

MARCELO BAGGIO

**Efeito da utilização de hidroximinerais na nutrição e reprodução  
de bovinos de corte**

Pirassununga

2024

MARCELO BAGGIO

**Efeito da utilização de hidroximinerais na nutrição e reprodução de bovinos de corte**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

**Departamento:**

Nutrição e Produção Animal

**Area de concentração:**

Produção de Ruminantes

**Orientador:**

Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires



De acordo:

Orientador

Pirassununga  
2024

**Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP**

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

#### Catálogo na Publicação

Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da  
Universidade de São Paulo

Ficha catalográfica gerada automaticamente com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Baggio, Marcelo  
Efeito da utilização de hidroximinerais na nutrição e reprodução  
de bovinos de corte / Marcelo Baggio ; orientador Alexandre Vaz  
Pires .-- Pirassununga, 2024.  
88 f. : il.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção  
Animal - Departamento de Nutrição e Produção Animal) - Faculdade de  
Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2024.

1. Desempenho. 2. Microminerais. 3. Nelore. 4. Precocidade. 5.  
Rúmen. I. Título.

Bibliotecária responsável pela estrutura de catalogação  
na publicação: Maria Aparecida Laet - CRB 5673-8.



**CERTIFIED**

We certify that the proposal entitled: "*Effect of concentrations and sources of micro minerals on digestibility and ruminal parameters of Nelore cattle*", protocol number CEUAX 6731261022 (ID 002405), under the responsibility Alexandre Vaz Pires, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Ethic Committee in the Use of Animals of School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo), and was approved in the meeting of day December 07, 2022.

Certificamos que a proposta intitulada: "*Efeito das concentrações e fontes de microminerais na digestibilidade e parâmetros ruminais de bovinos Nelore*", protocolado sob o CEUAX nº 6731261022, sob a responsabilidade de Alexandre Vaz Pires, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo, e foi aprovado na reunião de 07 de dezembro de 2022.

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Camilla Mota Mendes  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

**CERTIFICADO : RELATÓRIO FINAL** v25/05/2023

Certificamos que o RELATÓRIO FINAL (versão de 25/05/2023) da proposta intitulada "Efeito das concentrações e fontes de microminerais na digestibilidade e parâmetros ruminais de bovinos Nelore", CEUA nº 9921111220 (013086), sob a responsabilidade de **Alexandre Vaz Pires** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos vigentes para sua apresentação, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), sendo assim **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Escola Superior de Agricultura (CEUA/ESALQ) em 05/06/2023.

Término previsto: 08/2021

**ANIMAIS UTILIZADOS**

		Quantidade Aprovada	Quantidade Utilizada
Bovinos	Machos	30	30

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"  
SVAPESQ-11

Piracicaba, 25 de julho de 2023

  
ESALQProf. Dr. Roberto Sartori Filho  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Escola Superior de AgriculturaProf. Dr. Gerson Barreto Mourão  
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Escola Superior de Agricultura



**CERTIFIED**

We certify that the proposal entitled: "*Effect of Cu and Zn supplementation with high bioavailability on the reproductive performance of precocious Nelore heifers*", protocol number CEUAX 2472261022 (10 002406), under the responsibility Alexandre Vaz Pires, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Ethic Committee in the Use of Animals of School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo), and was approved in the meeting of day December 07, 2022.

Certificamos que a proposta intitulada: "*Efeito da Suplementação com Cu e Zn de alta biodisponibilidade sobre o desempenho reprodutivo de novilhas nelore precoces*", protocolado sob o CEUAX nº 2472261022, sob a responsabilidade de Alexandre Vaz Pires, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo, e foi aprovado na reunião de 07 de dezembro de 2022.

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Camilla Mota Mendes  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

**CERTIFICADO : RELATÓRIO FINAL** v14/07/2022

Certificamos que o RELATÓRIO FINAL (versão de 14/07/2022) da proposta intitulada "Efeito da suplementação com Cu e Zn de alta biodisponibilidade no desempenho reprodutivo de novilhas Nelore precoces e seus respectivos embriões em novilhas F1 (Nelore x Angus).", CEUA nº 2017111220 (10 083228), sob a responsabilidade de **Alexandre Vaz Pires** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos vigentes para sua apresentação, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), sendo assim **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Escola Superior de Agricultura (CEUA/ESALQ) em 08/08/2022.

Término previsto: 05/2022

**ANIMAIS UTILIZADOS**

		Quantidade Aprovada	Quantidade Utilizada
Bovinos	Fêmeas	420	220

Piracicaba, 25 de julho de 2023



Prof. Dr. Roberto Sartori Filho  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Escola Superior de Agricultura



Prof. Dr. Gerson Barreto Mourão  
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Escola Superior de Agricultura



## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: BAGGIO, Marcelo

Título: Efeito da utilização de hidroximinerais na nutrição e reprodução de bovinos de corte

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_



Aos meus pais, **Manoel e Tânia**

Ao meu irmão, **Guilherme**

Por sempre me apoiarem em toda minha jornada

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Manoel e Tânia, por acreditarem nos meus sonhos e no meu potencial e por todo suporte, educação, amor e respeito.

Ao meu irmão Guilherme Baggio, meu ídolo, por ser minha inspiração e um dos meus motivos de seguir em frente e ser uma pessoa melhor.

Aos meus amigos e irmãos Rodolfo Sacramento e Matheus Siqueira pelo incentivo e pela inspiração em evoluir constantemente

A todos meus familiares por me incentivarem e acompanharem meus esforços e torcerem pela minha vitória, em especial minha madrinha Clélia Ingrato Baggio, por todo o apoio e carinho e por sempre mostrar orgulho em relação às minhas vitórias.

Aos meus primos Wellington José, Isabela de Jesus Marcos e Carolina Baggio pela longa amizade e carinho.

Ao Centro Católico Universitário Católico Salesiano Auxíliu-Unisalesiano Araçatuba e todos os professores e amigos que contribuíram para meu ensino e aprendizado, possibilitando o ingresso ao mestrado e, posteriormente, ao doutorado.

A Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP), em especial ao Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP), pela oportunidade da realização dessa importante fase da minha vida.

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), em especial ao Departamento de Zootecnia, pelas instalações cedidas, tornando possível a realização desse projeto.

Ao meu orientador, professor Alexandre Vaz Pires, por sempre acreditar no meu potencial, pela disposição, pela amizade, pela paciência, por todos os ensinamentos profissionais e pessoais que contribuíram para minha formação, principalmente pelo exemplo de postura profissional e pessoal.

Aos professores Marcos Vinicius Ferraz Junior e Evandro Maia, pela contribuição constante em minha evolução pessoal e profissional

Aos amigos do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA/ESALQ): Alexandre Miszura, Natasha Petrenko, Gabriela Bagio, Kauê dos Santos Maia e José Paulo Romam Barroso, pela amizade e companheirismo durante essa jornada importante da minha vida.

Aos Funcionários (ESALQ/USP): Danilo (Grajal), Luciana Castelar, Sr. Roberto Gonçalves, Adilson Rosa (Zica), Sr. Marcos Polizel e Joseval Mandro, Juscelino e Emerson.

Aos estagiários que auxiliaram os estudos realizados no Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA/ESALQ), em especial, ao meu amigo Joel Junior pela disciplina e força de vontade, auxiliando os trabalhos de campo durante um longo período.

A todos os alunos e amigos de pós-graduação pelo auxílio em algum momento do percurso, em especial minha amiga Larissa Coelho, pela parceria, amizade e ensinamento durante esses últimos anos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradeço a todos que, de certa forma, estiveram comigo nessa jornada e auxiliaram minha evolução pessoal e profissional.

Muito Obrigado!

# Epígrafe

*“Toda reforma interior e toda  
mudança para melhor dependem  
exclusivamente da aplicação do nosso  
próprio esforço”*

Immanuel Kant

## RESUMO

BAGGIO, M. **Efeito da utilização de hidroximinerais na nutrição e reprodução de bovinos de corte**. 2024. 88 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2024.

Diferentes fontes de microminerais têm sido utilizadas com o intuito de melhorar a eficiência produtiva dos bovinos. Neste estudo foi avaliado a utilização de diferentes fontes de minerais, em relação aos parâmetros de fermentação ruminal, digestibilidade aparente dos nutrientes, desempenho produtivo e reprodutivo de animais jovens da raça Nelore. No Experimento 1 foram utilizados trinta novilhos Nelore (*Bos indicus*), castrados, providos de cânulas ruminais, distribuídos em blocos completos casualizados de acordo com o peso corporal em jejum ( $301,50 \pm 5,67$ kg). O estudo teve duração de 28 dias, sendo 21 dias de adaptação às dietas experimentais e 7 dias de coletas experimentais. Os tratamentos experimentais foram “*Inorganic Trace Minerals*” (ITM;  $\text{CuSO}_4 = 40\text{mg/kg}$  e  $\text{ZnO} = 148 \text{ mg/kg}$ ; N=10); “*Inorganic Trace Minerals 2*” (ITM2;  $\text{CuSO}_4 = 80\text{mg/kg}$  e  $\text{ZnO} = 296 \text{ mg/kg}$ ; N=10) e “*Hydroxy Trace minerals*” (Cu =  $40\text{mg/kg}$  e Zn =  $148 \text{ mg/kg}$  na forma de hidroximinerais; N = 10). A inclusão de hidroximinerais não afetou a digestibilidade aparente dos nutrientes, consumo de matéria seca, desempenho, concentração e proporção molar de AGCC, pH e N-NH<sub>3</sub>. No Experimento 2 foram avaliadas duzentas e doze novilhas Nelore (*Bos indicus*), com  $184,45 \pm 1,03$  kg de peso corporal e  $8 \pm 1$  meses de idade, bloqueadas ao início do experimento a partir do DEP genômica para Idade ao Primeiro Parto e agrupadas pelo peso vivo em jejum. Os animais foram alimentados diariamente com dietas a base de forragem e suplementação proteico-energética (5g/kg do peso vivo) durante 256 dias, subdividido em 8 períodos de 30 dias. Os tratamentos nutricionais foram “*Inorganic Trace Minerals*” (ITM;  $\text{CuSO}_4 = 40\text{mg/kg}$  e  $\text{ZnO} = 148 \text{ mg/kg}$ ; N=105) e “*Hydroxy trace minerals*” (HTM; Cu =  $40\text{mg/kg}$  e Zn =  $148 \text{ mg/kg}$  na forma de hidroximinerais; N=107). Houve interação entre tratamento e período para CMS (P=0,01), porém não foram observados efeitos significativos da utilização de HTM em relação ao ganho médio diário e eficiência alimentar. Houve interação entre tratamento e período (P=0,02) para concentrações hepáticas de Cu. Não houve efeito de tratamento para Cu e Zn plasmáticos e Zn hepático. Da mesma forma, a fonte de microminerais não afetou a puberdade das novilhas (ITM=23/105; HTM= 23/107). A partir dessa variável foi incorporado um fator reprodutivo às análises formando 4 tratamentos, que foram “*Inorganic Trace Minerals*” Precoce (IP; novilhas alimentadas com ITM, ovuladas até os 14 meses; N=23); “*Inorganic Trace Minerals*” Não Precoce (INP; novilhas alimentadas com ITM, não ovuladas até os 14 meses; N=82); “*Hydroxy trace minerals*” Precoce (HP; novilhas alimentadas com hidroximinerais, ovuladas até os 14

meses; N=23); “*Hydroxy trace minerals*” Não Precoce (HNP; novilhas alimentadas com hidroximinerais, não ovuladas até os 14 meses; N=84). Houve interação (P=0,02; P=0,02) Puberdade\*Período para peso corporal e ganho médio diário, entretanto as variáveis reprodutivas não foram afetadas, como prenhez e perda gestacional. Houve, também, interação entre puberdade e tratamento nutricional para produção de oócitos G1, G2, G3, total e produção de embriões (P<0,01). As diferentes fontes de minerais não afetaram o desempenho produtivo e reprodutivo dos animais, entretanto, a precocidade se mostrou um fator de grande influência em relação ao desempenho animal.

Palavras-chave: Desempenho, Microminerais, Nelore, Precocidade, Rúmen.

## ABSTRACT

BAGGIO, M. **Effect of the use of hydroxyminerals on beef cattle nutrition and reproduction.** 2024. 88f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2024.

Different sources of microminerals have been used in order to improve the productive efficiency of cattle. In this study, the use of different sources of minerals was evaluated in relation to ruminal fermentation parameters, apparent digestibility of nutrients, productive and reproductive performance of young Nelore animals. In Experiment 1, were used thirty Nelore (*Bos indicus*) steers, castrated, with ruminal cannulas, distributed in complete randomized blocks according to fasting body weight ( $301.50 \pm 5.67$ kg). The study lasted 28 days, with 21 days of adaptation to the experimental diets and 7 days of experimental collections. The experimental treatments were “*Inorganic Trace Minerals*” (ITM;  $\text{CuSO}_4 = 40\text{mg/kg}$  and  $\text{ZnO} = 148 \text{ mg/kg}$ ; N=10); “*Inorganic Trace Minerals 2*” (ITM2;  $\text{CuSO}_4 = 80\text{mg/kg}$  and  $\text{ZnO} = 296 \text{ mg/kg}$ ; N=10) and “*Hydroxy Trace minerals*” ( $\text{Cu} = 40\text{mg/kg}$  and  $\text{Zn} = 148 \text{ mg/kg}$  in the form of hydroxyminerals; N = 10). The inclusion of hydroxyminerals did not affect the apparent digestibility of nutrients, dry matter intake, performance, concentration and molar proportion of SCFA, pH and N-NH<sub>3</sub>. In Experiment 2, two hundred and twelve Nelore heifers (*Bos indicus*) were evaluated, with  $184.45 \pm 1.03$  kg of body weight and  $8 \pm 1$  months of age, blocked at the beginning of the experiment based on the genomic expected difference in progeny for age at first calving. and grouped by fasting body weight. The animals were fed daily with forage-based diets and protein-energy supplementation (5g/kg of body weight) for 256 days, subdivided into 8 periods of 30 days. The nutritional treatments were “*Inorganic Trace Minerals*” (ITM;  $\text{CuSO}_4 = 40\text{mg/kg}$  and  $\text{ZnO} = 148 \text{ mg/kg}$ ; N=105) and “*Hydroxy trace minerals*” (HTM;  $\text{Cu} = 40\text{mg/kg}$  and  $\text{Zn} = 148 \text{ mg/kg}$  in the form of hydroxyminerals; N=107). There was an interaction between treatment and period for DMI ( $P=0.01$ ), but no significant effects of the use of HTM were observed in relation to average daily gain and feed efficiency. There was an interaction between treatment and period ( $P=0.02$ ) for hepatic Cu concentrations. There was no treatment effect for plasma Cu and Zn and hepatic Zn. Likewise, the source of microminerals did not affect the puberty of the heifers (ITM=23/105; HTM= 23/107). Based on this variable, a reproductive factor was incorporated into the analyzes forming 4 treatments, which were “*Inorganic Trace Minerals*” Precocious (IP; heifers fed ITM, ovulated up to 14 months; N=23); “*Inorganic Trace Minerals*” Non-Precocious (INP; heifers fed ITM, not ovulated until 14 months; N=82); “*Hydroxy trace minerals*” Precocious (HP; heifers fed with hydroxyminerals, ovulated up to 14 months; N=23); “*Hydroxy trace minerals*” Non-Precocious

(HNP; heifers fed hydroxyminerals, not ovulated until 14 months; N=84). There was an interaction ( $P=0.02$ ;  $P=0.02$ ) Puberty\*Period for body weight and average daily gain, however reproductive variables were not affected, such as pregnancy and pregnancy loss. There was also an interaction between puberty and nutritional treatment for the production of G1, G2, G3, total oocytes and embryo production ( $P<0.01$ ). The different sources of minerals did not affect the productive and reproductive performance of the animals, however, puberty proved to be a factor of great influence in relation to animal performance.

Keywords: Performance, Microminerals, Nellore, Precocity, Rumen.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Consumo de matéria seca de forragem de novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos .....	70
Figura 2 - Consumo médio diário por animal de suplemento proteico-energético de novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos .....	71
Figura 3 - Consumo de suplemento proteico-energético em porcentagem do PC de novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos .....	72
Figura 4 - Peso corporal médio de novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos .....	73
Figura 5 - Ganho médio diário de novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos .....	74
Figura 6 - Eficiência alimentar de novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos.....	76
Figura 7 - Taxa de prenhez, ao final do estudo de novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos.....	77
Figura 8 - Concentrações plasmáticas de Cu de novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos.....	79
Figura 9 - Concentrações plasmáticas de Zn de novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos.....	79
Figura 10 - Concentrações hepáticas de Cu de novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos.....	80
Figura 11 - Concentrações hepáticas de Zn de novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos.....	80



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química do suplemento ofertado aos animais durante o período experimental.....	50
Tabela 2 Composição química do pré-secado de Tifton-85 ( <i>Cynodon dactylon spp.</i> ) ofertado durante o período experimental.....	51
Tabela 3 - Consumo de matéria seca de forragem, suplemento e total de novilhos Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos.....	53
Tabela 4 - Consumo de nutrientes durante o período de coleta de dados para análise digestibilidade aparente dos nutrientes de novilhos Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos.....	55
Tabela 5 - Concentração molar dos AGCC, relação acético:propiónico, total de AGCC, pH e N-NH <sub>3</sub> de novilhos Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos.....	57
Tabela 6 - Peso inicial, final e ganho médio diário de novilhos Nelore ( <i>bos indicus</i> ) recebendo dietas de alto teor de volumosos e diferentes fontes e quantidades de microminerais Cu e Zn.....	58
Tabela 7 - Composição química do pré-secado de Tifton-85 ( <i>Cynodon dactylon spp.</i> ) ofertado pra as novilhas durante os períodos experimentais.....	66
Tabela 8 - Composição química dos suplementos ofertados para as novilhas durante os períodos experimentais.....	67
Tabela 9 - Início da puberdade em novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos.....	77
Tabela 10 - Taxa de prenhez e perdas gestacionais referentes à IATF em novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos.....	82
Tabela 11 - Produção média de oócitos e embriões em novilhas Nelore ( <i>bos indicus</i> ) em dietas de alto teor de volumosos .....	83

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>19</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
2.1 HIDROXIMINERAIS.....	20
2.2 MINERAIS E AMBIENTE RUMINAL.....	23
2.3 ZINCO (Zn).....	26
2.4 COBRE (Cu).....	28
2.5 PANORAMA NACIONAL DA PECUÁRIA DE CORTE E PUBERDADE.....	30
2.6 INDUÇÃO À PRIMEIRA OVULAÇÃO.....	31
2.7 EFEITO DO COBRE E ZINCO NA REPRODUÇÃO.....	32
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>36</b>
<b>3 EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES E DA FONTE DE MICROMINERAIS NA DIGESTIBILIDADE APARENTE DOS NUTRIENTES E PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS NELORE.....</b>	<b>47</b>
3.1 INTRODUÇÃO .....	47
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
<b>3.2.1 Instalações experimentais e animais.....</b>	<b>48</b>
<b>3.2.2 Delineamento e período experimental.....</b>	<b>49</b>
<b>3.2.3 Tratamentos experimentais e manejo alimentar.....</b>	<b>49</b>
<b>3.2.4 Parâmetros de fermentação ruminal.....</b>	<b>51</b>
<b>3.2.5 Digestibilidade aparente dos nutrientes.....</b>	<b>52</b>
<b>3.2.6 Análises estatísticas.....</b>	<b>53</b>
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
3.4 CONCLUSÃO .....	58
REFERÊNCIAS.....	59
<b>4 EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM CU E ZN DE ALTA BIODISPONIBILIDADE SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO E REPRODUTIVO DE NOVILHAS NELORE SUPERPRECOSES.....</b>	<b>62</b>
4.1 INTRODUÇÃO.....	62
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	64
<b>4.2.1 Instalações experimentais e animais.....</b>	<b>64</b>
<b>4.2.2 Delineamento e período experimental.....</b>	<b>65</b>
<b>4.2.3 Tratamentos experimentais e manejo alimentar.....</b>	<b>65</b>

<b>4.2.4 Avaliação da puberdade e prenhez.....</b>	<b>68</b>
<b>4.2.5 Análises das concentrações sanguíneas e hepáticas de cobre e zinco.....</b>	<b>68</b>
<b>4.2.6 Análises estatísticas.....</b>	<b>69</b>
<b>4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>69</b>
<b>4.4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>84</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>85</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

As fontes de microminerais estão disponíveis em três formas estruturais diferentes, como: inorgânicos, orgânicos e hidroximinerais. Ainda que haja a aprovação dessas três fontes de minerais para utilização na nutrição animal, elas se diferem em estrutura química, biodisponibilidade e custos (Springman et al., 2021).

