

1963

1964 **Experimento 1 – enzimas, variáveis de dinâmica ovariana, PC e ECC.** Houve efeito
1965 de tratamento ($P = 0,02$), dia ($P < 0,01$) e tendência para interação entre tratamento \times dia ($P =$
1966 $0,06$) para a concentração de SOD. A aplicação de MMI tendeu a aumentar a concentração de
1967 SOD desde o d -4 até o final do experimento (d 30) em relação à Salina (Figura 1a). Para a
1968 concentração de GSH-Px houve efeito de tratamento ($P < 0,01$), dia ($P < 0,01$) e interação
1969 tratamento \times dia ($P < 0,01$). A aplicação de MMI aumentou a concentração de GSH-Px somente
1970 nos d -9 e d -4 em relação à Salina (Figura 1b). Para a concentração de haptoglobina não houve
1971 efeito de tratamento ($P = 0,42$), dia ($P = 0,57$) ou interação tratamento \times dia ($P = 0,43$; Figura
1972 2a) e, para ceruloplasmina, também não houve efeito de tratamento ($P = 0,45$), dia ($P = 0,15$)
1973 ou interação tratamento \times dia ($P = 0,79$; Figura 2b).

1974 A aplicação de MMI não alterou o diâmetro do folículo dominante ($P = 0,29$), porém
1975 reduziu o diâmetro do corpo lúteo ($P = 0,05$) e o volume do corpo lúteo ($P = 0,03$). Para PC
1976 não houve interação entre tratamento \times dia ($P = 0,68$), porém houve efeito de dia ($P < 0,01$) e
1977 não foi observado efeito de tratamento para PC ou mudança de PC ao longo do experimento (P
1978 $> 0,05$; Tabela 3). Para ECC foi observada tendência ($P = 0,06$) para os animais do grupo MMI
1979 apresentarem maior ECC, houve efeito de dia ($P = 0,02$) e não foi observada interação entre
1980 tratamento \times dia ($P = 0,22$; Tabela 3). Para mudança de ECC não foi observado efeito de
1981 tratamento quando avaliado entre o d -11 ao d 0 ($P = 0,22$) e do d 0 ao d 30 ($P = 0,75$), porém,
1982 quando analisado o período todo do experimento (d -11 ao d 30) houve tendência ($P = 0,06$)
1983 para os animais do grupo Salina perderem 0,6 ponto de ECC em relação ao MMI.

1984 **Experimento 1 e 2 – taxa de prenhez.** No experimento 1, das 10 vacas de cada
1985 tratamento, 7 e 6 vacas ficaram prênes para os grupos MMI e Salina, respectivamente. Quando
1986 os dados dos experimentos 1 e 2 foram analisados conjuntamente, houve tendência ($P = 0,08$)
1987 para os animais que receberam MMI aumentarem 5,15 % a taxa de prenhez (Figura 3).

DISCUSSÃO

1988

1989 A aplicação de MMI causou aumento da concentração da enzima SOD, metaloenzima
1990 importante para o controle do estresse oxidativo nas células (Sordillo and Aitken, 2009). O
1991 aumento ocorreu porque o Zn, Mn e o Cu que estavam presentes nos MMI, são componentes
1992 da SOD que é encontrada no corpo na forma de Cu/Zn-SOD e Mn-SOD (Markclund, 1980).
1993 Esse aumento da concentração por 41 d após a aplicação dos MMI, contraria as observações
1994 encontradas na literatura, de que quando aplicado Zn e Cu na forma injetável em bezerras, a
1995 concentração de SOD foi aumentada somente por até 10 d (Tomasi et al., 2018). Porém após a
1996 aplicação dos MMI, os microminerais são temporariamente armazenados no fígado, e a
1997 concentração de Zn, pode permanecer superior neste órgão por até 79 d (Niedermayer et al.,
1998 2017), e de Cu por até 100 d (Arthington et al., 2014). No presente experimento, o maior aporte
1999 de Zn e Cu fornecidos pela aplicação de MMI, pode ter sido armazenado no fígado por mais
2000 de 41 d, e possibilitado que maior quantidade de SOD fosse produzida nesse período. A
2001 concentração de GSH-Px foi aumentada entre 4 a 7 d após a aplicação de MMI, e isso deve ter
2002 acontecido devido ao maior aporte de Se que é componente da GSH-Px (Rotruck et al., 1973).
2003 O menor período de resposta da GSH-Px em relação a SOD pode ter acontecido devido aos
2004 animais estarem com um status inicial de Se baixo quando foi aplicado os MMI e, assim, esses
2005 foram utilizados mais rapidamente que o Zn, Mn e Cu.

2006 A aplicação de MMI não alterou a concentração de haptoglobina, que é uma proteína
2007 da fase aguda. Apesar dessa enzima teoricamente não ter relação com Zn, Mn, Se e Cu
2008 presentes no MMI, Arthington et al. (2014) observaram aumento da concentração de
2009 haptoglobina por 6 a 10 d após a aplicação de MMI, indicando uma possível reação
2010 inflamatória. Essas informações corroboram com as do presente estudo que não observaram
2011 reação inflamatória no local da aplicação do produto. Os MMI também não alteraram a
2012 concentração de ceruloplasmina no presente estudo. Esta é uma proteína da fase aguda Cu-

2013 dependente, e bovinos com maior status de Cu, oriundo da aplicação de MMI, podem
2014 apresentar maiores concentrações de ceruloplasmina em resposta a algum evento estressante
2015 (Arthington et al., 2014). Apesar das forrageiras utilizadas nesse experimento possuírem baixa
2016 concentração de Cu, o fornecimento de suplemento mineral pode ter proporcionado um status
2017 de Cu suficiente para a máxima produção de ceruloplasmina em resposta ao estresse (causado
2018 pela aplicação do MMI, colheitas de sangues e protocolo de IATF) e, assim, o complemento
2019 de Cu pelos MMI possivelmente não foi necessário.