Os hidroximinerais são formados por ligações covalentes dentro de uma matriz cristalina, diferindo assim das ligações iônicas presentes em fontes inorgânicas, além disso, apresentam menor solubilidade no ambiente ruminal e maior solubilidade no abomaso, devido suas características de pH ácido (Arthington, 2015). Esse fator, é de grande importância, visto que, a alta solubilidade ruminal de fontes de cloretos e óxidos pode ocasionar em danos à microbiota, como toxicidade e prejuízos à formação de biofilme de microrganismos celulolíticos, mesmo em baixas dosagens (Hubbert et al., 1958; Eryavuz & Dehority, 2009, Genter & Hansen, 2015).

Além do potencial incremento no processo fermentativo, a utilização de hidroximinerais proporciona maior biodisponibilidade dos microelementos para os animais (Ibraheem et al., 2023). Segundo Spears et al. (2004) a suplementação de Cu na forma de hidroximinerais se mostrou mais biodisponível quando comparado com a forma de sulfato em ambientes com elevado teor de enxofre e molibdênio, esse fato ocorre, devido a sua menor solubilidade em pH próximo à neutralidade, fazendo com que o Cu passe inerte pelo rúmen, evitando a formação de complexos insolúveis, aumentando, assim, sua absorção no intestino.

Dados “*in vitro*” mostram redução na degradação celulose pelas bactérias ruminais quando adicionado ZnSO<sub>4</sub> ao conteúdo ruminal (Bonhomme et al., 1979), entretanto, resultados “*in situ*” foram menos consistentes. Segundo Genter & Hansen (2015), quando Cu, Zn e Mn foram adicionados na forma de sulfatos simultaneamente à dieta de vacas leiteiras, foi reduzida a taxa de passagem quando comparado com os hidroximinerais.

Ademais, Cu e Zn exercem funções fundamentais na produção hormonal, tornando-se muito importantes para o bom desempenho reprodutivo dos animais (Springman et al., 2021). Deficiências de Cu, por exemplo, podem acarretar em redução das taxas de concepção, anestro e na reabsorção fetal (Hostetler et al., 2003), bem como vacas deficientes em Zn podem apresentar ciclos estrais anormais, além de redução de fertilidade.

Devido às atividades do Cu em muitas enzimas esteroideogênicas, assim como à regulação da produção de P<sub>4</sub> (Yatoo et al., 2013) e do Zn no metabolismo de carboidratos, ácidos nucleicos, síntese de proteínas e estabelecimento de prostaglandinas, esses

microelementos se tornam de grande importância no processo reprodutivo, pois, esses hormônios e fatores de crescimento são essenciais para a remodelação uterina no momento da nidadação embrionária, desenvolvimento fetal e no crescimento do concepto (Springman et al., 2021).

Poucas pesquisas são observadas na literatura avaliando a utilização de Cu e Zn na forma de hidroximinerais em relação aos parâmetros de fermentação ruminal, digestibilidade e desempenho produtivo e reprodutivo de animais jovens da raça Nelore. Com isso, objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação com fontes de minerais convencionais e hidroximinerais em relação aos parâmetros ruminais e de digestibilidade aparente de bovinos Nelore, machos, canulados e no desempenho produtivo e reprodutivo de novilhas Nelore superprecoces.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 HIDROXIMINERAIS**

Os hidroximinerais são microminerais ligados covalentemente à grupos hidroxila (OH) e ao grupo cloreto, esses, por sua vez, são considerados minerais inorgânicos. Embora tenham ligações químicas semelhantes, os hidroximinerais ligam-se à grupos OH, diferindo-se dos minerais orgânicos, outra fonte alternativa, que se ligam covalentemente à um ligante contendo carbono (Artington, 2015), sendo esses, peptídeos de baixo peso molecular, como lisina e metionina (Silva, 2021).

Os hidroximinerais têm estrutura cristalina formada por ligações covalentes entre o mineral, os grupos OH, além de íons cloreto o que possibilita resistência ao aparelho digestivo fazendo com que seja lenta a sua solubilidade no trato gastrointestinal e haja uma grande quantidade de íons biologicamente ativos (Cohen & Steward, 2014). Na nutrição de bovinos, as formas encontradas são: hidroxicloretos de Cu ( $(\text{Cu}_2\text{OH})_3\text{Cl}$ ), hidroxicloreto de Zn ( $\text{Zn}_5(\text{OH})_8\text{Cl}_2$ ) e hidroxicloreto de Mn ( $\text{Mn}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$ ) (Reddy et al., 2021).

Segundo Spears (1989), a suplementação mineral é realizada na maioria das vezes nas formas de cloretos, sulfatos, óxidos e carbonatos, sendo a forma de sulfatos a mais utilizada. Essa fonte, por sua vez, é caracterizada por ligações instáveis entre as moléculas que permitem alta solubilidade em água e soluções ácidas, além disso, são comumente utilizadas como parâmetro comparativo para analisar a biodisponibilidade de diferentes fontes minerais (Villagómez-Estrada et al., 2020).

Devido à baixa biodisponibilidade das suplementações com fontes inorgânicas de minerais, na forma de sulfatos (Miller & Cragle, 1965), estudos realizados nos últimos anos desenvolveram uma fonte inorgânica chamada hidroximineral como forma alternativa na suplementação animal, sendo o hidroximineral de Cu introduzido nas indústrias de ração em 1995 (Cohen & Steward, 2014) e posteriormente o hidroximineral de Zn, em 2014 (Schmitt, 2018).

Em estudo realizado por Genter & Hansen (2015), os autores observaram que, de fato, o  $ZnSO_4$  foi mais solúvel no ambiente ruminal quando comparado com a suplementação na forma de hidroximineral. Dados semelhantes foram observados por Caldera et al. (2019), os autores observaram maior solubilidade de  $ZnSO_4$  e  $CuSO_4$  no ambiente ruminal quando comparados com os hidroximinerais.

A menor solubilidade em meios próximos à neutralidade de pH e maior solubilidade em pH ácido, tornam os hidroximinerais menos reativos com componentes da dieta, tornando-os mais absorvíveis (Olukosi et al., 2018). Corroborando parcialmente, Caldera et al. (2019), observaram maiores concentrações de Cu na digesta de animais suplementados com sulfatos, quando comparados com animais que receberam hidroximinerais, entretanto, os animais alimentados com hidroximinerais excretaram mais Zn que os animais suplementados com sulfatos.

Trabalhos recentes têm mostrado que o uso de hidroximinerais pode elevar a biodisponibilidade de Cu e Zn para ruminantes, aumentando assim as concentrações desses minerais no plasma sanguíneo e no fígado (VanValin et al., 2018; VanValin et al., 2019). Ainda, VanValin et al. (2018) observaram que o uso de Zn na forma de hidroximineral aumentou a digestibilidade dos nutrientes comparado com a forma orgânica em ovinos.

Além de ligações antagonistas, a solubilidade dos microminerais pode prejudicar o processo fermentativo. Em estudo “*in vitro*” Eryavuz & Dehority (2009), relataram que o zinco solúvel ligado às partículas pode prejudicar a formação de biofilme microbiano e a digestão da MS, consequentemente. Semelhante aos resultados encontrados por Daniel et al. (2020), os autores relataram que, em vacas leiteiras alimentadas com 35% de amido na dieta, a inclusão de hidroximinerais aumentou a digestibilidade da FDN, a concentração média de ácido butírico reduziu. Além disso, os autores relataram aumento na produção de gordura no leite e leite corrigido para gordura e proteína em vacas multiparas, já em vacas primiparas, esses efeitos não foram observados.

Em trabalho “*in situ*” feito por Guimarães et al. (2022), os autores utilizaram 12 novilhos angus, alimentados com dietas para vacas em lactação. Segundo os autores, a aplicação

de uma dose pulso de minerais na forma de hidroximinerais via cânula ruminal aumentou a digestão da FDN e FDA, além de aumentarem a produção total de AGCC, porém sem modificações estequiométricas. Em discordância, Caldera et al. (2019) não observaram diferença na digestibilidade da MS e FDN de novilhos canulados suplementados com hidroximinerais.

Além de melhorias nos parâmetros ruminais, os hidroximinerais são capazes de influenciar o desempenho de bovinos de corte. Em trabalho realizado por Cidrini et al. (2020), 120 novilhos Nelore em regime de pastejo foram alimentados com Cu e Zn na forma de hidroximinerais ou sulfatos. Os autores observaram o aumento do ganho médio diário (37g/dia) dos animais alimentados com hidroximinerais e, conseqüentemente, aumento no peso corporal final dos mesmo em 6 kg quando comparados com animais alimentados com microminerais na forma de sulfatos.

Ainda, Cidrini et al. (2020), não observaram diferenças nas concentrações hepáticas do novilhos alimentadas com Cu e Zn na forma de hidroximinerais. Contudo, Springman et al. (2021), ao final do período experimental observaram aumento nas concentrações hepáticas de Cu em novilhas Angus alimentadas com hidroximinerais, entretanto, os autores não observaram diferenças no ganho de peso e prenhez dos animais suplementados.

De acordo com os dois experimentos realizados por Arthington & Spears (2007), a suplementação isolada de Cu na forma de hidroximinerais não afetou as concentrações hepáticas de Cu em novilhas à pasto recebendo suplementação de milho ou melaço de cana-de-açúcar, da mesma forma, não houve resposta referente ao desempenho e consumo dos animais. Entretanto, os autores mencionaram que a suplementação baseada em melaço de cana-de-açúcar diminuiu as concentrações de Cu hepático, independente da fonte utilizada.

A literatura mostra controvérsias em relação aos efeitos causados pelos hidroximinerais. Em trabalho realizado por Hartman et al. (2017), os resultados mostraram redução nas concentrações hepáticas de animais alimentados com hidroximinerais quando comparados com a suplementação na forma de sulfatos. Além disso, segundo Hartman et al. (2017), novilhas de corte alimentadas com hidroximinerais apresentaram menor área de olho de lombo em comparação com novilhas suplementadas com minerais na forma de sulfatos.

No entanto, ainda há poucos trabalhos publicados sobre a utilização de microminerais na forma de hidroximinerais, deixando lacunas na literatura sobre sua utilização, dosagens e funcionalidade frente à categoria animal a ser trabalhada.

## 2.2 MINERAIS E AMBIENTE RUMINAL

Mesmo representando apenas 4% da composição corporal dos animais, os minerais estão presentes em todos os tecidos corporais e são requeridos em várias funções bioquímicas do corpo, exercendo funções metabólicas vitais no organismo, refletindo o desempenho animal (Véras et al., 2001). Envolvidos em quase todas as vias metabólicas, os minerais exercem funções importantes no desempenho reprodutivo, crescimento, metabolismo energético, sistema imune e outras funções fisiológicas, com potencial em incrementar a produtividade animal (Lamb et al., 2008).

Dentre a extensa gama de minerais, somente alguns elementos são considerados essenciais aos animais: enxofre (S), cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), potássio (K), sódio (Na), cloro (Cl), cobre (Cu), cobalto (Co), molibdênio (Mo), zinco (Zn), ferro (Fe), flúor (F), selênio (Se), silício (Si), alumínio (Al), cromo (Cr), vanádio (V), níquel (N), iodo (I), arsênico (As) e manganês (Mn). Os primeiros sete minerais são considerados como macrominerais devido as exigências dos animais em maiores quantidades quando comparado com os outros elementos citados posteriormente, sendo esses, conhecidos como microminerais (NRC, 2001).

Os minerais essenciais, são denominados dessa forma devido à necessidade da adição dos mesmos na dieta, visto que o organismo animal não é capaz de produzi-los (Mendonça Junior et al., 2011). Os macrominerais são importantes componentes estruturais de tecidos, fluidos corporais e, também, na manutenção do equilíbrio ácido-base e osmolaridade (NRC, 2001). Os microminerais, como Cu e Zn, estão presentes em menores quantidades no corpo e são necessários para enzimas, coenzimas e proteínas celulares pois possuem funções importantes em muitos processos enzimáticos no rúmen (Durand e Kawashima, 1979).

A tentativa de atender as exigências animais pode afetar negativamente a atividade ruminal, visto que, os requerimentos dos microrganismos são menores que as exigências do animal (Hubbert et al., 1958). Em estudo “*in vitro*” realizado por Hubbert et al. (1958), os autores observaram que, a adição desses minerais em forma de sulfatos (CuSO<sub>4</sub> e ZnSO<sub>4</sub>), mesmo em doses relativamente baixas, reduziram a digestão da celulose.

A carência ou a sobrecarga dos minerais no organismo animal pode gerar desordens estruturais e/ou fisiológicas acompanhadas, na maioria das ocasiões, por alterações bioquímicas específicas (Mendonça Junior et al., 2011). Em alguns casos pode, até mesmo, causar alterações na microbiota ruminal, como mencionado por Vázquez-Armijo et al. (2011), os autores observaram bom crescimento microbiano no conteúdo ruminal com doses de até 0,5 mg/kg de



MS de Cu, porém quando ultrapassaram esse nível foi observada proteólise de corpo microbiano.

As alterações causadas devido à atuação desses minerais podem induzir a mudanças no ambiente ruminal, afetando a produção de AGCC e a digestibilidade da fibra (Pino & Heinrichs, 2016). Além disso, altas concentrações de Cu (0,2% a 0,4%) no conteúdo de “*in vitro*” podem causar diminuição na produção de CH<sub>4</sub> (Napasirth et al., 2013). Concordando com isso, Forsberg (1978), determinaram que é necessário a adição de 21 µg/mL de Cu no fluido ruminal para que haja a diminuição de 50% da produção de gases durante o processo fermentativo.

Em trabalho realizado por Zhang et al. (2008), avaliando 4 inclusões de CuSO<sub>4</sub> (0, 10, 20 e 30 mg/kg de MS) na dieta de cabras alimentadas com 70% de feno, os autores observaram maior digestibilidade do FDN e FDA e uma maior retenção de N dos animais tratados com a dieta contendo 10 mg/kg de MS em comparação com o grupo tratado com 30 mg/kg de MS. Além disso, os autores relataram redução no CMS para os animais do tratamento 30mg/kg, além de menor GMD e EA, diferente da dosagem de 10mg/kg de MS que foi responsável por aumentar o GMD e EA, sem diferenças nos resultados para o grupo tratado com 20mg/kg de MS em relação ao grupo testemunha. Os autores atribuíram esses resultados à melhoria do processo fermentativo ou aumento no crescimento microbiano causado pela dose de 10mg/kg de MS.

Além de desempenhar um papel fundamental nas funções fisiológicas dos animais, o Cu tem sua participação fundamental no desenvolvimento de microrganismos ruminais servindo como cofator de algumas enzimas, como citocromo oxidase, NADH desidrogenase e superóxido dismutase (Kenney & Rosenzweig, 2012), porém seus valores de exigência para o desenvolvimento de microrganismos ainda não estão muito bem estabelecidos.

Existem muitas divergências quanto a susceptibilidade à toxidez dos microrganismos em relação às dosagens de Cu. De acordo com o estudo “*in vitro*” realizado por Forsberg (1978), *bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus albus* e *Butyrivibrio fibrisolvens* foram inibidos por 10, 20 e 30 µg/mL de Cu, respectivamente. Em contrapartida, doses mais elevadas, como 100, 100 e 250 µg/mL de fluido de incubação foram necessários para inibir o crescimento de *Megasphaera elsdenii*, *Selenomonas ruminantium* e *Streptococcus bovis*, respectivamente.

Diferente das dosagens utilizadas em fluido de crescimento, Hernández-Sánchez et al. (2019) relataram que a dose entre 0,11 a 1,3 mg/kg de MS de CuSO<sub>4</sub> são suficientes para estimular a deaminação para a utilização de N a nível ruminal, além da utilização de carboidratos para a síntese de corpo microbiano. Diante do exposto, a solubilidade dos microelementos se torna muito importante, visto que, as necessidades de Cu dos ruminantes

variam conforme a espécie e chegam à 8–10 mg/kg de MS (NASEM, 2007; NASEM 2016; NRC 2021), quantidades muito maiores que os exigidos pelos microrganismos.

A quantidade de microminerais solúveis no rúmen é muito importante para o processo de digestão e absorção de nutrientes, visto que, apenas minerais solúveis estão disponíveis para uso ou interação com outras moléculas (Genther & Hansen, 2015). A alta solubilidade do Cu no ambiente ruminal pode estar ligada a menor biodisponibilidade do mesmo. Gould & Kendall (2011) relataram que altas concentrações de Mo no líquido ruminal (4–12 µg/mL de fluido) pode causar a formação de tiomolibdatos, são esses, complexos insolúveis, que diminuem a absorção de Cu e, conseqüentemente, reduzem a biodisponibilidade do elemento (Silva, 2017). Segundo Silva (2017), alguns outros fatores, também são capazes de interferir na absorção dos minerais a nível intestinal, como por exemplo, álcool, gordura e fibra.

As respostas do processo fermentativo frente aos micronutrientes utilizados na dieta, mostram-se semelhantes em experimentos “*in vitro*”. Bonhomme et al. (1979), observaram diferentes respostas dos microrganismos frente à adição de ZnSO<sub>4</sub>, os autores relataram que a adição de 25 µg/mL causou depressão na degradação de celulose pelas bactérias ruminais, entretanto, os protozoários se mostraram resistentes à essa dosagem e, além disso, incorporaram facilmente os Zn solúvel em sua estrutura.

Corroborando com os relatos anteriores, Martinez & Church (1970), observaram que a inclusão de 20 µg/mL ZnSO<sub>4</sub> no fluido ruminal diminuiu em 31% a digestão da celulose. Em contrapartida, os autores mencionaram que a adição de 5 µg/mL de ZnSO<sub>4</sub> aumentou em 24% a degradação de celulose pelos microrganismos. Da mesma forma, Arelovich et al. (2000), constatou que o fornecimento 250 ppm de Zn na dieta, acumulando a 7 ppm de Zn no conteúdo ruminal, foi capaz de aumentar a produção de propionato e reduzir a relação acetato:propionato, contudo, dosagens de 470 ppm na dieta, atingindo concentrações de 12 ppm de Zn no conteúdo ruminal causaram depressão na digestibilidade da MS.

Em contrapartida, Forsberg (1978), relataram baixa sensibilidade de alguns microrganismos ruminais em relação ao Zn solúvel, em estudo “*in vitro*” foi constatado que a produção de gases foi reduzida em 14% com a adição de 500 µg/mL de ZnSO<sub>4</sub>.

Além disso, Shaffer, (2016) reportou que animais suplementados com ZnSO<sub>4</sub> tiveram maiores concentrações de Zn solúvel no ambiente ruminal, fazendo com que houvesse diminuição da biodisponibilidade do mineral quando comparados com animais que receberam suplementação na forma cloreto de Zn. Esse fato ocorre devido a interação do Zn com outros íons (Fe, Ca e Cu) e fitatos que agem negativamente entre si e à agentes quelatantes encontrados no ambiente ruminal (Lee et al., 2002).

Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos buscando alternativas para melhorar a biodisponibilidade mineral, diminuir os danos ao processo fermentativo além de diminuir a excreção desses metais pesados no meio ambiente, tornando a atividade mais sustentável. Segundo Spears & Kegley (2002), fontes de Zn, como complexo Zn Metionina, tem se mostrado menos degradáveis pelos microrganismos ruminais, aumentando a passagem do elemento para o intestino delgado e, por consequência, aumentando a biodisponibilidade do mineral.

Da mesma forma, Spears et al. (2004), relataram que a suplementação com hidroximinerais foi altamente solúvel (81,4%) em pH baixo (pH 2,2) e relativamente insolúvel (0,6%) em água (pH 7.0), diferente do observado quando utilizado CuSO<sub>4</sub>, com alta solubilidade em água (94,5%) e em um baixo pH (97,6%). Essa menor solubilidade em pH próximo a neutralidade tem função de prevenir a diminuição da degradação da MS advinda da dieta (Genther & Hansen, 2015).

O uso de hidroximinerais é a tendência mais recente na nutrição mineral, produzindo complexos de metal inorgânico hidrolisado. Essa estrutura utiliza o mesmo tipo de ligações químicas covalentes presentes nos minerais orgânicos o que confere a superioridade de ambos em relação aos sulfatos, os quais têm ligações iônicas fracas. Estas ligações covalentes, características dos hidroximinerais, são suficientemente fortes para limitar as reações antagonistas evitando a rápida dissociação no trato superior, mas suficientemente fracas para facilitar a absorção do metal no sítio desejado do trato digestório dos animais, com liberação lenta e gradual no local desejado. Assim sendo, os hidroximinerais têm biodisponibilidade superior a sulfatos e normalmente custo inferior comparado à minerais orgânicos.

### 2.3 ZINCO (Zn)

O Zn é um metal leve de coloração branco-azulado e brilhante. É um cátion divalente, com número atômico de 30 e peso atômico de 65,37. O zinco é encontrado em minérios como o sulfeto (ZnS) e pode ser, frequentemente, associado a outros sulfetos de alguns metais como Cu e Fe (Mcdowell, 2003). É o micromineral encontrado em maior quantidade no meio intracelular e está envolvido em funções catalíticas, estruturais e regulatórias (Pechova et al., 2006).

Segundo McDowell, (1992), há uma enormidade de funções no metabolismo animal ligadas ao Zn, como participação na estrutura enzimática; expressão genética de proteínas ligadas ao crescimento; produção, armazenamento e secreção de hormônios; funções imunes e

reprodutivas; cicatrização de feridas; crescimento microbiano; divisão celular; metabolismo de macronutrientes e ácidos nucleicos.

O óxido de zinco (ZnO) é um dos produtos mais utilizados na indústria, sendo usado para fabricação de uma enormidade de produtos com utilidade pública, como por exemplo, na fabricação de cosméticos, plásticos, borrachas, sabonetes e tintas. O zinco é encontrado em toda a extensão da superfície terrestre. Nas plantas os valores de concentração variam de 17 a 60 ppm, em cereais de 20 a 30 ppm e em humanos, normalmente, a concentração se aproxima de 30 ppm, correspondente a cerca de 2,2 g em uma pessoa normal (Mcdowell, 2003).

Aproximadamente 35% da absorção do zinco ocorre no abomaso e o restante nas porções do intestino delgado, com destaque para o duodeno. Além disso, devido ao processo fermentativo e dispersão de outros elementos antagonistas no meio ruminal, ocorre também uma diminuição da absorção de zinco, decorrente à formação dos complexos insolúveis. A absorção de zinco se mostra em média de 12% em vacas maduras, 20% em bezerros de 5 a 12 meses e 55% em bezerros recém-nascidos (Miller & Cragle, 1965).

Após a absorção do Zn, cerca de 85% da sua concentração total no corpo encontra-se dentro de células (Outten & O'Halloran, 2001) e, seu armazenamento é feito, principalmente, na forma de metalotioneína no fígado (McDowell, 1992), vesículas acessórias (Outten & O'Halloran, 2001), além de ossos, pelos, lã, músculos e testículos (100 a 200 mg/kg de MS; Suttle, 2010).

Segundo Suttle, (2010), a taxa de absorção de Zn pode ser influenciada de acordo com o status de Zn dos animais, sendo observado aumento na absorção de Zn durante o período de carência e diminuição da absorção quando há saturação do mineral no organismo. Esse fato ocorre devido à uma regulação positiva de transportadores intestinais de Zn (Cousins et al., 2006).

O atendimento das exigências animais por Zn é complexo, segundo o NASEM (2016), a necessidade de inclusão é de 30 mg Zn/kg MS na dieta para prevenir retardo de crescimento e anormalidades cutâneas em bovinos de corte. Entretanto, observamos na literatura recomendações de adição de 34 a 130 mg Zn/kg de MS (Samuelson et al., 2016).

A exigências parecem ser diferentes para funções distintas, segundo Underwood & Somers (1969), as necessidades mínimas de Zn para crescimento corporal são menores quando comparadas às necessidades mínimas para a espermatogênese e lã em cordeiros, dessa forma, os níveis de inclusão de Zn para atender as necessidades de cordeiros destinados a produção de lã são maiores do que cordeiros destinados a produção de carne.

A excreção de zinco é observada nas fezes, fluidos pancreáticos, biliares e em menores quantidades na urina. O total do microelemento excretado é diretamente influenciado pelas exigências do animal e pela quantidade absorvida (Mcdowell, 2003). A fonte de fornecimento pode afetar a absorção de zinco pelos ruminantes, tradicionalmente esse mineral é suplementado em forma de fontes inorgânicas como ZnO e ZnSO<sub>4</sub> (Underwood & Suttle, 1999).

A deficiência em Zn é expressa com sinais clínicos como: alopecia, pele inflamada ao redor do muflo, enrijecimento articular, rachaduras nos cascos, pele áspera e escamosa, paraqueratose em orelhas e pescoço e crescimento retardado. Além disso, o zinco está envolvido no metabolismo da vitamina "A", ações de FSH e LH, esse elemento também é fundamental na síntese de queratina, se tornando fundamental para a produção e manutenção de estruturas córneas como os cascos (Cunha Filho, 2006).

A privação grave de Zn está diretamente ligada a alterações bioquímicas no sangue e nos tecidos, redução no consumo voluntário de alimento (Suttle, 2010) e, aliado a isto, ocorrem problemas ósseos e deficiências imunológicas (Vilela et al., 2011). A privação de Zn na dieta de animais durante o período de gestação pode ocasionar em dificuldades no parto, retenção de placenta e toxemia da prenhez em ovelhas (Apgar et al., 1993).

Além dos efeitos adversos causados pela restrição, adição excessiva de Zn pode causar problemas ao metabolismo animal. Segundo Jenkins & Hidiriglou (1991), a inclusão de 500 mg de Zn por kg/MS de sucedâneo de leite afetou negativamente o crescimento de bezerros pré-ruminantes, corroborando com os níveis máximos aceitados na literatura (NASEM, 2016). Todavia, animais não ruminantes são mais resistentes do que os ruminantes às altas concentrações de Zn, isso se dá, devido a diminuição da formação de fitatos e a vulnerabilidade da microbiota ruminal frente à solubilidade do Zn no ambiente ruminal (Suttle, 2010).

## 2.4 COBRE (Cu)

O Cu é um elemento metálico, de pH alcalino, com número atômico de 29 e peso atômico de 63,5. O Cu é um elemento essencial, porém, quando utilizado de forma desordenada também se torna tóxico (Mcdowell, 2003). Esse mineral essencial é encontrado em uma grande variedade de sais minerais e compostos orgânicos na forma bivalente. No organismo animal esse elemento é encontrado em concentrações elevadas no cérebro e fígado (Gybina & Prohaska, 2008).

O Cu se apresenta na forma inorgânica, como sulfato de cobre, carbonato de cobre, cloreto de cobre, óxido de cobre e nitrato de cobre (McDowell, 2003) e hidroxicloreto de cobre (Clarkson et al., 2021), já na forma orgânica, o Cu pode ser encontrado como cobre lisina (Kegley & Spears, 1994) ou proteinato de cobre (Ward et al., 1996).

O Cu é um mineral essencial que, habitualmente, constitui um organismo normal. As concentrações de Cu variam de acordo com a espécie e idade dos animais (Georgievskii, 1980). Nos bovinos a concentração deste elemento está entre 72 e 79% no fígado, quando a capacidade de armazenamento é ultrapassada, o excedente é liberado na corrente sanguínea causando hemólise massiva (Lewis et al., 1997).

A absorção do Cu presente no alimento ou na suplementação ocorre no intestino delgado (McDowell, 2003). Posteriormente a isso, o Cu é absorvido e se liga à albumina para ser carregado até o fígado para ser estocado. A partir deste órgão, o Cu pode se manter por tempo prolongado em estoque, permanecer no estoque temporário e se manter unido a ceruloplasmina, onde 95% do Cu sérico encontra-se ligado para posterior distribuição nos tecidos corporais (McDowell, 1992), ou ser excretado juntamente à bile, ligado a metalotioneína hepática, sendo essa a maior via excretora do Cu (80%; Suttle, 1991).

Dentre as funções do Cu, se destacam o transporte de Fe, auxílio na transferência de elétrons terminais da cadeia respiratória para geração de energia dos tecidos e proteção contra os radicais livres. Sua privação na alimentação animal pode ocasionar sinais clínicos, como ataxia, falta ou má formação de pelos e lã, despigmentação, anemia, desordem no crescimento ósseo, susceptibilidade às infecções e, conseqüentemente, infertilidade e retardo no crescimento de animais jovens (Suttle, 2010).

Os requerimentos e doses máximas toleráveis são diferentes para as categorias e espécies animais, segundo o NASEM (2016), o requerimento para novilhos e vacas em terminação é de 10mg/kg de MS de Cu, com limite tolerável de 40 mg/kg de MS, já em ovinos concentrações diárias acima de 25 mg/kg de MS de Cu, podendo causar intoxicações agudas com uma única ingestão de 20 a 210 mg/kg de peso corporal (Borobia et al., 2022).

A suplementação com Cu nas formas inorgânicas torna o elemento disponível no ambiente ruminal (Spears et al., 2004), dessa forma, o Cu torna-se mais susceptível a formação de complexos com Mo e S chamados de tiomolibdatos. Esses complexos formados no rúmen tornam-se insolúveis e indisponíveis para absorção, fazendo com que haja deficiência mineral mesmo com a suplementação fornecida em níveis (Mason, 1990).

Além dos compostos dietéticos, os protozoários podem atuar no metabolismo do Cu por serem formadores de S em animais ruminantes, sua defaunação do processo fermentativo por

isolamento ou utilização de antibióticos ionóforos pode aumentar a absorção de Cu (Suttle, 2010).

Animais deficientes em Cu podem apresentar patologias sistêmicas diversas. Palmer (1993) cita que cães alimentados com dietas pobres em Cu podem ser acometidos por fragilidade óssea e claudicação. Em ovinos a preocupação é com a suplementação excessiva deste mineral. O Cu se acumula nos tecidos hepáticos ao longo do tempo. Quando os hepatócitos ficam saturados, ocorre uma alta liberação de Cu no organismo, causando danos hepáticos, hemólise e, conseqüentemente, uma liberação da hemoglobina, gerando insuficiência renal e a morte dos animais (Ortolani, 2002).

## 2.5 PANORAMA NACIONAL DA PECUÁRIA DE CORTE E PUBERDADE

A pecuária de corte aumentou a produtividade em 176% de 1990 até 2018 enquanto a área de pastejo regrediu 15% devido ao desenvolvimento de processos mais eficientes na área de pastagens, suplementações e de biotecnologias (ABIEC, 2022). O número de fêmeas expostas à inseminação artificial (IA) cresceu de 5 % para 23,5% de 2002 a 2022, respectivamente (ASBIA, 2022), o que resulta em maior controle sanitário e zootécnico, além de bezerros de maior mérito genético para características de interesse comercial. Entretanto, alguns aspectos relacionados às fêmeas ainda podem ser melhorados para que ocorra maior retorno produtivo.

A categoria de fêmeas jovens destinadas à reprodução (novilhas) é considerada improdutiva até que ocorra o nascimento do primeiro bezerro, principal fonte de receita de uma fazenda de cria. Portanto, um limitante para maior desenvolvimento da pecuária de corte é a idade elevada das fêmeas ao primeiro parto, pois retarda o retorno financeiro à propriedade rural (Nunez-Dominguez et al., 1993).

A idade ao primeiro parto (IPP) no rebanho brasileiro é elevada, em torno dos 40 meses de idade, enquanto países como os EUA apresentam o índice de IPP médio próximo de 24 meses (Nogueira, 2004; Day, 2015). No Brasil, a elevada IPP é resultado da exposição tardia das fêmeas à reprodução, uma vez que as novilhas atingem a puberdade ao redor dos 22-36 meses de idade (Nogueira, 2004). Entretanto, para que as fêmeas de corte tenham o maior desempenho reprodutivo ao longo da sua vida produtiva, o ideal é que ela seja exposta à reprodução antes de dois anos de idade (Nunez-Dominguez et al., 1993).

No gado de corte, as estações reprodutivas, ou estações de monta (EM), são necessárias para concentrar os nascimentos, programar os manejos e otimizar a mão de obra, sendo

definidas de acordo com a sazonalidade de chuvas e produção de forragens, basicamente. Isso faz com que novilhas que não estejam aptas a se reproduzir na EM sejam expostas a touros ou a IA apenas no próximo ano, aumentando a IPP.

Na EM com touros ou IA convencional, apenas as novilhas púberes têm a chance de se tornar gestantes, pois devem ter o aparelho reprodutivo e o eixo reprodutivo hormonal competentes, além de apresentar sinais de estro. Na IATF o protocolo hormonal pode induzir novilhas pré-púberes à primeira ovulação e, conseqüentemente, à puberdade, aumentando a taxa de serviço, ou seja, percentual de fêmeas em idade reprodutiva consideradas aptas e expostas à reprodução (Júnior et al., 2010; Rodrigues et al., 2013). De qualquer forma, em ambos os casos, pode-se realizar tratamento hormonal à base de progesterona (P4), anterior à EM, com intuito de induzir a primeira ovulação e, conseqüentemente, elevar o número de novilhas com CL na EM. Os protocolos hormonais para indução de puberdade são uma ferramenta eficaz para elevar a taxa de serviço na EM, entretanto, não resolvem o real problema da puberdade tardia que está relacionado principalmente à genética e ao manejo nutricional.

## 2.6 INDUÇÃO À PRIMEIRA OVULAÇÃO

Por muitos anos novilhas zebuínas foram expostas à reprodução com 21 a 24 meses de idade e 60 a 65% do peso adulto, utilizando-se o conceito de idade e peso mínimos (Arije & Wiltbank, 1974). O limitante para a reprodução, entretanto, era a baixa taxa de puberdade em novilhas com idade e peso inferiores. Atualmente, como divulgado em eventos nacionais, a idade e o peso das novilhas expostas à reprodução reduziram expressivamente devido à utilização de protocolos de indução a ovulação, as fêmeas da raça Nelore são expostas com 11 a 14 meses de idade e peso corporal inferior a 300 kg. Esse avanço foi otimizado pelos protocolos hormonais de indução à ovulação, compostos, basicamente, por fontes de progesterona e ésteres de estradiol (Day & Nogueira, 2012) em combinação com manejos nutricionais adequados e utilização de animais de maior mérito genético.

Para a otimização do tempo de produção com a redução do IPP, são utilizados protocolos hormonais para induzir a primeira ovulação utilizando P4 natural ou sintética (Anderson et al., 1996; Imwalle et al., 1998), de forma isolada ou em combinação com estradiol e seus diferentes ésteres (Rasby et al., 1998), GnRH e seus análogos (Madgwick et al., 2005) ou prostaglandinas (PGF<sub>2</sub>α) e seus análogos (Pfeifer et al., 2009). Foi sugerido que a progesterona atua na redução dos receptores hipotalâmicos de estradiol, reduzindo o feedback negativo que bloqueia a liberação de GnRH (Day & Anderson, 1998).