2020 A aplicação de MMI causou redução no diâmetro e no volume do corpo lúteo. Esse
2021 efeito não era esperado, pois nossa hipótese era que o maior aporte de enzimas antioxidantes
2022 proporcionadas pela aplicação de MMI reduziria a concentração de espécies reativas de
2023 oxigênio no ovário e, isso, poderia inclusive aumentar o tamanho do corpo lúteo. A redução no
2024 diâmetro/volume do corpo lúteo pode ter acontecido por uma possível reação inflamatória
2025 causada pelos MMI, apesar destes não terem alterado a concentração de haptoglobina,
2026 ceruloplasmina ou causado edema no local de injeção que pudessem ser indicativos desta.
2027 Arthington et al. (2014) avaliaram a aplicação de uma dose maior do a que foi utilizada no
2028 atual experimento (aproximadamente 1 mL/44 kg de PC e 1 mL/66 kg de PC para Arthington
2029 et al., 2014 e o atual, respectivamente) e observaram aumento na concentração de haptoglobina,
2030 ceruloplasmina, e proteína solúvel em ácido, indicando uma reação inflamatória por
2031 aproximadamente duas semanas após a aplicação dos MMI. A menor dose utilizada no nosso
2032 estudo pode não ter causado reação inflamatória suficiente para alterar as concentrações de
2033 haptoglobina e ceruloplasmina, mas pode ter afetado a concentração de citocinas pró-
2034 inflamatórias. Várias destas são alteradas em resposta a inflamação, como, interleucinas (IL)-
2035 1, IL-2, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF- α) e interferons e estes podem causar alterações
2036 fisiológicas no ovário (Norman and Brannstrom, 1996). Algumas destas, como a IL-1 podem

2037 funcionar como um inibidor da luteinização intraovariana (Adashi, 1990). Porém no atual
2038 experimento não foram quantificadas as concentrações destas citocinas no plasma.

2039 Os tratamentos não afetaram o PC ou a mudança deste, porém os animais do grupo
2040 MMI apresentaram tendência para possuir maior ECC durante o experimento. Os animais do
2041 grupo MMI tenderam a ganhar ECC durante o d-11 ao 30, enquanto os animais do grupo Salina
2042 tenderam a perder ECC nesse mesmo período. Na literatura são encontrados estudos com
2043 bovinos em crescimento que mostram que os MMI podem aumentar ou apresentar tendência
2044 de aumentar o GMD (Arthington et al., 2014; Genther and Hansen, 2014; Harsh et al., 2018),
2045 porém como os animais do presente estudo já haviam atingido a maturidade, o efeito dos MMI
2046 pode ter sido expressado em maior deposição de tecido adiposo.

2047 Uma explicação plausível que justifique o maior ECC nos animais do grupo MMI é que
2048 estes podem ter apresentado maior consumo de forragem. Em um experimento com novilhas
2049 confinadas, a aplicação de MMI apresentou tendência para aumentar o consumo de matéria
2050 seca (CMS) de uma dieta contendo alta quantidade de vitamina E (Harsh et al., 2018). Além
2051 disso, Genther and Hansen (2014) observaram que, quando novilhos passam por um período
2052 consumindo uma dieta deficiente em Zn, Mn, Se e Cu e, posteriormente, passam por um evento
2053 estressante causado pelo transporte, quando retornam ao confinamento apresentam menor
2054 CMS em relação aos animais que estavam consumindo uma dieta com concentrações de Zn,
2055 Mn, Se e Cu que atendessem ou excedessem às exigências. No presente estudo, as vacas
2056 possivelmente passaram por altos níveis de estresse causado pelos manejos de aplicação dos
2057 tratamentos, colheitas e protocolo de IATF e, assim, os MMI podem ter ajudado a manter o
2058 consumo de forragem e de suplemento mineral nestas.

2059 A aplicação de MMI tendeu a aumentar 5,1 % a taxa de prenhez das vacas. Isso pode
2060 ter acontecido devido aos MMI terem aumentado a concentração da enzima antioxidante SOD
2061 do d -4 a 30 e, assim ter possibilitado maior controle do estresse oxidativo nos órgãos