As taxas de ovulação obtidas após os protocolos de indução são variáveis podendo atingir até 100% em alguns estudos (Imwalle et al., 1998). Júnior et al. (2010) relataram maiores taxas de estro aos 45 dias da EM em novilhas Nelore que receberam Dispositivo intravaginal (DIV) reutilizados (9 e 27 dias de uso), ou seja, com baixas concentrações de P4, comparadas a novilhas que receberam DIV novo. Rodrigues et al. (2013) obtiveram taxa de ovulação média de 88% ao protocolo de indução de puberdade de 12 dias com DIV previamente utilizado por 27 dias. Além disso, os autores observaram maiores taxas de concepção quando o protocolo para IATF iniciou aos 12 ou 14 dias após o término do protocolo de indução, comparado a 10 dias.

Novilhas Nelore que se tornam gestantes na primeira EM após o desmame, ou seja, até os 15 meses de idade, são denominadas superprecoces e significam redução de um ano de custo na recria e antecipação da lucratividade para o produtor. Além disso, quando a primeira parição ocorre até os 24 meses de idade, em comparação aos 36 meses, a produção total de bezerras ao longo da vida produtiva da fêmea bovina é maior (Nunez-Dominguez et al., 1993). Dessa forma, a seleção genética de animais precoces na raça Nelore tem sido valorizada nos últimos anos.

Outro fato que ainda não foi cientificamente relatado é se há continuidade nos ciclos estrais posteriormente à indução da primeira ovulação. Especula-se que um percentual de novilhas retorne ao anestro após a ovulação induzida, uma vez que tem sido observado a campo uma baixa taxa de concepção em novilhas superprecoces expostas ao touro após a primeira IATF. Outro fato que pode estar relacionado e corroborar com isso é a elevada perda gestacional observada nessa categoria de fêmeas. Nogueira (2004) relatou que a primeira ovulação fisiológica em novilhas Nelore resulta em um CL de vida curta, caracterizando um primeiro ciclo estral curto. Além disso, pode haver uma maturação pós-púbere evidenciada pela maior fertilidade obtida após três estros no início da puberdade (Perry, 2012). Também nesse aspecto existe uma lacuna científica se o que ocorre de fato é a indução de puberdade ou apenas a indução da primeira ovulação e, ainda, se há diferença entre novilhas precoces e tardias na resposta ao protocolo hormonal para induzir a puberdade.

## 2.7 EFEITO DO COBRE E ZINCO NA REPRODUÇÃO

Os minerais desempenham algumas funções essenciais para o organismo dos animais. A primeira delas diz respeito a sua participação como componentes estruturais dos tecidos corporais (por exemplo Ca, P), também atuam nos tecidos e fluidos corporais como eletrólitos para manutenção do equilíbrio ácido-básico, da pressão osmótica e da permeabilidade das

membranas celulares (Ca, P, Na, Cl). Essas duas primeiras funções demandam grande quantidade de minerais, por isso esses elementos são chamados de macrominerais. Por último, os minerais funcionam como ativadores de processos enzimáticos (Cu) ou como integrantes da estrutura de metalo-enzimas (Zn) ou vitaminas (Co), sendo necessários em pequenas quantidades, por isso são chamados de microminerais, mas não são menos importantes. Segundo (McDowell et al., 1993) os ruminantes que consomem forragens em uma área com severa deficiência de cobalto (Co) ou cobre (Cu) são mais limitados pela falta desses elementos do que por energia ou proteína.

Em relato literário feito por McDowell et al. (1993), os autores ilustram bem a deficiência mineral das pastagens tropicais. De acordo com esse autor, 47% das pastagens tropicais foram deficientes em cobre e 75% em zinco. Os microminerais impactam todas as funções do organismo e na reprodução não é diferente. Por exemplo, a maior disponibilidade de microminerais como Cu e Zn tem sido associada ao aumento na fertilidade (Formigoni et al., 2011). Um aumento na concentração desses microminerais durante o desenvolvimento embrionário em bovinos aumentou o desenvolvimento dos embriões, indicando que esses microminerais são extremamente importantes no metabolismo embrionário e no seu crescimento (Hostetler et al., 2003).

Estudos como de Lequarré et al. (2001) e Picco et al. (2010) sugerem que esses minerais podem alterar o metabolismo e a viabilidade embrionária. Por exemplo, estudos mostraram que adição de Zn na fertilização “*in vitro*” pode diminuir os danos ao DNA e apoptose nas células do *cumulus* (Picco et al., 2010), por agir como antioxidante (Anchordoquy et al., 2013). Além disso, Anchordoquy et al., (2014) mostraram que o Zn aumenta a atividade da superóxido desmutase (SOD) nas células do *cumulus* e isso pode ter um efeito antioxidante nos embriões. No entanto, não há nenhum estudo sobre o uso desses microminerais como suplemento de novilhas Nelore e seu efeito na mortalidade embrionária, bem como na produção e qualidade de embriões.

A suplementação injetável de Zn aumentou a concentração plasmática de P4 em vacas submetidas à IATF (Anchordoquy et al., 2019). Da mesma forma, tem sido demonstrado que o Zn inibe a apoptose em células luteais de ratos (Zhang et al., 1998) e a deficiência de Zn na dieta pode causar uma diminuição do CL em camundongos (Taneja et al., 1990). Além disso, estudos apontam a importância da superóxido dismutase de Cu / Zn (Cu / Zn-SOD) para manter o tamanho de CL e a produção de P4 (Nishimura et al. 2008; Kawaguchi et al., 2013). A enzima Cu / Zn-SOD é uma das principais no mecanismo de defesa celular de espécies reativas de oxigênio (Ho, 2004). Assim, a ligação de Zn à SOD é essencial para sua função biológica

adequada (Borchelt et al., 1994; Sahawneh et al., 2010). Em animais com deficiência de Zn, a atividade reduzida da Cu / Zn-SOD pode danificar as células luteais, diminuir o tamanho de CL e reduzir a produção de P4. Já é bem demonstrado que o aumento da concentração de P4 pós IA está associado com o aumento da prenhez (Ferraz et al., 2016; Santos et al., 2018).

No geral, o Zn está pouco disponível no organismo animal, exceto quando fornecido na dieta. Segundo Vázquez-Armijo et al. (2011), no geral, a deficiência de Zn na dieta de ovinos e caprinos, afeta diretamente eventos como manifestação do comportamento de cio, redução na espermatogênese, motilidade espermática, atrofia de testículos e túbulos seminíferos, além da redução de funções celulares e, conseqüentemente, da saúde animal.

Da mesma forma que o Zn, a deficiência de Cu também pode deprimir a atividade da enzima SOD em ratos e, segundo Mitchell et al. (1988), há uma relação direta com a deficiência desse microelemento e a produção de prostaglandinas pelo útero em camundongos. Esses dados não foram observados em bovinos, entretanto, Nazari et al. (2019) observaram que vacas leiteiras com atividade lútea normal apresentavam altas concentrações plasmáticas de Cu quando comparadas com vacas apresentando atividade lútea prolongada, curta, com atrasos na ovulação e anovulatórias.

Du Plessis et al. (1999) induziram deficiência cúprica secundária em ovelhas com a suplementação de níveis elevados de Mo e Se, os autores relataram supressão do comportamento cio nas ovelhas, contudo, as fêmeas continuaram ovulando. De acordo com os autores, a redução da absorção de Cu devido a suplementação com antagonistas, reduziu a atividade de estradiol, hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH).

Mesmo em baixos níveis, a suplementação de Cu apresenta efeitos tóxicos para pequenos ruminantes, entretanto, em dosagens corretas (8 a 12 ppm para caprinos e 7 a 11 ppm para ovinos; Vázquez-Armijo et al., 2011), esse microelemento faz-se necessário. Naziroğlu et al. (1998) relataram o aborto de 148, segundo os autores, a etiologia mais comum encontrada foi a deficiência em micronutrientes, entre eles, o Cu.

Da mesma forma, Hidiroglou (1979), relatou que a deficiência de Cu inibe a nidação dos embriões, causa perdas, perdas gestacionais precoces além de abortos no final da gestação em cabras. Além disso, os autores mencionaram o aparecimento de fetos mumificados, lesões necróticas e hemorragia nas placentas. Por outro lado, altas concentrações de Cu (120 ng/dL) “*in vitro*” são capazes de danificar as células do *cumulus*, aumentar os danos ao DNA das células, aumentar apoptose e reduzir atividade mitocondrial (Anchordoquy et al., 2017).

Vale ressaltar que a maioria dos estudos sobre o impacto dos microminerais na reprodução foram feitos “*in vitro*” ou usando o modelo de roedores. Deste modo faz-se

necessário extrapolar os achados para a prática nutricional de todos os animais. Muitos estudos nutricionais controlados precisam ser realizados para determinar se os mesmos efeitos observados em roedores também ocorrem no gado a campo.

## REFERÊNCIAS

- ABIEC. Beef report. **Perfil da pecuária no Brasil**. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. 2019. <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2019/.pdf>. Acesso em: 04 fev. 2022.
- ANCHORDOQUY, J. M., ANCHORDOQUY, J. P.; NIKOLOFF, N.; PASCUA, A. M.; FURNUS, C. C. High copper concentrations produce genotoxicity and cytotoxicity in bovine cumulus cells. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 24, p. 20041-20049, 2017.
- ANCHORDOQUY, J. M.; ANCHORDOQUY, J. P.; GALARZA, E. M.; FARNETANO, N. A.; GIULIODORI, M. J.; NIKOLOFF, N.; FURNUS, C. C. Parenteral zinc supplementation increases pregnancy rates in beef cows. **Biological Trace Element Research**, v. 192, p. 175-182, 2019.
- ANCHORDOQUY, J. P.; ANCHORDOQUY, J. M.; PICCO, S. J.; SIRINI, M. A.; ERRECALDE, A. L.; FURNUS, C. C. Influence of manganese on apoptosis and glutathione content of cumulus cells during in vitro maturation in bovine oocytes. **Cell Biology International**, v. 38, n. 2, p. 246-253, 2014.
- ANCHORDOQUY, J. P.; ANCHORDOQUY, J. M.; SIRINI, M. A.; MATTIOLI, G.; PICCO, S. J.; FURNUS, C. C. Effect of different manganese concentrations during in vitro maturation of bovine oocytes on DNA integrity of cumulus cells and subsequent embryo development. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 48, n. 6, p. 905-911, 2013.
- ANDERSON, L. H.; MCDOWELL, C. M.; DAY, M. L. Progestin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. **Biology of reproduction**, v. 54, n. 5, p. 1025-1031, 1996.
- APGAR, J.; EVERETT, G. A.; FITZGERATD, J. A. Dietary Zinc Deprivation Affects Parturition and Outcome of Pregnancy in the Ewe. **Nutrition Research**. v. 13, p. 319- 330, 1993.
- ARELOVICH, H. M., OWENS, F. N., HORN, G. W., & VIZCARRA, J. A. Effects of supplemental zinc and manganese on ruminal fermentation, forage intake, and digestion by cattle fed prairie hay and urea. **Journal of animal science**, v. 78, n. 11, p. 2972-2979, 2000.
- ARIJE, G. F.; WILTBANK, J. N. Prediction of age and weight at puberty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 38, n. 4, p. 803-810, 1974.
- ARTHINGTON, J. D.; SPEARS, J. W. Effects of tribasic copper chloride versus copper sulfate provided in corn-and molasses-based supplements on forage intake and copper status of beef heifers. **Journal of animal science**, v. 85, n. 3, p. 871-876, 2007.
- ASBIA. Associação Brasileira de Inseminação Artificial. INDEX ASBIA 2017. p. 37.
- BARBOSA, F.A.; SOARES-FILHO, B.S.; MERRY, F.D.; AZEVEDO, H.O.; COSTA, W.L.S.; COE, M.T.; BATISTA, E.L.S.; MACIEL, T.G.; SHEEPERS, L.C.; OLIVEIRA,

A.R.; RODRIGUES, H.O. **Cenários para pecuária de corte amazônica**. Centro de Sensoriamento Remoto da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

BARROSO, J. P. R.; BAGGIO, M.; DOS SANTOS MAIA, K.; CAROLINA, L., SOARES, B., POLIZEL, D. M.; DE CASTRO FERRAZ, M. V. Estratégias genéticas e nutricionais aplicadas nas fases do desenvolvimento para antecipar a puberdade de novilhas de corte no Brasil. **Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal**, p. 131, 2020.

BARUSELLI, P. S.; DE OLIVEIRA MARQUES, M.; FERREIRA, R. M.; DE SÁ FILHO, M. F.; BATISTA, E. D. O. S.; MENDES, L. **Avanços conceituais aplicados à IATF em vacas de cria I**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), v. 91, p. 33, 2013.

BONHOMME, A.; DURAND, M.; DUMAY, C.; BEAUMATIN, P. Etude in vitro du comportement des populations microbiennes du rumen en présence de zinc sous forme de sulfate. **In: Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique**. EDP Science. p. 937-942. 1979.

BORCHELT, D. R.; LEE, M. K.; SLUNT, H. S.; GUARNIERI, M.; XU, Z. S.; WONG, P. C.; CLEVELAND, D. W. Superoxide dismutase 1 with mutations linked to familial amyotrophic lateral sclerosis possesses significant activity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, n. 17, p. 8292-8296, 1994.

BOROBIA, M.; VILLANUEVA-SAZ, S.; RUIZ DE ARCAUTE, M.; FERNÁNDEZ, A.; VERDE, M. T.; GONZÁLEZ, J. M.; ORTÍN, A. Copper poisoning, a deadly hazard for sheep. **Animals**, v. 12, n. 18, p. 2388, 2022.

CALDERA, E.; WEIGEL, B.; KUCHARCZYK, V. N.; SELLINS, K. S.; ARCHIBEQUE, S. L.; WAGNER, J. J.; ENGLE, T. E. trace mineral source influences ruminal distribution of copper and zinc and their binding strength to ruminal digesta. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 4, p. 1852-1864, 2019.

CIDRINI, I. A.; LAGE, J. F.; FERREIRA, I.; OLIVEIRA, K.; PRADOS, L. F.; SIQUEIRA, G. R.; RESENDE, F. D. PSXII-17 Trace minerals source influences the performance of Nellore cattle in the growing phase during the transition between dry to rainy season in Brazil. **Journal of Animal Science**, v. 98, p. 445-446, 2020.

CLARKSON, A. H.; PAINE, S.W.; KENDALL, N. R. Evaluation of the solubility of a range of copper sources and the effects of iron & sulphur on copper solubility under rumen simulated conditions. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 68, p. 126815, 2021.

CUNHA FILHO, L. F. C. Determinação do teor de zinco no casco e soro sanguíneo, da produção de leite e contagem de células somáticas em bovinos leiteiros suplementados com *Saccharomyces cerevisiae*. 2006. 94 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2006.

COHEN, J.; F. A. STEWARD. Hydroxy minerals-the newest development in mineral nutrition. **AFMA Matrix**, v. 23, n. 1, p. 45-49, 2014.

COUSINS, R. J.; LIUZZI, J. P.; LICHTEN, L. A. Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 34, p. 24085-24089, 2006.

DANIEL, J. B.; KVIDERA, S. K.; MARTIN-TERESO, J. Total-tract digestibility and milk productivity of dairy cows as affected by trace mineral sources. **Journal of dairy science**, v. 103, n. 10, p. 9081-9089, 2020.

DAY, M. L.; ANDERSON, L. H. Current concepts on the control of puberty in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 1-15, 1998.

DAY, M. L. Nutritional effects on beef heifer development, puberty and subsequent reproduction. **In: Proc. Florida Ruminant Nutrition Symposium**. p. 69-77.2015.

DAY, M. L.; NOGUEIRA, G. P. Management of age at puberty in beef heifers to optimize efficiency of beef production. **Animal frontiers**, v. 3, n. 4, p. 6-11, 2013.

DE ABREU, L. Â.; REZENDE, V. T.; GAMEIRO, A. H.; BARUSELLI, P. S. Effect of reduced age at first calving and an increased weaning rate on CO<sub>2</sub> equivalent emissions in a cow-calf system. **Revista Engenharia na Agricultura-REVENG**, v. 30, p. 311-318, 2022.

DE MENDONÇA JÚNIOR, A. F.; BRAGA, A. P.; DOS SANTOS, A. P. M.; DE SALES, L. E. M.; DE MESQUITA, H. C. Minerais: importância de uso na dieta de ruminantes. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 7, n. 1, p. 01-13, 2011.

DURAND, M.; KAWASHIMA, R. Influence of minerals in rumen microbial digestion. **In: Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants: Proceedings of the 5th International Symposium on Ruminant Physiology, held at Clermont-Ferrand, on 3rd–7th September 1979**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1980. p. 375-408.

ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S.; TEIXEIRA, L. A. Seleção para precocidade em novilhas de corte. **In: Pires AV, editor. Bovinocultura de corte**. FEALQ, 2010.

ENGLE, T. E.; SPEARS, J. W. Effects of dietary copper concentration and source on performance and copper status of growing and finishing steers. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 9, p. 2446-2451, 2000.

ERYAVUZ, A.; DEHORITY, B. A. Effects of supplemental zinc concentration on cellulose digestion and cellulolytic and total bacterial numbers in vitro. **Animal Feed Science and Technology**, v. 151, n. 3-4, p. 175-183, 2009.

FERRAZ, M. V. C.; PIRES, A. V.; SANTOS, M. H.; SILVA, R. G.; OLIVEIRA, G. B.; POLIZEL, D. M.; SARTORI, R.; NOGUEIRA, G. P. Combination of nutrition and genetics is able to reduce age at puberty in Nelore heifers to below 18 months. **animal**, v. 12, n. 3, p. 569-574, 2018.

FERRAZ, M. V. C.; PIRES, A. V.; BIEHL, M. V.; SANTOS, M. H.; BARROSO, J. P.; GONÇALVES, J. R.; DAY, M. L. Comparison of two-timed artificial insemination system schemes to synchronize estrus and ovulation in Nelore cattle. **Theriogenology**, v. 86, n. 8, p. 1939-1943, 2016.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **Cenário da demanda por alimentos no Brasil**, 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **Cenário da demanda por alimentos no Brasil**, 2015.

FORMIGONI, A.; FUSTINI, M.; ARCHETTI, L.; EMANUELE, S.; SNIFFEN, C.; BIAGI, G. Effects of an organic source of copper, manganese and zinc on dairy cattle productive performance, health status and fertility. **Animal Feed Science and Technology**, 164: 191-198, 2011.

FORSBERG, C. W. Effects of heavy metals and other trace elements on the fermentative activity of the rumen microflora and growth of functionally important rumen bacteria. **Canadian journal of microbiology**, v. 24, n. 3, p. 298-306, 1978.

GENTHER, O. N.; HANSEN, S. L. The effect of trace mineral source and concentration on ruminal digestion and mineral solubility. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 1, p. 566-573, 2015.

GEORGIEVSKII, V. I. The physiological role of macroelements. **Mineral nutrition of animals**, v. 1, n. 2, p. 91-170, 1982.

GOULD, L., KENDALL, N. R. Role of the rumen in copper and thiomolybdate absorption. **Nutrition Research Reviews**, v. 24, n. 2, p. 176-182, 2011.

GUNSKI, R. J.; GARNERO, A. V.; BEZERRA, L.A.F.; CORRADO, M.P.; LÔBO, R.B. Idade ao primeiro parto, período de gestação e peso ao nascimento na raça Nelore. **Ciência Agrônômica**, v. 32, n. 1-2, p. 46-52, 2001.

GYBINA, A. A.; PROHASKA, J. R. Copper deficiency results in AMP-activated protein kinase activation and acetylCoA carboxylase phosphorylation in rat cerebellum. **Brain Research Reviews**, USA, v.1204, p.69-76, 2008.

HANSEN, S. L.; SCHLEGEL, P.; LEGLEITER, L. R.; LLOYD, K. E.; SPEARS, J. W. Bioavailability of copper from copper glycinate in steers fed high dietary sulfur and molybdenum. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 1, p. 173-179, 2008.

HARTMAN, S. J., GENTHER-SCHROEDER, O. N., HANSEN, S. L. Effect of trace mineral source on mineral status and performance of beef steers fed low-or high-sulfur diets. **Journal of animal science**, v. 95, n. 9, p. 4139-4149, 2017.

HENDERSON, G.; COX, F.; GANESH, S.; JONKER, A.; YOUNG, W.; JANSSEN, P. H. Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. **Scientific Reports**, v. 5, p. 14567, 2015.

HIDIROGLOU, M. Trace element deficiencies and fertility in ruminants: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n. 8, p. 1195-1206, 1979.

HILSCHER, F. H.; LAUDERT, S. B.; HELDT, J. S.; COOPER, R. J.; DICKE, B. D.; JORDON, D. J.; ERICKSON, G. E. Effect of copper and zinc source on finishing



performance and incidence of foot rot in feedlot steers. **Applied Animal Science**, v. 35, n. 1, p. 94-100, 2019.

HO, E. Zinc deficiency, DNA damage and cancer risk. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 15, n. 10, p. 572-578, 2004.

HOSTETLER, C. E.; KINCAID, R. L.; MIRANDO, M. A. The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. **The Veterinary Journal**, v. 166, n. 2, p. 125-139, 2003.

HUBBERT, J. R.; CHENG, E.; BURROUGHS, W. Mineral requirement of rumen microorganisms for cellulose digestion in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 17, n. 3, p. 559-568, 1958.

IBGE 2016. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 1985-2016.

IBRAHEEM, M.; KVIDERA, S. K.; FRY, R. S.; BRADFORD, B. J. Meta-analysis of the effects of sulfate versus hydroxy trace mineral source on nutrient digestibility in dairy and beef cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 4, p. 2386-2394, 2023.

IMWALLE, D.B.; PATTERSON, D.J.; SCHILLO, K.K. Effects of melengestrol acetate on onset of puberty, follicular growth, and patterns of luteinizing hormone secretion in beef heifers. **Biology of reproduction**, v. 58, n. 6, p. 1432-1436, 1998.

JÚNIOR, I. C.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; AONO, F. H. S.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology**, v. 74, n. 6, p. 903-911, 2010.

KAUFFOLD, J.; AMER, H.A.H.; BERGFELD, U.; WEBER, W.; SOBIRAJ, A. The in vitro developmental competence of oocytes from juvenile calves is related to follicular diameter. **The Journal of Reproduction and Development**, v. 51, n. 3, p. 325-332, 2005. 51:325–332, 2005.

KAWAGUCHI, S.; SAKUMOTO, R.; OKUDA, K. Induction of the expressions of antioxidant enzymes by luteinizing hormone in the bovine corpus luteum. **Journal of Reproduction and Development**, v. 59, n. 3, p. 219-224, 2013.

KEGLEY, E. B.; SPEARS, J. W. Bioavailability of feed-grade copper sources (oxide, sulfate, or lysine) in growing cattle. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2728-2734, 1994.

LAMB, G. C.; BROWN, D. R.; LARSON, J. E.; DAHLEN, C. R.; DILORENZO, N., ARTHINGTON, J. D.; DICOSTANZO, A. Effect of organic or inorganic trace mineral supplementation on follicular response, ovulation, and embryo production in superovulated Angus heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 106, n. 3-4, p. 221-231, 2008.

LANDRY, D. A.; BELLEFLEUR, A. M.; LABRECQUE, R.; GRAND, F. X.; VIGNEAULT, C., BLONDIN, P.; SIRARD, M. A. Effect of cow age on the in vitro developmental competence of oocytes obtained after FSH stimulation and coasting treatments. **Theriogenology**, v. 86, n. 5, p. 1240-1246, 2016.

LANDRY, D.A.; ROSSI-PERAZZA, L.; LAFONTAINE, S.; SIRARD, M.A. Expression of atresia biomarkers in granulosa cells after ovarian stimulation in heifers. **Reproduction**, v. 156, n. 3, p. 239-248, 2018.

LEE, J.; KNOWLES, S. O.; JUDSON, G. J. Trace-element and vitamin nutrition of grazing sheep. **In: Sheep nutrition**. Wallingford UK: CABI Publishing, 2002. p. 285-311.

LEQUARRÉ, A.S.; FEUGANG, J.M.; MALHOMME, O.; DONNAY, I.; MASSIP, A.; DESSY, F.; VAN LANGENDONCKT, A. Expression of Cu/Zn and Mn superoxide dismutases during bovine embryo development: influence of in vitro culture. **Molecular Reproduction and Development**, v. 58, n. 1, p. 45-53, 2001.

LEWIS, N. J.; FALLAH-RAD, A. H.; CONNOR, M. L. Copper toxicity in confinement-housed ram lambs. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 38, n. 8, p. 496, 1997.

MADGWICK, S.; EVANS, A. C.; BEARD, A. P. Treating heifers with GnRH from 4 to 8 weeks of age advanced growth and the age at puberty. *Theriogenology*, v. 63, n. 8, p. 2323-2333, 2005.

MARTINEZ, A.; CHURCH, D. C. Effect of various mineral elements on in vitro rumen cellulose digestion. **Journal of animal science**, v. 31, n. 5, p. 982-990, 1970.

MASON, J. The biochemical pathogenesis of molybdenum induced copper deficiency syndromes in ruminants: Towards the final chapter. **British Veterinary Journal**, v.43, p.18 – 21, 1990.

MCDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. 2. ed. Netherlands: Elsevier Science, 2003. 644 p.

MCDOWELL, L.R. **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego: Academic Press, 1992. 524p.

MCDOWELL, L. R.; CONRAD, J. H. **Trace mineral nutrition in Latin America [ruminants]**. World Animal Review, 1977.

MILLER, J. K.; CRAGLE, R. G. Gastrointestinal sites of absorption and endogenous secretion of zinc in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 48, n. 3, p. 370-373, 1965.  
MITCHELL, L. L.; ALLEN, K. G.; MATHIAS, M. M. Copper deficiency depresses rat aortae superoxide dismutase activity and prostacyclin synthesis. **Prostaglandins**, v. 35, n. 6, p. 977-986, 1988.

NAPASIRTH, P.; WACHIRAPAKORN, C.; SAENJAN, P.; YUANGKLANG, C. Effect of sulfate-containing compounds on methane production by using an in vitro gas production technique. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 12, n. 8, p. 723-729, 2013.

NASEM. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**, 8th Revised Edition. Washington, D.C.: National Academies Press, 2016.

NAZIROĞLU, M.; ÇAY, M.; KARATAŞ, F.; ÇİMTAY, İ.; AKSAKAL, M. Plasma Levels of Some Vitamins and Elements in Aborted Ewes in Elazığ Region. **Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences**, v. 22, n. 2, p. 171-174, 1998.

NAZARI, A.; DIRANDEH, E.; ANSARI-PIRSARAEI, Z.; DELDAR, H. Antioxidant levels, copper and zinc concentrations were associated with postpartum luteal activity, pregnancy loss and pregnancy status in Holstein dairy cows. **Theriogenology**, v. 133, p. 97-103, 2019.

NISHIMURA, R.; KOMIYAMA, J.; TASAKI, Y.; ACOSTA, T.J.; OKUDA, K. Hypoxia promotes luteal cell death in bovine corpus luteum. **Biology of Reproduction**, v. 78, n. 3, p. 529-536, 2008.

NRC, National Research Council - NRC. 7. ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 381p.

NRC, National Research Council. **Nutrient Requirements of Small Ruminants**. In Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids, 1st ed.; National Academies Press: Washington, DC, USA, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. In National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, 8<sup>th</sup> ed.; The National Academies Press: Washington, DC, USA, 2021.

NOGUEIRA, G.P. Puberty in South American Bos indicus (zebu) cattle. **Animal reproduction science**, v. 82, p. 361-372, 2004.

NUNEZ-DOMINGUEZ, R.; VAN VLECK, L.D.; BOLDMAN, K.G.; CUNDIFF, L.V. Correlations for genetic expression for growth of calves of Hereford and Angus dams using a multivariate animal model. **Journal of Animal Science**, v. 71, n. 9, p. 2330-2340, 1993.

OLUKOSI, O. A.; VAN KUIJK, S.; HAN, Y. Copper and zinc sources and levels of zinc inclusion influence growth performance, tissue trace mineral content, and carcass yield of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 97, n. 11, p. 3891-3898, 2018.

ONU. United nations, department of economic and social affairs. The United Nations, Population Division, Population Estimates and Projections Section, 2012.

ORTOLANI, E.L. Macro e microelementos. **In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, 2002. p.641-65.

OUTTEN, C. E.; O'HALLORAN, T. V. Femtomolar sensitivity of metalloregulatory proteins controlling zinc homeostasis. **Science**, v. 292, n. 5526, p. 2488-2492, 2001.

PALMER, N. Bones and joints. **In: JUBB K.V.F. Pathology of Domestic Animals**. 4th ed. San Diego, Academic Press INC, 1993, p.1-138.

PECHOVA, A.; PAVLATA, L.; LOKAJOVA, E. Zinc supplementation and somatic cell count in milk of dairy cows. **Acta Veterinaria Brno**, v. 75, n. 3, p. 355-361, 2006.

PERRY, G.A. Physiology, and endocrinology symposium: Harnessing basic knowledge of factors controlling puberty to improve synchronization of estrus and fertility in heifers.

**Journal of Animal Science**, v. 90, n. 4, p. 1172-1182, 2012.

PFEIFER, L. F.; SIQUEIRA, L. G.; MAPLETOFT, R. J.; KASTELIC, J. P.; ADAMS, G.P.; COLAZO, M.G.; SINGH, J. Effects of exogenous progesterone and cloprostenol on ovarian follicular development and first ovulation in prepubertal heifers. **Theriogenology**, v. 72, n. 8, p. 1054-1064, 2009.

PICCO, S. J.; ANCHORDOQUY, J. M.; DE MATOS, D.G.; ANCHORDOQUY, J.P.; SEOANE, A.; MATTIOLI, G.A.; ERRECALDE, A.L.; FURNUSC, C. Effect of increasing zinc sulphate concentration during in vitro maturation of bovine oocytes. **Theriogenology**, v. 74, n. 7, p. 1141-1148, 2010.

PINO, F.; HEINRICHS, A. J. Effect of trace minerals and starch on digestibility and rumen fermentation in diets for dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 4, p. 2797-2810, 2016.

POGGE, D. J.; HANSEN, S. L. Supplemental vitamin C improves marbling in feedlot cattle consuming high sulfur diets. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 9, p. 4303-4314, 2013.

RASBY, R.J.; DAY, M.L.; JOHNSON, S.K.; KINDER, J.E.; LYNCH, J.M.; SHORT, R.E.; WETTEMANN, R.P.; HAFS, H.D. Luteal function, and estrus in peripubertal beef heifers treated with an intravaginal progesterone releasing device with or without a subsequent injection of estradiol. **Theriogenology**, v. 50, n. 1, p. 55-63, 1998.

REDDY, B. V. V., NAYAK, S., KHARE, A., PAL, R. P., SHARMA, R., CHOURASIYA, A., & THAKUR, S. Role of hydroxy trace minerals on health and production of livestock: a review. **Journal of Livestock Scienc** (ISSN online 2277-6214), v. 12, p. 279-286, 2021.

RODRIGUES, A.D.; PERES, R.F.; LEMES, A.P.; MARTINS, T.; PEREIRA, M.H.; DAY, M.L.; VASCONCELOS, J.L. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nellore heifers. **Theriogenology**, v. 79, n. 1, p. 135-141, 2013.

SAHAWNEH, M. A.; RICART, K. C.; ROBERTS, B. R.; BOMBEN, V. C.; BASSO, M.; YE, Y.; SAHAWNEH, J.; FRANCO, M. C.; BECKMAN, J. S.; ESTÉVEZ, A. G. Cu, Zn-superoxide dismutase increases toxicity of mutant and zinc-deficient superoxide dismutase by enhancing protein stability. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 44, p. 33885-33897, 2010.

SAMUELSON, K. L.; HUBBERT, M. E.; GALYEAN, M. L.; LÖEST, C. A. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: the 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 6, p. 2648-2663, 2016.

SANTOS, M. H.; FERRAZ, M. V. C.; POLIZEL, D. M, BARROSO, J. P. R.; MISZURA, A.A.; MARTINS, A. S.; BERTOLONI, A.V.; OLIVEIRA, G.B.; PIRES, A.V. Decreasing from 9 to 7 days the permanence of progesterone inserts make possible their use up to 5 folds in suckled Nellore cows. **Theriogenology**, v. 111, p. 56-61, 2018.

SERENO, J. R. B.; PELLEGRIN, A. O.; LARA, M. A. C.; ABREU, U. G. P.; SERENO, F. T. P. S., CHALITA, L. V. A. S. Estimativa da idade e peso a primeira monta de novilhas no Pantanal. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 36, p. 1561-1565, 2001.

SHAFFER, J. **Effects of zinc on bovine mammary epithelia**. 2016. 69 f. Tese de Doutorado. (Doutorado em Ciências) Department of Animal Sciences & Industry Kansas State University, Manhattan, Kansas, 2016

SILVA, F. D.; SÁ, J. D.; SCHIO, A. R.; ÍTAVO, L. C. V.; SILVA, R. R.; MATEUS, R. G. Suplementação a pasto: disponibilidade e qualidade x níveis de suplementação x desempenho. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, n. 1, p. 371-389, 2009.

SILVA, G. G. **Minerais orgânicos na dieta de vacas leiteiras no período de transição**. 2021. 123 f. Tese de Doutorado. (Doutorado em Ciências) Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021

SILVA, F.A.E. **Avaliação do consumo e determinação da mobilidade mineral em bovinos suplementados com fontes quelatadas e inorgânicas de microminerais**. 2017.

SPEARS, J. W. Zinc methionine for ruminants: relative bioavailability of zinc in lambs and effects of growth and performance of growing heifers. *Journal of animal science*, v. 67, n. 3, p. 835-843, 1989.

SPEARS, J. W.; KEGLEY, E. B.; MULLIS, L. A. Bioavailability of copper from tribasic copper chloride and copper sulfate in growing cattle. *Animal Feed Science and Technology*, v. 116, n. 1-2, p. 1-13, 2004.

SPEARS, J. W.; KEGLEY, E. B. Effect of zinc source (zinc oxide vs zinc proteinate) and level on performance, carcass characteristics, and immune response of growing and finishing steers. *Journal of Animal science*, v. 80, n. 10, p. 2747-2752, 2002.

SPRINGMAN, S. A.; DREWOSKI, M. E.; FUNSTON, R. N. Effects of hydroxy trace mineral supplementation on gain and reproductive performance in beef heifers. *Livestock Science*, v. 245, p. 104425, 2021.

SURJUS, R.S., PRATA, A.B., BORSATO, M., MATTOS, F.C.S.Z., SILVEIRA, M.C., MOURÃO, G.B., PIRES, A.V., WILTBANK, M.C., SARTORI, R. In vivo embryo production in cows superovulated 1 or 2 days after ovum pick-up. *Reproduction Fertility and Development*, v. 26, p. 527-532, 2014.

SUTTLE, N.F. The interactions between copper, molybdenum and sulphur in ruminant nutrition. *Annual Veterinary Nutrition, Edinburgh Scotland*, v.11, p.121–140, 1991.

SUTTLE, N. F. **Mineral Nutrition of Livestock**. Cambridge: CABI International, v. I, ed. 4, p. 436 – 458, 2010.

TANEJA, S. K.; KAUR, R. Pathology of ovary, uterus, vagina and gonadotrophs of female mice fed on Zn-deficient diet. *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 28, n. 11, p. 1058-1065, 1990.

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

UNDERWOOD, E. J.; SOMERS, M. Studies of zinc nutrition in sheep. I. The relation of zinc to growth, testicular development, and spermatogenesis in young rams. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 20, n. 5, p. 889-897, 1969.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed. New York: Cabi, 1999. 624p.

VANVALIN, K.R.; GENTHER-SCHROEDER, O.N.; CARMICHAEL, R.N.; BLANK, C.P.; DETERS, E.L.; HARTMAN, S.J.; NIEDERMAYER, E.K.; LAUDERT, S.B.; HANSEN, S.L. Influence of dietary zinc concentration and supplemental zinc source on nutrient digestibility, zinc absorption, and retention in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 12, p. 5336-5344, 2018.

VANVALIN, K.R.; GENTHER-SCHROEDER, O.N.; LAUDERT, S.B.; HANSEN, S.L. Relative bioavailability of organic and hydroxy copper sources in growing steers fed a high antagonist diet. **Journal of Animal Science**, v. 97, pag.1375-1383, 2019.

VÁZQUEZ-ARMIJO, J. F.; MARTÍNEZ-TINAJERO, J. J.; LÓPEZ, D.; SALEM, A. F. Z. M.; ROJO, R. In vitro gas production and dry matter degradability of diets consumed by goats with or without copper and zinc supplementation. **Biological trace element research**, v. 144, p. 580-587, 2011.

VÁZQUEZ-ARMIJO, J. F.; ROJO, R., LÓPEZ, D.; TINOCO, J. L.; GONZÁLEZ, A., PESCADOR, N.; DOMÍNGUEZ-VARA, I. A. Trace elements in sheep and goats reproduction: a review. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 14, n. 1, p. 1-13, 2011.

VÉRAS, A. S. C.; VALADARES FILHO, S. D. C.; COELHO DA SILVA, J. F.; PAULINO, M. F.; CECON, P. R.; VALADARES, R. F. D.; ROCHA, C. V. Composição corporal e requisitos líquidos e dietéticos de macroelementos minerais de bovinos Nelore não-castrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 1106-1111, 2001.