2062 reprodutivos das vacas no período posterior à IA. Eventos estressantes como o causado pelo
2063 transporte tem causado aumento na concentração sérica de malondialdeído (**MDA**; que é um
2064 marcador da peroxidação lipídica) e reduzido a capacidade antioxidante total (Chirase et al.,
2065 2004), e isso também pode ter acontecido com as vacas deste experimento, devido ao estresse
2066 que estas passaram nesse período. Conforme descrito por Agarwal et al. (2005), as espécies
2067 reativas de oxigênio afetam múltiplos processos fisiológicos desde a maturação do oócito até a
2068 fertilização, sobrevivência e desenvolvimento embrionário e manutenção da prenhez. A maior
2069 proporção das mortes embrionárias ocorre nos primeiros 21 d após a inseminação (Inskeep and
2070 Dailey, 2005) e, dentro desta, a fase mais susceptível à mortalidade é durante o
2071 desenvolvimento do estágio de mórula a blastocisto, nos d 5 a 8 após a inseminação (Maurer
2072 and Chenault, 1983). Logo, o maior controle do estresse oxidativo nessa fase proporcionado
2073 pela aplicação de MMI pode ser o responsável pela tendência de aumento na taxa de prenhez
2074 das vacas. Outra variável que pode ter contribuído para o aumento na taxa de prenhez nas vacas
2075 do grupo MMI foi o maior ECC em relação às do grupo Salina. O ECC é um indicativo das
2076 reservas energéticas do animal e, vacas com maiores ECC, podem apresentar maior
2077 concentração dos hormônios fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I) e leptina
2078 no plasma, e estes tem sido associado com melhora no desempenho reprodutivo (Meikle et al.,
2079 2004).

2080 Resumidamente, os principais efeitos encontrados com a aplicação de MMI foi de que
2081 esta aumentou a concentração das enzimas antioxidantes (SOD e GSH-Px), apresentou
2082 tendência para aumentar o ECC e a taxa de prenhez, não alterou as proteínas da fase aguda
2083 (haptoglobina e ceruloplasmina), o PC e o diâmetro do folículo dominante, porém reduziu o
2084 diâmetro e o volume do corpo lúteo em relação aos animais do grupo Salina. Experimentos
2085 futuros devem avaliar o efeito da aplicação dos MMI sobre a concentração de citocinas pró-
2086 inflamatórias e outros indicativos de uma possível reação inflamatória. Além disso, é

2087 interessante descobrir qual foi o componente dos MMI que causou essa redução no diâmetro e
2088 volume do corpo lúteo para que alterações possam ser feitas na composição e possibilitar
2089 aumento na eficiência deste.

2090

2091

LITERATURA CITADA

2092 Adashi, E. Y. 1990. The potential relevance of cytokines to ovarian physiology: the emerging
2093 role of resident ovarian cells of the white blood cell series. *Endocrinol. Rev.* 11:454-
2094 64. doi:10.1210/edrv-11-3-454.

2095 Agarwal, A., S. Gupta, and R. K. Sharma. 2005. Role of oxidative stress in female
2096 reproduction. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 3:1:21. doi:10.1186/1477-7827-3-28.

2097 AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*, 17th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg,
2098 MD.

2099 Arthington, J. D., P. Moriel, P. G. M. A. Martins, G. C. Lamb, and L. J. Havenga. 2014. Effects
2100 of trace mineral injections on measures of performance and trace mineral status of pre-
2101 and postweaned beef calves. *J. Anim. Sci.* 92:2630–2640. doi: 10.2527/jas.2013-7164.

2102 Chirase, N. K., W. Greene, C. W. Purdy, R. W. Loan, B. W. Auverman, D. B. Parker, E. F.
2103 Walborg, D. E. Stevenson, Y. Xu, and J. E. Klaunig. 2004. Effect of transport stress on
2104 respiratory disease, serum antioxidant status, and serum concentrations of lipid
2105 peroxidation biomarkers in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* 65:860–864. doi:
2106 10.2460/ajvr.2004.65.860.

2107 Cooke, R. F., J. D. Arthington, B. R. Austin, and J. V. Yelich. 2009. Effects of acclimation to
2108 handling on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-
2109 crossbred heifers. *J. Anim. Sci.* 87:3403-3412. doi: 10.2527/jas.2009-1910.

- 2110 Cooke, R. F., and J. D. Arthington. 2013. Concentrations of haptoglobin in bovine plasma
2111 determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity. *J. Anim.*
2112 *Physiol. Anim. Nutr.* 97:531–536. doi:10.1111/j.1439-0396.2012.01298x.
- 2113 Chirase, N. K., W. Greene, C. W. Purdy, R. W. Loan, B. W. Auverman, D. B. Parker, E. F.
2114 Walborg, D. E. Stevenson, Y. Xu, and J. E. Klaunig. 2004. Effect of transport stress on
2115 respiratory disease, serum antioxidant status, and serum concentrations of lipid
2116 peroxidation biomarkers in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* 65:860–864. doi:
2117 10.2460/ajvr.2004.65.860.
- 2118 Demetriou, J. A., P. A. Drewes, and J. B. Gin. 1974. Ceruloplasmin. Pages 857–864 in *Clinical*
2119 *Chemistry*. D. C. Cannon, and J. W. Winkelman, ed. Harper and Row, Hagerstown,
2120 MD.
- 2121 Genter, O. N., and S. L. Hansen. 2014. Effect of dietary trace mineral supplementation and a
2122 multi-element trace mineral injection on shipping response and growth performance of
2123 beef cattle. *J. Anim. Sci.* 92:2522–2530. doi:10.2527/jas.2013-7426.
- 2124 Harsh, B. N., A. C. Dilger, D. D. Boler, and D. W. Shike. 2018. Effects of a multielement trace
2125 mineral injection and vitamin E supplementation on performance, carcass
2126 characteristics, and color stability of strip steaks from feedlot heifers. *J. Anim. Sci.*
2127 96:1745–1756. doi:10.1093/jas/sky124.
- 2128 Herd, D., and L. S. Sprott. 1986. Body condition, nutrition, and reproduction of beef cows.
2129 Texas A&M Univ. Ext. Bull. 1526. Texas A&M AgriLife Extension Service, College
2130 Station, TX.
- 2131 Inskeep, E. K., and R. A. Dailey. 2005. Embryonic Death in Cattle. *Vet Clin Food Anim.* 21:
2132 437–461. doi: 10.1016/j.cvfa.2005.02.002.