VILELA, F. G.; ZANETTI, M. A.; NETTO, A. S.; FREITAS JUNIOR, J. E. D.; YOSHIKAWA, C. Y. C. Biodisponibilidade de fontes orgânicas e inorgânicas de zinco em ovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 448-455, 2011.

VILLAGÓMEZ-ESTRADA, S.; PÉREZ, J. F., DARWICH, L.; VIDAL, A.; VAN KUIJK, S.; MELO-DURÁN, D.; SOLÀ-ORIO, D. Effects of copper and zinc sources and inclusion levels of copper on weanling pig performance and intestinal microbiota. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 5, p. skaa117, 2020.

WARD, J. D.; SPEARS, J. W.; KEGLEY, E. B. Bioavailability of Copper Proteinates and Copper Carbonate Relative to Copper Sulfate in Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 127-132, 1996.

YATOO, M. I., SAXENA, A., DEEPA, P. M., HABEAB, B. P., DEVI, S., JATAV, R. S., & DIMRI, U. Role of trace elements in animals: a review. **Veterinary world**, v. 6, n. 12, p. 963, 2013.

ZHANG, J. H.; YU, J.; LI, W.X.; CHENG, C.P. Inhibited Apoptosis in Rat Corpus Luteal Cells by Flow Cytometry and Fluorochromes. **Chinese Journal of Physiology**, v. 41, n. 2, p. 121-126, 1998.

ZHANG, W.; WANG, R.; KLEEMANN, D.O.; LU, D.; ZHU, X.; ZHANG, C.; JIA, Z. Effects of dietary copper on nutrient digestibility, growth performance and plasma copper status in cashmere goats. **Small Ruminant Research**, v. 74, n. 1-3, p. 188-193, 2008.

### **3 EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES E DA FONTE DE MICROMINERAIS NA DIGESTIBILIDADE APARENTE DOS NUTRIENTES E PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS NELORE**

#### **3.1 INTRODUÇÃO**

Os microminerais são indispensáveis para muitos processos biológicos, desempenhando papel importante em funções fisiológicas, estruturais, regulatórias e catalíticas (Suttle, 2010). Diante deste cenário, microminerais como o Cu e Zn têm sido associados a melhores respostas perante os desafios nutricionais da bovinocultura de corte (Hartman et al., 2017; Hilscher et al., 2019; VanValin et al., 2018; VanValin et al., 2019).

Mesmo com a possibilidade do consumo de forragens de boa qualidade, ainda sim, há a necessidade da suplementação com micronutrientes essenciais para atender as exigências fisiológicas do animal. A suplementação mineral é um complemento alimentar necessário para um desempenho animal além das expectativas (Silva et al., 2009).

As diferenças nas exigências entre hospedeiro e os microrganismos ruminais se tornam um desafio para que haja um equilíbrio na suplementação de Cu e Zn nas dietas, atendendo as necessidades dos animais sem prejudicar o processo fermentativo no rúmen. Segundo Genter & Hansen (2015), apenas minerais solúveis são passíveis para o uso dos microrganismos e interações com antagonistas no rúmen. Portanto, pesquisas vêm se desenvolvendo para produzir moléculas com menor solubilidade ruminal (Cohen & Steward, 2014; Schimitt, 2018), embora ainda permaneçam disponíveis para a absorção no intestino delgado, diminuindo os prejuízos à degradabilidade do substrato e retenção de energia pelo animal (Spears et al. 2004).

Segundo Genter & Hansen, (2015), em estudo realizado com vacas leiteiras, a adição de microminerais na forma de sulfatos causou a diminuição da taxa de desaparecimento da matéria seca quando comparados com animais não suplementados com microminerais ou hidroximinerais, entretanto, os autores não observaram melhorias na digestibilidade da FDN. Em contrapartida, Faulkner & Weiss (2017) observaram que vacas leiteiras alimentadas com hidroximinerais de Cu, Zn e Mn nas doses de 10, 35 e 32 mg/kg suplementares, respectivamente, apresentaram aumento na digestibilidade da FDN quando comparado com minerais na forma de sulfatos (48,5 vs. 46,4%).

Além das possíveis melhorias em relação à digestibilidade aparente dos nutrientes, Miller et al. (2020) observaram que, vacas alimentadas com hidroximinerais em dietas compostas por silagem de milho híbrido, contendo menor quantidade de lignina, tenderam a



aumentar a concentração total de AGCC quando comparadas com vacas alimentadas com minerais em forma de sulfatos (121,5 vs. 116,0 mM).

Em estudo realizado por Guimarães et al. (2022), utilizando novilhos Angus canulados, os autores concluíram que a suplementação com Cu, Zn e Mn na forma de sulfatos resultaram em menor digestibilidade aparente da FDA e FDN, além de menores concentrações totais de AGCC quando comparado com o tratamento composto por hidroximinerais. De forma conjunta, os resultados mostrados sugerem que as fontes de microminerais afetam a fermentação ruminal e os parâmetros de digestibilidade, no entanto, poucos estudos são encontrados na literatura utilizando novilhos Nelore jovens, providos de cânulas ruminais.

Baseado nessas considerações, hipotetizamos que: devido a menor solubilidade no ambiente ruminal, a inclusão de Cu e Zn na forma de hidroximinerais resultará em maior concentração molar de AGCC, menor concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), além de proporcionar maior digestibilidade aparente dos nutrientes, resultando em aumento no ganho de peso de novilhos Nelore.

Diante do exposto, os objetivos foram avaliar a suplementação de Cu e Zn na forma de hidroximinerais sobre os parâmetros de fermentação ruminal (AGCC, N-NH<sub>3</sub>, pH), digestibilidade aparente dos nutrientes e desempenho de novilhos Nelore.

## 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.2.1 Instalações experimentais e animais

O estudo foi conduzido nas instalações do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA) pertencente ao Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo, localizada em Piracicaba – SP – Brasil. Os procedimentos experimentais envolvendo animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ/USP; nº 6731261022) e do Comitê de Ética no Uso de Animais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (CEUA/ESALQ/USP nº 992111220).

Foram utilizados 30 bovinos da raça Nelore, machos, castrados, com peso corporal de aproximadamente 301,50 ± 5,67 kg (P = 0,98), providos de cânulas no saco dorsal do rúmen.

O número de animais proposto foi baseado em estudos prévios feitos na unidade experimental avaliando digestibilidade e parâmetros ruminais. De acordo com análises

realizadas, esse seria o número mínimo para obter resultados e significância estatística nos parâmetros citados anteriormente.

Os animais foram alojados em baias individuais com piso de concreto, contendo comedouros e bebedouros individuais.

### 3.2.2 Delineamento e período experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados, com três tratamentos e dez repetições (N = 30). Os blocos foram definidos a partir do peso obtido na pesagem inicial dos animais.

Os animais foram pesados em jejum hídrico e alimentar de 14 horas no início e final do experimento. O experimento teve duração de 28 dias, composto por apenas um período experimental, dividido em 21 dias de adaptação às dietas experimentais, 5 dias de coleta total de fezes para avaliação de digestibilidade e 2 dias de colheitas de líquido ruminal em horas alternadas.

### 3.2.3 Tratamentos experimentais e manejo alimentar

Os tratamentos foram definidos pela inclusão de fontes de minerais inorgânicos em forma de sulfatos e óxidos e em forma de hidroximinerais juntamente a um suplemento proteico energético comercial, ofertado diariamente aos animais. Cada animal recebeu apenas um tratamento durante o período experimental de 28 dias.

Os tratamentos experimentais consistem:

- **ITM:** (N=10) Grupo controle, composto por fontes de minerais inorgânicos presentes no suplemento ( $\text{CuSO}_4 = 40\text{mg/kg}$  e  $\text{ZnO} = 148 \text{ mg/kg}$ , por kg de suplemento);
- **ITM2:** (N=10) Fornecendo o dobro da concentração de Cu e Zn presentes no tratamento ITM, composto por fontes de minerais inorgânicos presentes no suplemento ( $\text{CuSO}_4 = 80\text{mg/kg}$  de suplemento e  $\text{ZnO} = 296 \text{ mg/kg}$ , por kg de suplemento);
- **HTM:** (N=10) Grupo hidroximinerais, composto por minerais na forma de hidroximinerais presentes no suplemento ( $\text{Cu} = 40\text{mg/kg}$  e  $\text{Zn} = 148 \text{ mg/kg}$ , por kg de suplemento).

O Suplemento proteico-energético foi ofertado diariamente na dosagem de 5g/kg de PV a partir do peso inicial, seguindo as recomendações dos fabricantes (BellPeso SV<sup>®</sup> - Trouw Nutrition, Amersfoort, Holanda). Os animais dos três tratamentos experimentais receberam a

suplementação em comedouros individuais. A composição química dos suplementos utilizados no estudo está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição química do suplemento ofertado aos animais durante o período experimental.

Item <sup>1</sup>	Tratamentos Experimentais <sup>2</sup>		
	ITM1	ITM2	HTM
Perfil de Nutrientes,			
MS, %	88,76	88,46	88,90
PB, %	26,42	26,97	26,71
FDN, %	10,59	10,74	10,99
FDA, %	5,84	5,43	5,59
EE, %	3,05	2,97	2,89
MM, %	6,39	6,87	6,40
Cu, mg/kg	40,00	80,00	40,00
Zn, mg/kg	148,00	296,00	148,00

<sup>1</sup>MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; EE = extrato etéreo; MO = matéria orgânica; MM = Matéria mineral; Cu: níveis de Cu do suplemento; Zn: níveis de Zn no Suplemento.

<sup>2</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; ITM2: tratamento contendo Cu = 80mg e Zn = 296 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO HTM: tratamento contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de HTM.

Outros minerais/nível mínimo: Ca = 23g/kg; P = 6 g/kg; Mg = 1 g/kg; S= 3 g/kg; F = 100 mg/kg; Mn = 30 mg/kg; Co = 2,4 mg/kg; I = 3 mg/kg; Se = 0,8 mg/kg.

Baseado no perfil nutricional dos alimentos, analisado de acordo com a metodologia da AOAC (1990).

O suplemento proteico-energético era ofertado separadamente da forragem em comedouros individuais, ao início da manhã e, após a ingestão completa do suplemento, a forragem era ofertada. Os animais tiveram acesso *ad libitum* ao pré-secado de Tifton-85 (*Cynodon dactylon* spp.), ofertada todos os dias às 08h00 (Tabela 2), permitindo sobra de aproximadamente 5% de pré-secado em relação ao ofertado. A MS do ofertado e das sobras era determinada diariamente em estufa de ventilação forçada 105° por 24 horas para a avaliação do CMS e ajuste de fornecimento. Além disso, ao longo de cada período experimental, amostras da oferta e sobra foram colhidas diariamente de forma composta e para posterior análise bromatológica, a fim de monitorar a qualidade da forragem.

Entre os dias 23 e 27, a oferta e as sobras foram coletadas individualmente em forma composta durante o período de digestibilidade para que as análises de consumo e sobra de nutrientes fossem feitas precisamente.

Após o término do estudo, as amostras foram secas em estufa de ventilação forçada à 55° por 72 horas e, posteriormente, moídas em um moinho de facas com peneira de crivos de 1

mm para posterior análise de MS total, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM) (AOAC, 1990).

Tabela 2 - Composição química do pré-secado de Tifton-85 (*Cynodon dactylon spp.*) ofertado durante o período experimental.

Item <sup>1</sup>	Composição da forragem ofertada
Perfil de Nutrientes	
MS, %	50,11
PB, %	11,65
FDN, %	62,70
FDA, %	26,84
EE, %	2,96
MM, %	10,41
MO, %	89,59

<sup>1</sup>MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; EE = extrato etéreo; MO = matéria orgânica; MM = Matéria mineral.

<sup>2</sup>Baseado no perfil nutricional dos alimentos, analisado de acordo com a metodologia da AOAC (1990).

### 3.2.4 Parâmetros de fermentação ruminal

No final da quarta semana foram realizadas colheitas de fluido ruminal em dois dias alternados para que não houvesse sobreposição dos horários de manejo, esperando, também, não alterar de forma brusca o padrão alimentar dos animais, fazendo com que complementassem 12 horas sequenciais de colheitas, o horário das colheitas foi estipulado a partir do momento em que foram ofertadas as dietas experimentais aos animais, sendo essa, a h0 (D-27 =h0, h4, h8 e h12; D-28= h2, h6 e h10). As amostras do conteúdo ruminal foram obtidas de vários locais do rúmen, formando uma amostra composta do conteúdo ruminal. Imediatamente após a colheita, o conteúdo ruminal foi filtrado em tecido de nylon de 150 micras. O fluido filtrado foi levado ao laboratório para mensuração do pH ruminal em pHmetro digital (Nova Técnica, PHM, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Após as mensurações de pH, as amostras foram colocadas em frascos de 2 ml para armazenamento. Todas as amostras colhidas permaneceram armazenadas a -20°C para posteriores análises.

Para a determinação de AGCC, utilizou-se 1,6 mL do fluido ruminal adicionado de 0,4 mL de solução 3:1 de ácido metafosfórico 25% com ácido fórmico 98-100% e 0,2 mL de solução de ácido 2-etil-butírico 100 mM (padrão interno) foram centrifugados a 15.000 g, durante 15 minutos e a 4°C. Posteriormente, o extrato sobrenadante ( $\pm 1,2$  mL) de cada amostra foi transferido para *vials* cromatográficos. Desse extrato, foi injetado 1  $\mu$ L em cromatógrafo

gasoso (CG HP 7890A; Injetor HP 7683B, Agilent Technologies) equipado com coluna capilar HP-FFAP (1909F-112; 25 m; 0,32 mm; 0,5  $\mu$ m; JeWAgilent Technologies). A injeção foi realizada automaticamente pelo sistema injetor. O gás de arraste utilizado foi o H<sub>2</sub>, mantido em fluxo de 31,35 mL/min. A temperatura do injetor e detector foi de 260°C. O tempo total da análise cromatográfica foi de 16,5 minutos, dividido em três rampas de aquecimento: 80°C (1min), 120°C (20°C/min; 3min) e 205°C (10°C/min; 2 min). A concentração dos AGCC (mM) foi determinada com base em uma curva de calibração externa.

A concentração de N-NH<sub>3</sub> foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Chaney e Marbach (1962), adaptado para leitor de microplaca (BIO – RAD, Hercules, CA), utilizando filtro para absorvância de 550 nm.

### **3.2.5 Digestibilidade aparente dos nutrientes**

Ao final do período experimental, entre os dias 23 e 27, foram realizadas colheitas totais de fezes para determinação da digestibilidade aparente dos nutrientes. A produção total de fezes de cada animal foi quantificada diariamente e, uma amostra (10% do total) foi armazenada a -18°C para posterior análise química.

As amostras de oferta, sobra e fezes colhidas durante o ensaio de digestibilidade foram analisadas no Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA) do Departamento de Zootecnia da ESALQ – USP. As amostras foram descongeladas, secas em estufas de ventilação forçada a 55°C por 72 horas para determinação da MS parcial.

Posteriormente, as amostras foram processadas em moinho de facas com peneiras com crivos de 1 mm. Para a determinação da MS total, foi realizada a secagem das amostras em estufa a 105°C por 24 horas e a MM através da incineração das amostras em mufla a 550°C por 4 horas, os métodos foram realizados de acordo com as metodologias propostas pela association of official analytical chemists (AOAC, 2005). O teor de EE foi determinado utilizando éter de petróleo um Extrator AnkomXT15 (Ankom Technology, Macedônia, EUA), de acordo com AOAC (2005).

Para a determinação do nitrogênio total foi utilizado o método elementar, através aparelho LECO Tru Mac® /N (Nitrogen Determinator, version 1,5x, St. Joseph, EUA). A PB foi calculada determinando a quantidade de nitrogênio total e multiplicando-o por 6,25, como fator de correção. A determinação da fração fibrosa foi realizada de forma sequencial, utilizando alfa-amilase termoestável e sulfito de sódio para análise de FDN de acordo com

metodologia proposta por Mentens (2002) sendo utilizado o Analisador de Fibra Ankon 2000 (Ankon Tech. Corp., Fairport, NY, USA).

A digestibilidade aparente dos nutrientes foi calculada a partir da seguinte fórmula:

$$\text{DAT}T (\%) = \frac{(\text{MSC} \times \text{NMS}) - (\text{MSF} \times \text{NMF})}{(\text{MSC} \times \text{NMS})} \times 100$$

DATT = digestibilidade aparente no trato total;

MSC = matéria seca consumida;

MSF = matéria seca fecal;

NMF = porcentagem do nutriente na matéria seca fecal;

NMS = porcentagem do nutriente na matéria seca consumida.

### 3.2.6 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Procedimento MIXED do SAS 9.3. Todos os dados foram analisados quanto à normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro Wilk, homogeneidade das variâncias através do teste de Levene e retirada dos outliers com base no valor do Residual studentizado.

Algumas variáveis respostas propostas no experimento como: digestibilidade aparente dos nutrientes, foram analisadas utilizando o seguinte modelo estatístico:  $Y_{ijk} = \mu + D_i + b_j + E_{ij} + (bP)_{jk} + (DP)_{ik} + E_{ijk}$ , onde  $\mu$  = média geral;  $D_i$  = efeito fixo do tratamento;  $b_j$  = efeito aleatório de bloco e  $e_{ij}$  = erro residual.

As variáveis respostas ligadas aos parâmetros ruminais como: pH, AGCC e N-NH<sub>3</sub>, foram analisadas utilizando o seguinte modelo estatístico:  $Y_{ijk} = \mu + D_i + b_j + E_{ij} + P_k + (bP)_{jk} + (DP)_{ik} + E_{ijk}$ , onde  $\mu$  = média geral;  $D_i$  = efeito fixo da dieta;  $b_j$  = efeito aleatório de bloco;  $e_{ij}$  = erro residual A;  $P_k$  = efeito fixo de hora;  $(bP)_{jk}$  = efeito aleatório da interação entre bloco x hora;  $(DP)_{ik}$  = efeito fixo da interação tratamento x hora; e  $e_{ijk}$  = erro residual B.

As matrizes de covariância “compound symmetry, heterogeneous compound symmetry, autoregressive, heterogeneous autoregressive, unstructured, banded, variance components, toeplitz e heterogeneous toeplitz” foram testadas e definidas de acordo com o menor valor obtido para “Corrected Akaike Information Criterion” (AICC). As médias dos tratamentos foram obtidas através do comando LSMEANS. É considerado efeito significativo no teste de Tukey quando  $P \leq 0,05$ .

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observado efeito significativo para o consumo de forragem com a inclusão de diferentes fontes e quantidades de Cu e Zn ( $P = 0.20$ ; Tabela 3).

Em relação ao consumo de suplemento, era esperado que fosse semelhante entre os tratamentos ( $P = 0.16$ ), visto que, a oferta de suplemento foi feita com base no peso corporal inicial dos animais (5g/kg/pv), que foi similar. Da mesma forma, não foi observado efeito de diferentes fontes e doses de minerais em relação ao CMS de forragem ( $P = 0.20$ ) e CMS total ( $P = 0.13$ ), como mostrado na Tabela 3.

Tabela 3 - Consumo de matéria seca de forragem, suplemento e total de novilhos Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.

Variáveis	Tratamentos <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>
	ITM	ITM2	HTM		Tratamento
CMS Suplemento, kg/dia	1,51	1,50	1,51	0,01	0,16
CMS Forragem, kg/dia	4,52	4,60	4,36	0,06	0,20
CMS Total, kg/dia	6,03	6,10	5,87	0,06	0,13

<sup>1</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; ITM2: tratamento contendo Cu = 80mg e Zn = 296 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO HTM: tratamento contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de HTM.

<sup>2</sup>EPM = Erro padrão da média.

<sup>3</sup>Trat: efeito de tratamento.

As fontes e quantidades de Cu e Zn fornecidos aos animais não influenciaram o consumo de nutrientes e a digestibilidade aparente dos nutrientes (Tabela 4). São encontrados dados na literatura em que Cu e Zn, são capazes de afetar negativamente os parâmetros de digestão ruminal, esses efeitos prejudiciais ligados a digestibilidade aparente da FDN são atribuídos à níveis elevados de Cu, Zn em forma de óxidos e sulfatos suplementares, 30 e 470 mg/kg de MS, respectivamente (Zhang et al., 2008; Arelovich et al., 2000), diferente das dosagens encontradas no presente estudo, possivelmente, justificando a ausência de diferença no CMS e digestibilidade dos nutrientes. Um fator determinante é que não há a possibilidade de avaliar individualmente cada microelemento em relação aos parâmetros citados anteriormente.

Tabela 4 - Consumo de nutrientes durante o período de coleta de dados para análise digestibilidade aparente dos nutrientes de novilhos Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.

Variáveis <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>			EPM <sup>3</sup>	Valor de P <sup>4</sup>
	ITM	ITM2	HTM		Tratamento
Consumo de Nutrientes, kg/dia					
CMS	5,33	5,39	5,24	0,18	0,86
CMO	4,68	4,79	4,65	0,17	0,82
CFDN	2,84	2,87	2,79	0,11	0,87
CEE	0,16	0,16	0,15	0,01	0,35
CPB	0,76	0,78	0,75	0,07	0,28
Digestibilidade, %					
MS	47,21	47,28	49,50	2,97	0,83
MO	51,43	52,35	53,71	2,79	0,85
FDN	49,94	49,48	50,38	3,08	0,98
EE	48,54	49,99	49,04	6,45	0,99
PB	52,12	53,40	53,22	1,43	0,73

<sup>1</sup>MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; FDN = fibra em detergente neutro; EE = extrato etéreo; MM = Matéria mineral; PB = proteína bruta.

<sup>2</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; ITM2: tratamento contendo Cu = 80mg e Zn = 296 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO HTM: tratamento contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de HTM.

<sup>3</sup>EPM = Erro padrão da média.

<sup>4</sup>Trat: efeito de tratamento.

De acordo com relatos de experimentos “*in situ*”, o aparecimento de efeitos prejudiciais na fermentação decorrentes à suplementação com Zn é dose dependente e, a suplementação superior a 250 ppm de Zn pode prejudicar a digestibilidade da fração fibrosa “*in situ*”, além de prejudicar a biodisponibilidade de outros minerais, particularmente o Cu. Semelhante com os dados relatados por Miller et al. (1989), a inclusão de 1.000 mg/kg de MS de ZnSO<sub>4</sub> não foi capaz de afetar o CMS e produção leiteira, entretanto, quando 2.000 mg/kg de MS de ZnSO<sub>4</sub> foram utilizados, houve uma depressão no CMS e na produção leiteira. Além disso, Miller et al. (1989) relataram que as concentrações de Cu plasmático dos animais reduziram com a oferta de altas doses de ZnSO<sub>4</sub>.

Segundo Guimarães et al. (2021), dosagens de 20, 40 e 60 mg suplementares de Cu, Mn e Zn/kg MS, respectivamente na forma de hidroximinerais são capazes de aumentar a digestibilidade da FDN e FDA quando comparado com as mesmas dosagens na forma de sulfatos. Além disso, segundo os autores, a digestibilidade da MS e da PB tenderam a aumentar com a inclusão de minerais na forma de hidroximinerais. Ainda, os autores mencionaram que animais tratados com minerais na forma de sulfatos apresentaram maiores concentrações de Cu



e Zn no ambiente ruminal, associando esse fato, diretamente com a menor digestibilidade da fibra.

Entretanto, Guimarães et al. (2021) utilizaram doses de Cu, Zn e Mn suplementares superiores às fornecidas no presente experimento, além de serem 69%, 105% e 163%, respectivamente, das exigências recomendadas para bovinos confinados (NASEM, 2016), que possivelmente acentuaria os efeitos negativos dos minerais solúveis sobre a microflora ruminal. Além disso, doses elevadas de Mn na forma de sulfatos também podem afetar negativamente a digestibilidade da FDN (Gresakova et al., 2018).

Os efeitos do Cu, quando estudado individualmente, mostram resultados divergentes. Arce-Cordero et al. (2020) trabalharam com suplementação de Cu em forma de sulfatos, porém, revestidas com uma microencapsulação lipídica para que houvesse uma proteção do elemento à nível ruminal e uma menor solubilidade no local. Os autores não encontraram modificações na digestibilidade aparente dos nutrientes, corroborando com os dados observados no presente estudo.

Há muitas divergências em relação ao potencial nocivo dos microelementos em forma de sulfatos e óxidos sobre a microbiota ruminal. Fatores como modo de fornecimento dos microminerais e a capacidade dos mesmos em formarem complexos insolúveis com outros elementos (Arthington, 2005), além do sinergismo com outros minerais (Arce-Cordero et al., 2020), são pontos importantes para entender a potencial toxicidade às bactérias ruminais.

Não houve interação entre os tratamentos experimentais e o tempo (hora coleta) para nenhuma das variáveis de fermentação ruminal estudadas. Do mesmo modo, as variáveis de fermentação ruminal não apresentam efeito estatístico significativo de tratamento, ou seja, não foram afetadas pela suplementação com Cu e Zn na forma de hidroximinerais. Entretanto, houve efeito de tempo para a maioria dos parâmetros de fermentação ruminal, como produção de AGCC e relação C2:C3, como observamos na Tabela 5.

De fato, há grande dificuldade de analisar individualmente a ação de cada microelemento em relação aos parâmetros fermentativos em experimentos “*in vivo*” devido à existência dos mesmos na grande maioria das fontes de alimentos utilizadas para os ruminantes. Da mesma forma, dosagens de microminerais solúveis que afetam negativamente os parâmetros ruminais, ainda não estão muito bem estabelecidos devido à inconsistência dos dados encontrados na literatura.

Diferentemente dos dados observados no presente experimento, Guimarães et al. (2021), utilizaram 12 novilhos Angus, alimentados com dietas contendo principalmente feno de qualidade intermediária e suplementados com Cu, Zn e Mn nas dosagens de 20, 40 e 60

mg/kg de MS, respectivamente. Os autores observaram maior produção de AGCC e menor produção de butirato para os animais tratados com HTM, atribuindo, dessa forma, esses resultados ao aumento da digestibilidade da fibra apresentada pelo tratamento HTM. Efeitos semelhantes foram encontrados quando 250 mg Zn/kg de MS foram adicionados ao conteúdo fermentativo em experimento “*in situ*”, segundo Arelovich et al. (2000), essa dosagem foi capaz de aumentar a produção de propionato e diminuir a relação C2:C3, entretanto, quando doses maiores foram utilizadas (470 mg Zn/kg de MS), a produção de propionato e relação C2:C3 apresentaram efeito quadrático.

Tabela 5 - Concentração molar dos AGCC, relação acético:propiónico, total de AGCC, pH e N-NH<sub>3</sub> de novilhos Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.

Variáveis <sup>2</sup>	Tratamentos <sup>1</sup>			EPM <sup>3</sup>	Valor de P <sup>4</sup>		
	ITM	ITM2	HTM		Trat	Hora	T*H
Parâmetros de fermentação ruminal, mmol/dL							
Acético	71,56	76,22	68,84	7,42	0,16	<0,01	0,99
Propiónico	13,17	14,09	13,10	1,29	0,43	<0,01	0,70
Butírico	7,05	7,31	6,99	0,71	0,72	<0,01	0,76
isobutírico	0,77	0,76	0,72	0,07	0,39	<0,01	0,87
Valérico	0,64	0,70	0,67	1,14	0,41	0,53	0,43
Isovalérico	1,01	1,01	1,00	0,09	0,47	<0,01	0,37
C2:C3	5,43	5,41	5,25	0,26	0,92	<0,01	0,14
Total	94,17	97,96	90,18	8,86	0,47	<0,01	0,69
pH	6,90	6,81	6,84	0,09	0,82	<0,01	1,00
N-NH <sub>3</sub>	12,85	14,76	14,43	0,58	0,07	0,23	0,72

<sup>1</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; ITM2: tratamento contendo Cu = 80mg e Zn = 296 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO HTM: tratamento contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de HTM.

<sup>2</sup>Produção de AGCC em Mmol, relação acético:propiónico, total de AGCC, pH e N-NH<sub>3</sub> mg/dL

<sup>3</sup>EPM = Erro padrão da média.

<sup>4</sup>Trat: efeito de tratamento; hora: efeito de hora; T\*H: efeito da interação entre tratamento e hora.

Segundo alguns autores a solubilidade dos microelementos pode influenciar em algumas variáveis, como pH ruminal. Em estudo “*in vitro*” realizado por Nikolic et al., (1976), os autores relataram que menores valores de pH estariam relacionados à maior solubilidade de microminerais. O que corrobora com as observações feitas por Oltjen et al. (1962), os autores observaram pH ruminal inferior em dietas contendo grande quantidade de sulfatos. Entretanto, esses dados se mostram divergentes, visto que, Guimarães et al. (2022), observaram maior solubilidade ruminal quando as fontes de microminerais foram fornecidas em forma de sulfatos, porém os autores não observaram diferenças em relação ao pH ruminal de vacas leiteiras, dados semelhantes foram observados por Guimarães et al. (2021) em novilhos Angus.

Foi observado efeito de tempo em relação à produção de N-NH<sub>3</sub>, sem efeitos significativos de tratamento e interação tratamento e tempo. Essa resposta ocorre devido ao padrão fermentativo da dieta (Huntington & Archibeque, 1999). Além disso, a igualdade estatística entre os tratamentos demonstra uma semelhança fermentativa na solubilidade dos compostos nitrogenados da dieta, disponibilizando substrato para bactérias celulolíticas, presentes em maior quantidade em dietas à base de forragem, para que houvesse uma maior produção de energia disponível para absorção em forma de AGCC.

A principal atenção no processo fermentativo é para os AGCC, esses, por sua vez, são considerados subprodutos do processo fermentativo ocasionado pelos microrganismos ruminais, porém, para os ruminantes, os AGCC participam ativamente em 50 a 70% da energia digestível presente no alimento (Kozloski, 2002). Dessa forma, a semelhança entre os tratamentos em relação à digestibilidade aparente dos nutrientes e parâmetros de fermentação ruminal, resultaria em uma igualdade no peso dos animais ao término do estudo (Tabela 6). Da mesma forma, o ganho médio diário (GMD) e EA não foram afetados pela inclusão de HTM, como esperado, pois, essas variáveis são influenciadas diretamente pela maior retenção de energia, igualmente ao peso corporal final (Kozloski, 2002).

Tabela 6 - Peso inicial, final e ganho médio diário de novilhos Nelore (*bos indicus*) recebendo dietas de alto teor de volumosos e diferentes fontes e quantidades de microminerais Cu e Zn.

Variáveis	Tratamentos <sup>1</sup>			EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>
	ITM	ITM2	HTM		Tratamento
Peso Inicial	301.90	299.80	302.80	10.17	0.98
Peso Final	319.80	312.70	318.10	11.36	0.90
GMD	0.62	0.45	0.53	0.17	0.77
EA	0.11	0.07	0.10	0.04	0.72

<sup>1</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; ITM2: tratamento contendo Cu = 80mg e Zn = 296 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO HTM: tratamento contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de HTM.

<sup>2</sup>EPM = Erro padrão da média.

<sup>3</sup>Tratamento: efeito de tratamento.

### 3.4 CONCLUSÃO

A utilização de Cu e Zn em forma de HTM e fontes convencionais como óxidos e sulfatos foram semelhantes. Não houve modificações em relação às variáveis relacionadas à digestibilidade aparente dos nutrientes, parâmetros de fermentação ruminal, consumo de matéria seca e consumo de suplemento, conseqüentemente, não houve diferença no desempenho de novilhos Nelore canulados.

## REFERÊNCIAS

- ARCE-CORDERO, J. A.; MONTEIRO, H. F.; LELIS, A. L.; LIMA, L. R.; RESTELATTO, R.; BRANDAO, V. L. N.; LECLEC, D.; FACIOLA, A. P. Copper sulfate and sodium selenite lipid-microencapsulation modifies ruminal microbial fermentation in a dual-flow continuous-culture system. **Journal of dairy science**, v. 103, n. 8, p. 7068-7080, 2020.
- ARELOVICH, H. M.; OWENS, F. N.; HORN, G. W.; VIZCARRA, J. A. Effects of supplemental zinc and manganese on ruminal fermentation, forage intake, and digestion by cattle fed prairie hay and urea. **Journal of animal science**, v. 78, n. 11, p. 2972-2979, 2000.
- ARTHINGTON, J. D. Effects of copper oxide bolus administration or high-level copper supplementation on forage utilization and copper status in beef cattle. **Journal of animal science**, v. 83, n. 12, p. 2894-2900, 2005.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 1990. Official methods of analysis. 12th ed. Washington, DC: AOAC.
- CALDERA, E.; WEIGEL, B.; KUCHARCZYK, V. N.; SELLINS, K. S.; ARCHIBEQUE, S. L., WAGNER, J. J.; ENGLE, T. E. trace mineral source influences ruminal distribution of copper and zinc and their binding strength to ruminal digesta. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 4, p. 1852-1864, 2019.
- COHEN, J.; F. A. STEWARD. Hydroxy minerals-the newest development in mineral nutrition. **AFMA Matrix**, v. 23, n. 1, p. 45-49, 2014.
- DU PLESSIS, S. S.; VAN NIEKERK, F. E.; COETZER, W. A. The effect of dietary molybdenum and sulphate on sexual activity and plasma progesterone concentrations of ewes. **Small Ruminant Research**, v. 33, n. 1, p. 71-76, 1999.
- FAULKNER, M. J.; WEISS, W. P. Effect of source of trace minerals in either forage-or by-product-based diets fed to dairy cows: Production and macronutrient digestibility. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 7, p. 5358-5367, 2017.
- GENTHER, O. N.; HANSEN, S. L. The effect of trace mineral source and concentration on ruminal digestion and mineral solubility. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 1, p. 566-573, 2015.
- GRESAKOVA, L., VENGLOVSKA, K., & COBANOVA, K. Nutrient digestibility in lambs supplemented with different dietary manganese sources. **Livestock Science**, v. 214, p. 282-287, 2018.
- GUIMARAES, O.; JALALI, S.; WAGNER, J. J.; SPEARS, J. W.; ENGLE, T. E. Trace mineral source impacts rumen trace mineral metabolism and fiber digestion in steers fed a medium-quality grass hay diet. **Journal of Animal Science**, v. 99, n. 9, p. skab220, 2021.
- GUIMARAES, O.; WAGNER, J. J.; SPEARS, J. W.; BRANDAO, V. L. N.; ENGLE, T. E. Trace mineral source influences digestion, ruminal fermentation, and ruminal copper, zinc,

and manganese distribution in steers fed a diet suitable for lactating dairy cows. **Animal**, v. 16, n. 4, p. 100500, 2022.

HARTMAN, S. J.; GENTHER-SCHROEDER, O. N.; HANSEN, S. L. Effect of trace mineral source on mineral status and performance of beef steers fed low-or high-sulfur diets. **Journal of animal science**, v. 95, n. 9, p. 4139-4149, 2017.

HILSCHER, F. H.; LAUDERT, S. B.; HELDT, J. S.; COOPER, R. J.; DICKE, B. D.; JORDON, D. J.; ERICKSON, G. E. Effect of copper and zinc source on finishing performance and incidence of foot rot in feedlot steers. **Applied Animal Science**, v. 35, n. 1, p. 94-100, 2019.

HUNTINGTON, G. B.; ARCHIBEQUE, S. L. Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. Raleigh: **American Society of Animal Science.**, 1999. p.1-11.

KOZLOSKI, G. B. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 139p.

MILLER, W. J.; AMOS, H. E.; GENTRY, R. P.; BLACKMON, D. M.; DURRANCE, R. M.; CROWE, C. T. Long-term feeding of high zinc sulfate diets to lactating and gestating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 72, n. 6, p. 1499-1508, 1989.

MILLER, M. D.; LANIER, J. S.; KVIDERA, S. K.; DANN, H. M.; BALLARD, C. S.; & GRANT, R. J. Evaluation of source of corn silage and trace minerals on rumen characteristics and passage rate of Holstein cows. **Journal of dairy science**, v. 103, n. 10, p. 8864-8879, 2020.

NASEM. 2016. **Nutrient requirements of beef cattle**. 8th ed. Washington, DC: The National Academics Press

NIKOLIC, J. A.; JOVANOVIC, M.; ANDRIC, R. Determination of possible effects of mineral concentration on protein synthesis by rumen microbes in vitro. **In: Tracer studies on non-protein nitrogen for ruminants II**. 1976.

OLTJEN, R. R.; SIRNY, R. J.; TILLMAN, A. D. Effects of B vitamins and mineral mixtures upon growth and rumen function of ruminants fed purified diet. **The Journal of Nutrition**, v. 77, n. 3, p. 269-277, 1962.

VANVALIN, K.R.; GENTHER-SCHROEDER, O.N.; CARMICHAEL, R.N.; BLANK, C.P.; DETERS, E.L.; HARTMAN, S.J.; NIEDERMAYER, E.K.; LAUDERT, S.B.; HANSEN, S.L. Influence of dietary zinc concentration and supplemental zinc source on nutrient digestibility, zinc absorption, and retention in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 12, p. 5336-5344, 2018.