- 2133 Maurer R. R., and J. R. Chenault. 1983. Fertilization failure and embryonic mortality in parous
2134 and nonparous beef cattle. *J. Anim. Sci.* 56:1186–1189. doi:
2135 10.2527/jas1983.5651186x.
- 2136 Markclund, S. 1980. Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase
2137 in human tissues and extracellular fluids. *Acta. Physiol. Scand. Suppl.* 492:19-23.
2138 PMID:6939305.
- 2139 Meikle, A., M. Kulcsar, Y. Chilliard, H. Febel, C. Delavaud, D. Cavestany, and P. Chilibroste.
2140 2004. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive
2141 parameters of the cow. *Reproduction.* 127:727–737. doi:10.1530/rep.1.00080.
- 2142 Mundell, L. R., J. R. Jaeger, J. W. Waggoner, J. S. Stevenson, D. M. Grieger, L. A. Pacheco,
2143 J. W. Bolte, N. A. Aubel, G. J. Eckerle, M. J. Macek, S. M. Ensley, L. J. Havenga, and
2144 K. C. Olson. 2012. Effects of prepartum and postpartum bolus injections of trace
2145 minerals on performance of beef cows and calves grazing native range. *Prof. Anim.*
2146 *Sci.* 28:82–88. doi:10.15232/S1080-7446(15)30318-1.
- 2147 Niedermayer, E. K., O. N. Genter-Schroeder, D. D. Loy, and S. L. Hansen. 2017. The effects
2148 of injectable trace minerals on growth performance and mineral status of Angus beef
2149 steers raised in a natural feedlot program. *Prof. Anim. Sci.* 33:186–193. doi:
2150 10.15232/pas.2016-01570.
- 2151 Norman, R. J., and M. Brannstrom. 1996. Cytokines in the ovary: Pathophysiology and
2152 potential for pharmacological intervention. *Pharmacol. Ther.* 69: 219-236. doi:
2153 10.1016/0163-7258(95)02064-0.
- 2154 NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci, Washington,
2155 DC.
- 2156 NRC. 2016. *Nutrient requirements of beef cattle*. 8th revised edition. Natl. Acad. Sci,
2157 Washington, DC.

- 2158 Pogge, D. J., E. L. Richter, M. E. Drewnoski, and S. L. Hansen. 2012. Mineral concentrations
2159 of plasma and liver after injection with a trace mineral complex differ among Angus
2160 and Simmental cattle. *J. Anim. Sci.* 90:2692–2698. doi:10.2527/jas.2012-4482.
- 2161 Rotruck, J. T., A. L. Pope, H. E. Ganther, A. B. Swanson, D. G. Hafeman, and W. G. Hoekstra
2162 1973. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*.
2163 doi:179:588-590.
- 2164 Sordillo, L. M., and S. L. Aitken. 2009. Impact of oxidative stress on the health and immune
2165 function of dairy cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 128:104–109.
2166 doi:10.1016/j.vetimm.2008.10.305.
- 2167 Stokes, R. S., A. R. Ralph, A. J. Mickna, W. P. Chapple, A. R. Schroeder, F. A. Ireland, and
2168 D. W. Shike. 2017. Effect of an injectable trace mineral at the initiation of a 14 day
2169 CIDR protocol on heifer performance and reproduction. *Transl. Anim. Sci.* 1:458-466.
2170 doi: 10.2527/tas2017.0050.
- 2171 Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral
2172 detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy*
2173 *Sci.* 74:3583–3597. doi:10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.
- 2174 Tomasi, T., A. Volpato, W. A. B. Pereira, L. H. Debastiani, N. B. Bottari, V. M. Morsch, M.
2175 R. C. Schetinger, M. L. R. Leal, G. Machado, and A. S. Da Silva. 2018. Metaphylactic
2176 effect of minerals on the immune response, biochemical variables and antioxidant status
2177 of newborn calves. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 1-6. doi: 10.1111/jpn.12890.
- 2178 Willmore, C. J., J. B. Hall, S. Harrison, and M. E. Drewnoski. 2015. Effect of a trace mineral
2179 injection on pregnancy rate of Angus beef heifers when synchronized using the 14-day
2180 controlled internal drug-releasing insert–prostaglandin F_{2α} protocol at a commercial
2181 feedlot. *Prof. Anim. Sci.* 31:588–592. doi: 10.15232/pas.2015-01412.
- 2182

2183 **Tabela 1.** Composição química das forrageiras das fazendas (Faz) onde foram executados os
 2184 experimentos.

Item ¹	Pastagens				Exigências ² (NRC, 2016)
	Exp.1 Faz. Escola UFMS	Exp.2 Faz. Campo Verde	Exp.2 Faz. São José do Nabileque	Exp.2 Faz. Seriema	
Matéria seca, g/kg	281,1	310,5	360,6	515,5	-
<i>g/kg de matéria seca</i>					
Proteína bruta	73,0	71,3	45,5	44,8	-
FDN	713,7	720,3	700,6	781,6	-
FDA	425,7	347,0	383,9	488,7	-
Lignina	40,4	36,5	44,1	60,5	-
Extrato etéreo	21,5	21,8	22,5	18,9	-
Matéria mineral	100,4	86,5	75,2	77,6	-
CNF	91,3	100,1	156,2	77,1	-
Ca	2,44	2,42	1,83	1,46	-
P	1,19	1,45	0,76	0,92	-
Na	1,49	1,85	2,61	1,48	1,0
K	9,76	10,59	7,50	10,01	7,0
Mg	2,51	1,88	2,08	1,12	2,0
<i>mg/kg de matéria seca</i>					
Fe	115,01	177,3	113,44	155,02	50,0
Zn	19,64	31,9	11,02	14,20	30,0
Mn	132,16	138,8	88,98	71,55	40,0
Se	0,11	0,16	0,16	0,07	0,1
Cu	2,07	4,32	2,10	2,77	10,0

2185 ¹FDN, fibra em detergente neutro; FDA, fibra em detergente ácido; CNF, carboidratos não
 2186 fibrosos.

2187 ²Exigências para vacas no início da lactação estabelecidas pelo NRC (2016).

2188

2189 **Tabela 2.** Níveis de garantia dos suplementos minerais em pó utilizado nas diferentes fazendas
 2190 (Faz).

Item	Suplementos minerais			
	Exp. 1 ¹	Exp.2 ²	Exp.2 ³	Exp.2 ⁴
	Faz. Escola UFMS	Faz. Campo Verde	Faz. São José do Nabileque	Faz. Seriema
<i>g/kg de matéria seca</i>				
Ca	196	150 – 220	139 – 155	111 – 135
P	90	81	80	90
Na	99	114	130	141
Mg	20	-	10	-
S	20	14	40	18
<i>mg/kg matéria seca</i>				
F	900	810	800	900
Co	200	60	80	60
I	180	78	100	75
Fe	2400	-	-	1800
Zn	3000	5250	5000	4500
Mn	1670	1040	1040	1800
Se	40	22	26	17
Cu	1200	1500	1350	1500
UI/kg				
Vitamina A	150000	-	-	-
Vitamina D3	30000	-	-	-
Vitamina E	1500	-	-	-

2191 ¹Mega Fós 90 Milk (AgroMega Indústria de Alimentos Animal, Tamboara, PR, Brasil).

2192 ²Fórmula Campo Verde (MCassab Comércio e Indústria, Campo Grande, MS, Brasil).

2193 ³BellNutri (Trouw Nutrition, Mirassol, SP, Brasil).

2194 ⁴Fosbovi Reprodução (DSM Produtos Nutricionais, Campo Grande, MS, Brasil).

2195 **Tabela 3.** Efeito da aplicação de microminerais injetáveis (SMI) sobre as estruturas ovarianas,
 2196 peso corporal e escore de condição corporal (Exp. 1).

Item	Tratamentos ¹		EPM	P-Value ²	
	MMI	Salina		Trat	Trat × dia
Estruturas ovarianas					
Diâmetro do folículo dominante (d 0), mm	15,3	13,9	1,0	0,29	
Diâmetro do corpo lúteo (d 14), mm	29,8	38,1	2,8	0,05	
Volume do corpo lúteo (d 14), cm ³	15,5	34,0	5,4	0,03	
Peso corporal, ³ kg				0,62	0,68
d -11	396,7	396,8	3,5		
d 0	384,3	380,3	3,5		
d 30	420,9	418,9	3,5		
Mudança de peso corporal, kg					
d -11 ao d 0	-12,4	-16,5	2,9	0,34	
d 0 ao d 30	36,6	38,6	3,7	0,71	
d -11 ao d 30	24,2	22,1	5,4	0,78	
Escore de condição corporal ⁴ , 1-9					
d -11	4,7	4,7	0,2		
d 0	4,5	4,0	0,2		
d 30	4,9	4,3	0,2		
Média geral	4,7	4,3	0,1		
Mudança de escore de condição corporal					
d -11 ao d 0	-0,2	-0,7	0,3	0,22	
d 0 ao d 30	0,4	0,3	0,2	0,75	
d -11 ao d 30	0,2	-0,4	0,2	0,06	

2197 ¹MMI, microminerais injetáveis (6 mL/animal; Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO),

2198 Salina, injeção de solução salina (6 mL/animal).

2199 ²Trat, tratamento; Trat × dia, interação entre tratamento e dia.

2200 ³Efeito de dia (P < 0,01), com médias de 396,7^b, 382,3^c e 419,9^a (± 2,49) kg para d -11, d 0 e d

2201 30, respectivamente.

2202 ⁴Efeito de dia ($P = 0,02$), com médias de 4,7^a, 4,2^b e 4,6^a ($\pm 0,1$) para d -11, d 0 e d 30
2203 respectivamente.
2204

2205 **Figura 1.** Efeito na concentração de superóxido dismutase (Figura 1a) e glutathione peroxidase
2206 (Figura 1b) no Exp. 1. MMI, microminerais injetáveis (6 mL/animal; Multimin 90, Multimin,
2207 Fort Collins, CO), Salina, injeção de solução salina (6 mL/animal). Para superóxido dismutase
2208 houve efeito de tratamento ($P = 0,02$), dia ($P < 0,01$) e tendência para interação entre tratamento
2209 \times dia ($P = 0,06$). Para glutathione peroxidase, houve efeito de tratamento ($P < 0,01$), dia ($P <$
2210 $0,01$) e interação tratamento \times dia ($P < 0,01$). * significa $P \leq 0,05$ e ** significa $P > 0,05$ e \leq
2211 $0,10$.

2212

2213 **Figura 2.** Efeito na concentração de haptoglobina (Figura 2a) e de ceruloplasmina (Figura 2b)
2214 no Exp. 1. MMI, microminerais injetáveis (6 mL/animal; Multimin 90, Multimin, Fort Collins,
2215 CO), Salina, injeção de solução salina (6 mL/animal). Para haptoglobina não houve efeito de
2216 tratamento ($P = 0,42$), dia ($P = 0,57$) ou interação tratamento \times dia ($P = 0,43$). Para
2217 ceruloplasmina não houve efeito de tratamento ($P = 0,45$), dia ($P = 0,15$) ou interação
2218 tratamento \times dia ($P = 0,79$).

2219

2220 **Figura 3.** Efeito sobre a taxa de prenhez no Exp. 1 e Exp. 2 (analisados conjuntamente). MMI,
2221 microminerais injetáveis (6 mL/animal; Multimin 90, Multimin, Fort Collins, CO), Salina,
2222 injeção de solução salina (6 mL/animal). Barras verticais representam o EPM e os valores na
2223 parte inferior das colunas representam o LSMEANS. Valores entre parênteses representam o
2224 número de vacas prenhez/número de vacas submetidas a IATF. Houve tendência para
2225 tratamento ($P = 0,08$). ** significa $P > 0,05$ e $\leq 0,10$.

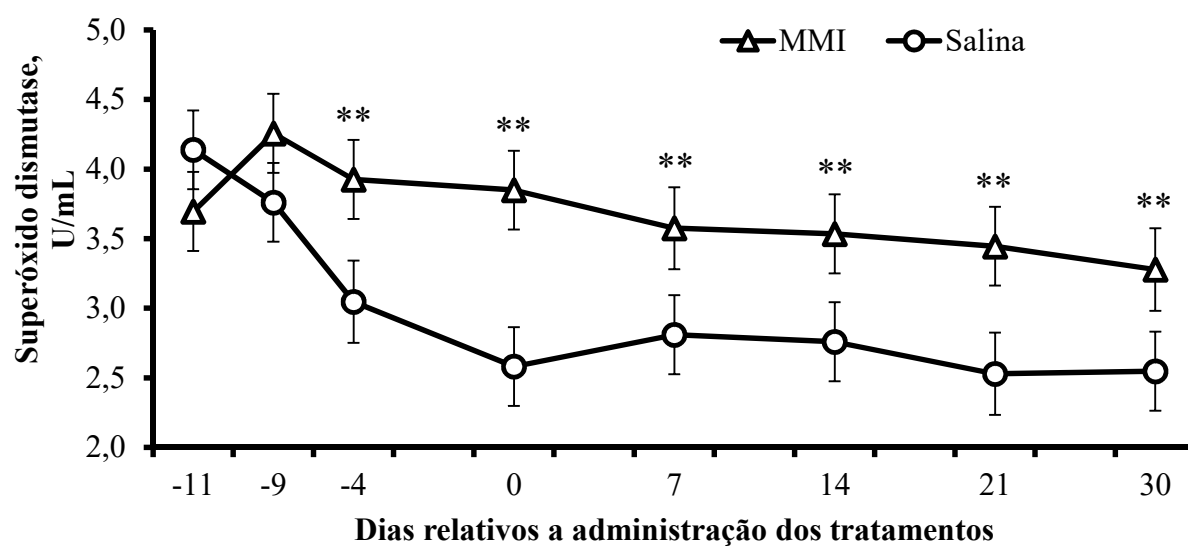
2226

2227

2228

2229 Figura 1a

2230



2231

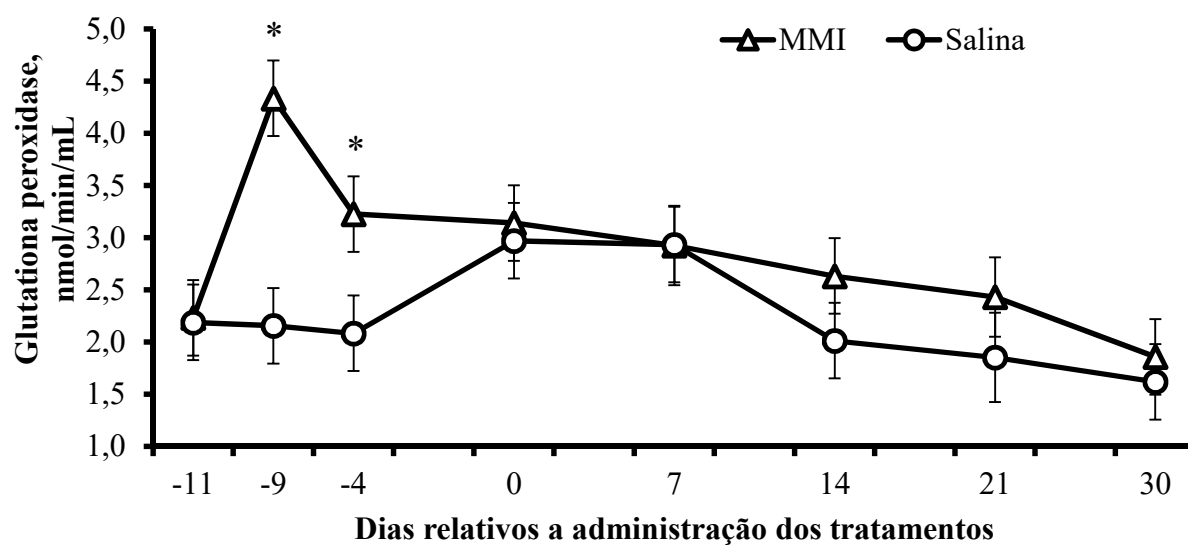
2232

2233

2234

2235 Figura 1b

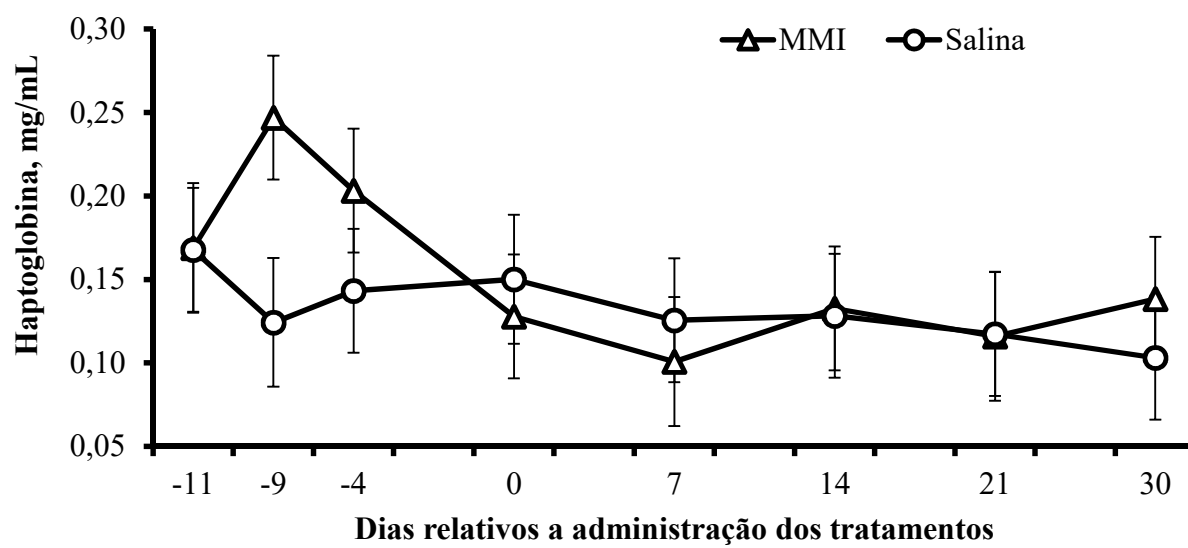
2236



2237

2238 Figura 2a

2239



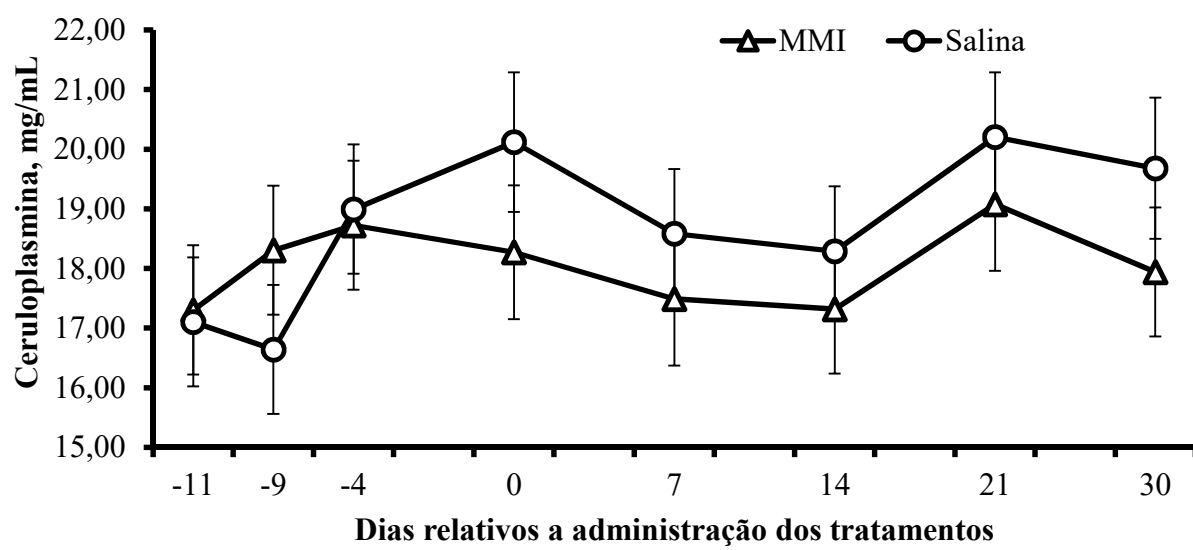
2240

2241

2242

2243 Figura 2b

2244



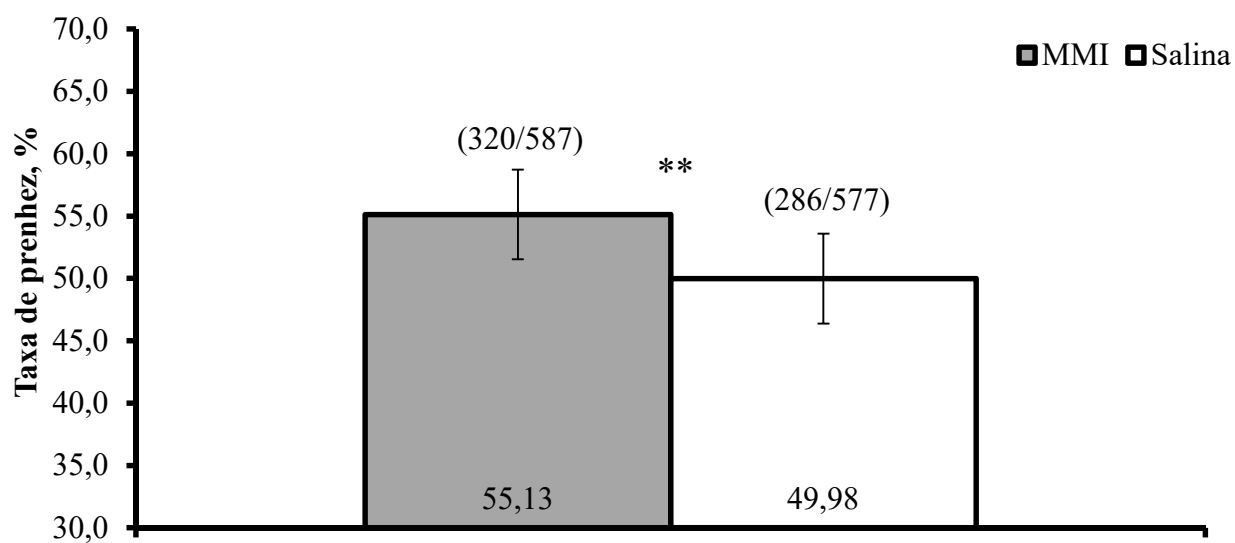
2245

2246

2247

2248 Figura 3

2249



2250

2251

CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE

2252

2253

2254 A aplicação de MMI em cabritos, bezerros e em vacas, aumentou a produção das
2255 enzimas antioxidantes SOD e GSH-Px e, o período que estas foram alteradas é variável. Os
2256 MMI aumentaram a concentração de SOD por 21, 7, 13 e 34 d após a aplicação, para os
2257 experimentos com cabritos, bezerros, vacas 30 d pré-IA e vacas 11 d pré-IA, respectivamente.
2258 A aplicação de MMI aumentou a concentração de GSH-Px por 7, 21, 4 e 7 d para os
2259 experimentos com cabritos, bezerros, vacas 30 d pré-IA e vacas 11 d pré-IA, respectivamente.
2260 Essa variação no período de resposta das enzimas antioxidantes entre os experimentos,
2261 provavelmente se deve aos diferentes status de microminerais, que os animais se encontravam
2262 no início de cada experimento.

2263 A aplicação de MMI aumentou a quantidade de eosinófilos em cabritos e, de leucócitos
2264 totais, linfócitos, e eosinófilos em bezerros e, de plaquetas em ambos os experimentos. Essa
2265 melhora no sistema imunológico com a aplicação de MMI refletiu em redução da incidência
2266 de diarreia em cabritos.

2267 A aplicação de MMI reduziu a HCM em cabritos e a CHCM em bezerros. Porém, essa
2268 alteração metabólica, provavelmente não causou nenhum efeito prejudicial, pois estas ainda se
2269 encontravam dentro da faixa normal aceita para ambas as espécies.

2270 Não foi observado efeito dos MMI no desempenho produtivo (PC, GMD ou alteração
2271 do PC) em nenhum dos experimentos, porém os MMI tenderam a aumentar o ECC quando
2272 aplicados 11 d pré-IA em vacas. Esses resultados mostram que em animais em crescimento, o
2273 efeito da aplicação de MMI no desempenho, é baixo ou nulo, e em animais que já atingiram a
2274 maturidade, esse efeito pode ser observado com aumento do ECC.

2275 Foi observado redução do tamanho do corpo lúteo, quando aplicado MMI 30 ou 11 d
2276 pré-IATF. No entanto, somente com análise da concentração de progesterona, será possível

2277 saber se essa redução do corpo lúteo, foi prejudicial a reprodução. Em ambos os experimentos,
2278 as proteínas da fase aguda não foram alteradas pela aplicação de MMI.

2279 A aplicação de MMI 30 d pré-IATF não apresentou diferença estatística ($P=0,15$) na
2280 taxa de prenhez, apesar de ter causado aumento numérico de 5,73%, em relação à Salina. No
2281 entanto, quando os MMI foram aplicados 11 d pré-IATF, houve tendência ($P=0,08$) de aumento
2282 de 5,15% na taxa de prenhez, em relação à Salina. O aumento numérico, em ambos os
2283 experimentos foi semelhante, apesar de somente o segundo tender a diferir, e isso se deve, ao
2284 menor número de animais no primeiro estudo. No entanto, não é possível afirmar, que esse
2285 aumento numérico de 5,73% na taxa de prenhez, com a aplicação de MMI 30 d pré-IATF, se
2286 manteria se aumentássemos o número de animais. Mesmo que ambos os experimentos
2287 diferissem estaticamente, a recomendação se manteria em aplicar os MMI 11 d pré-IATF ao
2288 invés de 30 d pré-IATF. Aplicando os MMI 11 d pré-IATF, se aproveita o mesmo manejo com
2289 os animais, que é feito para início do protocolo de sincronização do estro, reduzindo assim os
2290 custos operacionais e, o estresse causado pelas interações com as vacas.