VANVALIN. K.R.; GENTHER-SCHROEDER, O.N.; LAUDERT, S.B.; HANSEN SL. Relative bioavailability of organic and hydroxy copper sources in growing steers fed a high antagonist diet. **Journal of Animal Science**, v. 97, p. 1375-1383, 2019.

VAN SOEST, P. V., ROBERTSON, J. B., & LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of dairy science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

ZHANG, W.; WANG, R.; KLEEMANN, D.O.; LU, D.; ZHU, X.; ZHANG, C.; JIA, Z. Effects of dietary copper on nutrient digestibility, growth performance and plasma copper status in cashmere goats. **Small Ruminant Research**, v. 74, n. 1-3, p. 188-193, 2008

## **4 EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM CU E ZN DE ALTA BIODISPONIBILIDADE SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO E REPRODUTIVO DE NOVILHAS NELORE SUPERPRECOSES.**

### **4.1 INTRODUÇÃO**

A pecuária de corte é uma das atividades econômicas mais importantes no Brasil. Nos últimos anos, a pressão contra a expansão acelerada desta atividade, em função dos impactos ambientais, fez crescer a demanda de tecnologias que permitiram aumentar a produtividade, reduzir custos e garantir a sustentabilidade econômica, social e ambiental ligados ao sistema produtivo. Projetos que visam a intensificação da pecuária de corte são fundamentais para a tecnificação da pecuária e na proteção do meio ambiente. Nesse contexto, o desenvolvimento de tecnologias que reduzam a idade ao primeiro parto são fundamentais para aumentar o número de bezerros produzidos por vaca durante sua vida (Nunez-Dominquez et al., 1993).

O Nelore é a principal raça de gado de corte criada no Brasil, no entanto, um grande problema dessa raça é a puberdade tardia das fêmeas. Há um atraso no período de puberdade, tornando os animais tardios, ou seja, fêmeas entram em vida produtiva com 2 a 3 anos de idade, ou até mais velhas (Gunki et al., 2001; Sereno et al., 2001; Ferraz et al., 2018). A idade avançada na puberdade e, por consequência, ao primeiro parto é um fator que reduz o retorno econômico da bovinocultura de corte (Eler et al., 2010). Deste modo, tem sido abordado que novilhas Nelore submetidas a protocolos de “indução de puberdade” e de IATF e tornam-se gestantes são denominadas novilhas precoces (até 18 meses) ou superprecoces (até 15 meses; Brunet et al., 2022). Entretanto, essa denominação pode não estar correta, uma vez que a utilização de hormônios pode induzir uma ovulação e não necessariamente induzir a puberdade. Dessa forma, acredita-se que novilhas induzidas através de protocolos hormonais, sem seleção para precocidade sexual (“tardias”) que ficam prenhes, sejam classificadas como precoces, induzindo a uma falha na seleção genética. Apesar dos protocolos hormonais serem uma ferramenta efetiva, eles não podem modificar a genética da fêmea.

Técnicos de campo relatam altas taxas de perda embrionária e baixa taxa de prenhez nas novilhas Nelore prenhes precocemente. No entanto, ainda não há publicações científicas que avaliaram a taxa de perdas embrionárias precoce e tardia dessas novilhas ditas precoces. Na maioria dos trabalhos, leva-se o estudo até a manifestação da puberdade ou até a prenhez aos 30 dias. Então, não é conhecido, primeiramente se novilhas gestantes precocemente apresentam alta taxa de perda embrionária, e se essa baixa taxa de prenhez é devido à novilha ser induzida

à puberdade precocemente ou se é devido a outros fatores ainda não estudados. Ainda, é largamente comprovado na literatura que novilhas pré-púberes apresentam baixa qualidade embrionária quando passam por produção “*in vitro*” de embriões (Kauffold et al., 2005; Landry et al., 2016; Landry et al., 2018).

A maior disponibilidade de microminerais, como Cu e Zn, tem sido associada ao aumento na fertilidade (Formigoni et al., 2011). O aumento na concentração de microminerais, durante o desenvolvimento embrionário em bovinos, resultou em maior desenvolvimento da prole, indicando que esses microminerais são extremamente importantes no metabolismo embrionário e no seu crescimento (Hostetler et al., 2003).

Estudos, como de Lequarré et al. (2001), Picco et al. (2010), sugerem que esses minerais podem alterar o metabolismo e a viabilidade embrionária. Por exemplo, alguns trabalhos mostraram que adição de Zn na fertilização “*in vitro*” pode diminuir os danos ao DNA e apoptose nas células do *cumulus* (Picco et al., 2010), por agir como antioxidante (Anchordoquy et al., 2013). Além disso, Anchordoquy et al. (2013) mostraram que o Zn é capaz de aumentar atividade da SOD nas células do *cumulus* e isso pode ter um efeito antioxidante nos embriões. No entanto, não há nenhum estudo sobre o uso desses microminerais como suplemento de novilhas Nelore e seu efeito na mortalidade embrionária, bem como na produção e qualidade de embriões das novilhas suplementadas.

Além disso, a deficiência secundária de Cu pela formação de tiomolibdatos através do antagonismo do Cu solúvel no rúmen e Mo, pode afetar o aparecimento de puberdade além de atrasar ou deprimir por completo a apresentação de estro e reduzir as taxas de concepção dos animais (Phillippo et al., 1982; Underwood & Suttle, 1990). Da mesma forma, a deficiência em Zn está associada à atrasos na puberdade e diminuição da nidação embrionária, além disso, Balamurugan et al. (2017) relataram que, animais deficientes em Zn tem concentrações mais baixas de LH e FSH, principalmente machos.

Estudos recentes têm mostrado que o uso de microminerais na forma de hidroximinerais pode elevar a biodisponibilidade de Cu e Zn para ruminantes, aumentando assim as concentrações desses minerais no plasma sanguíneo e no fígado (VanValin et al., 2018; VanValin et al., 2019). Ainda, VanValin et al. (2018) observaram que o uso de Zn na forma de hidroximinerais aumentou a digestibilidade dos nutrientes comparado com a forma orgânica em ovinos. Contudo, os resultados apresentados sugerem que a suplementação com fontes de hidroximinerais melhoram o status mineral dos animais e, conseqüentemente, melhoram o desempenho produtivo e reprodutivo de novilhas dos bovinos, entretanto, ainda há poucos



trabalhos sobre microminerais na forma de hidroximinerais em relação aos parâmetros reprodutivos de novilhas Nelore jovens.

Com base nas informações, foi criada uma hipótese de que: As novilhas que receberem Cu e Zn na forma de hidroximinerais apresentariam aumento nas concentrações sanguíneas e hepáticas desses minerais, bem como aumento no ganho de peso. Da mesma forma, a suplementação de Cu e Zn na forma de HTM influenciaria positivamente na taxa de puberdade aos 15 meses e prenhez aos 20, 30 e 60 dias, além de reduzir a perda gestacional precoce e tardia (aos 30 e 60 dias, respectivamente), melhorando também a produção e qualidade de oócitos e embriões.

Diante do exposto, os objetivos do presente estudo foram avaliar o efeito da suplementação de Cu e Zn na forma de hidroximinerais sobre o desempenho, eficiência alimentar, concentrações sanguíneas e hepáticas de Cu e Zn, assim como a porcentagem de novilhas púberes aos 15 meses, a resposta à indução de ovulação, taxa de prenhez aos 20, 30 e 60 dias e perda embrionária aos 30 e 60 dias de novilhas Nelore alimentadas com dietas a base de forragens.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Instalações experimentais e animais

O estudo foi conduzido nas instalações do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA) pertencente ao Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, localizada em Piracicaba – SP – Brasil (22°43’30” S, 47°38’51” O). Os procedimentos experimentais envolvendo animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ/USP; nº 2472261022) e do Comitê de Ética no Uso de Animais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (CEUA/ESALQ/USP nº 2017111220).

Foram utilizadas 213 novilhas Nelore advindas do mesmo criatório, com peso médio de  $184,45 \pm 1,03$  kg e  $8 \pm 1$  meses de idade. Os animais foram alojados nas instalações experimentais do confinamento do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) - USP em Piracicaba.

#### 4.2.2 Delineamento e período experimental

O delineamento experimental utilizado foi de blocos completos casualizados, no qual as novilhas foram designadas a cada bloco segundo a genômica para idade ao primeiro parto (IPP) e distribuídas entre os tratamentos em função da idade e do peso. As novilhas foram alojadas em 40 baias coletivas, compostas por 5 ou 6 animais, cada baia recebeu apenas um tratamento durante todo o período experimental. As novilhas foram previamente adaptadas às instalações experimentais antes de receberem os tratamentos experimentais do estudo que durou 256 dias, subdivididos em 7 períodos de 28 dias cada e um período final mais longo, onde ocorreram os trabalhos reprodutivos, com duração de 60 dias.

#### 4.2.3 Tratamentos experimentais e manejo alimentar

Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2x2, com um fator nutricional e outro reprodutivo. O fator nutricional consistiu na inclusão de fontes de minerais em forma de sulfatos e óxidos (ITM) e em forma de hidroximinerais, juntamente a um suplemento proteico energético comercial, ofertado diariamente aos animais. Cada baia recebeu apenas um tratamento durante o período experimental que consistiam em:

- **ITM:** (N=106) Grupo controle, atendendo as exigências dos animais, composto por fontes de minerais inorgânicos presentes no suplemento (Cu = 40mg/kg e Zn = 148 mg/kg, por kg de suplemento);
- **HTM:** (N=107) Atendendo as exigências dos animais, composto por HTM presentes no suplemento (Cu = 40mg/kg e Zn = 148 mg/kg, por kg de suplemento).

O Suplemento proteico-energético foi ofertado diariamente na dosagem de 5g/kg de PC a partir do peso usado no início de cada período como referência, seguindo as recomendações dos fabricantes (BellPeso SV® - Trouw Nutrition, Amersfoort, Holanda).

O fator reprodutivo consiste no aparecimento da puberdade fisiológica das novilhas presentes em cada um dos tratamentos ITM e HTM e na indução hormonal à primeira ovulação das novilhas não púberes até os 14 meses de idade, formando os respectivos tratamentos:

- **HP:** (N=23) Novilhas tratadas com HTM com presença de ovulação até os 14 meses de idade;

- **HNP:** (N=84) Novilhas tratadas com HTM sem presença de ovulação até os 14 meses de idade;
- **IP:** (N=23) Novilhas tratadas com ITM com presença de ovulação até os 14 meses de idade;
- **INP:** (N=82) Novilhas tratadas com ITM sem presença de ovulação até os 14 meses de idade.

Durante primeira US foi observado que uma das novilhas do tratamento ITM apresentava aparelho reprodutivo subdesenvolvido e, a partir de então, foi retirada das análises ligadas ao desempenho reprodutivo.

Os animais foram alimentados uma vez ao dia pela manhã, utilizando um vagono misturador de dieta total (Delaval®, Münchrütistrasse, Suíça) equipado com balança eletrônica com precisão de 1 kg. A dieta era composta por pré-secado de Tifton-85 (*Cynodon dactylon* spp.), os animais tiveram acesso “*ad libitum*” à água.

A dieta era fornecida diariamente (06h00) após a leitura de cocho, era permitida sobra de 5% referente à oferta do dia anterior. Os excedentes da dieta foram quantificados semanalmente, permitindo calcular o consumo de matéria seca (CMS) durante os períodos. As novilhas foram pesadas em jejum de 14 horas no início e no final de cada período experimental para avaliar seu desempenho e a eficiência alimentar (EA). A composição química da forragem e da suplementação ofertada estão expostas nas tabelas 7 e 8, respectivamente.

Tabela 7 - Composição química do pré-secado de Tifton-85 (*Cynodon dactylon* spp.) ofertado pra as novilhas durante os períodos experimentais.

Item <sup>1</sup>	Períodos Experimentais							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Perfil de Nutrientes, (%)								
MS,	45,06	47,27	59,39	49,18	39,71	48,31	53,24	50,72
PB,	11,16	9,95	13,27	15,76	19,90	15,32	12,90	11,27
FDN,	58,79	64,91	59,25	57,45	55,07	63,14	64,07	60,43
FDA,	30,07	37,49	38,02	34,54	33,62	39,40	37,54	41,27
EE,	2,91	2,72	2,56	3,76	2,96	3,03	2,73	2,06
MM,	10,68	9,55	10,06	9,86	10,53	9,75	9,37	10,70

<sup>1</sup>MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; EE = extrato etéreo; MO = matéria orgânica.; MM = Matéria mineral.

<sup>2</sup>Baseado no perfil nutricional dos alimentos, analisado de acordo com a metodologia da AOAC (1990).

Tabela 8 - Composição química dos suplementos ofertados para as novilhas durante os períodos experimentais.

Item	Tratamentos experimentais <sup>2</sup>	
	ITM	HTM
Perfil de Nutrientes,		
MS, %	88.76	88.90
PB, %	26,42	26,71
FDN, %	10.59	10.99
FDA, %	5.84	5.59
EE, %	3.05	2.89
MM, %	6.39	6.40
Cu, mg/kg	40.00	40.00
Zn, mg/kg	148.00	148.00

<sup>1</sup>MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; EE = extrato etéreo; MO = matéria orgânica; MM = Matéria mineral; Cu: níveis de cobre do suplemento; Zn: níveis de zinco no Suplemento.

<sup>2</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; HTM: tratamento contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de HTM.

Outros minerais/nível mínimo: Ca = 23g/kg; P = 6 g/kg; Mg = 1 g/kg; S= 3 g/kg; F = 100 mg/kg; Mn = 30 mg/kg; Co = 2,4 mg/kg; I = 3 mg/kg; Se = 0,8 mg/kg.

Baseado no perfil nutricional dos alimentos, analisado de acordo com a metodologia da AOAC (1990).

Amostras mensais foram colhidas da oferta e das sobras da dieta, e congeladas a -18 °C para posterior análise química. O teor de matéria seca (MS) da oferta e das sobras foram analisados para posterior cálculo do CMS. As amostras foram descongeladas, secas em estufas de ventilação forçada a 55°C por 48 horas para determinação da MS parcial. Posteriormente, as amostras foram processadas em moinho de facas com peneiras com crivos de 1 mm. Para a determinação da MS total, foi realizada a secagem das amostras em estufa a 105° C por 24 horas e a MM através da incineração das amostras em mufla a 550°C por 4 horas, os métodos foram realizados de acordo com as metodologias propostas pela association of official analytical chemists (AOAC, 2005). O teor de EE foi determinado utilizando éter de petróleo um Extrator AnkomXT15 (Ankom Technology, Macedônia, EUA), de acordo com AOAC (2005).

Para a determinação do nitrogênio total foi utilizado o método elementar, através aparelho LECO Tru Mac® /N (Nitrogen Determinator, version 1,5x, St. Joseph, EUA). A PB foi calculada determinando a quantidade de nitrogênio total e multiplicando-o por 6,25, como fator de correção. A determinação da fração fibrosa foi realizada de forma sequencial, utilizando alfa-amilase termoestável e sulfito de sódio para análise de FDN de acordo com metodologia proposta por Mentens (2002) sendo utilizado o Analisador de Fibra Ankon 2000 (Ankon Tech. Corp., Fairport, NY, USA).

#### **4.2.4 Avaliação de puberdade e prenhez**

Aos 14 meses de idade, as novilhas foram separadas em novilhas púberes e não púberes. As novilhas que apresentaram corpo lúteo (CL) nas duas US com 7 dias de intervalo foram consideradas púberes espontâneas, enquanto as novilhas sem CL foram submetidas a um protocolo de indução de ovulação hormonal e foram consideradas novilhas induzidas pela puberdade. Esse protocolo foi realizado com implante intravaginal de progesterona (P<sub>4</sub>) de baixa concentração (0,5 mg) por um período de 12 dias. Ao retirar o implante P<sub>4</sub>, foi aplicado 0,5 mg de Cipionato de Estradiol (CE).

Foram consideradas púberes induzidas as novilhas que apresentaram CL na US em 7 ou 14 dias após o término do protocolo. Além disso, 14 dias após o protocolo de indução à primeira ovulação, todas as novilhas púberes espontâneas e induzidas foram sincronizadas com um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), no qual as novilhas receberam um implante de P<sub>4</sub> (0,5 mg) e 2,0 mg de Benzoato de Estradiol (BE) via IM no dia 0. Sete dias após o início do protocolo de IATF, o implante de P<sub>4</sub> foi retirado e foram aplicados 0,5 mg de CE, 0,500 mg de cloprostenol (Análogo PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) e 200 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) via IM. As novilhas foram inseminadas 48 horas após a retirada do dispositivo P<sub>4</sub>.

Todas as novilhas foram submetidas a ultrassonografia do aparelho reprodutor para identificação do diâmetro e perfusão sanguínea do corpo lúteo (CL) por meio de US Power-Doppler 20 dias após a IA. Novilhas apresentando CL com sinais de perfusão sanguínea superiores a 25% foram consideradas gestantes (P20). As novilhas foram novamente submetidas à US 30 e 60 dias após a IA para confirmação de prenhez por detecção do embrião (P30) e do feto (P60), respectivamente. Assim, foi calculada a porcentagem de perda embrionária precoce (P20 – P30), tardia (P30 – P60) e prenhez (P60).

#### **4.2.5 Análises das concentrações sanguíneas e hepáticas de cobre e zinco**

No início dos protocolos de IA e após o último diagnóstico de gestação, 20 animais de cada grupo nutricional (40 animais) foram submetidos a procedimento de biópsia hepática para avaliação da concentração de Cu e Zn no tecido. O método utilizado para o procedimento de biópsia hepática utilizada no presente estudo já foi detalhadamente descrito por Braga et al. (2009). Segundo os autores, o ponto ideal para introdução da agulha utilizada na punção é no

11° espaço intercostal direito, aproximadamente 20cm abaixo da linha dorsal, na interseção de uma linha imaginária entre a tuberosidade externa do íleo e a escápula e outra linha perpendicular ao 11° espaço intercostal. Este ponto corresponde à posição topográfica do lobo direito do fígado. Após tricotomia e antissepsia do local com detergente a base de clorexidina, iodopovidona e álcool 70%, as agulhas de biópsia foram introduzidas no fígado por acesso percutâneo e transtorácico. A quantidade de material coletado foi de aproximadamente 0,5g, esses fragmentos foram limpos com solução fisiológica e armazenados em freezers a -20° C para posterior análise por espectrometria de absorção atômica.

O sangue foi coletado na veia coccígea, localizada na base da cauda dos animais, em tubos com K2EDTA. As amostras de plasma foram preparadas para análise de oligoelementos para determinar a quantidade de Cu e Zn, foi utilizada a espectrometria de absorção atômica, conforme descrito por Pogge e Hansen (2013).

#### **4.2.6 Análises estatísticas**

As baias foram utilizadas como unidades experimentais para análise de CMS, GMD e EA. O CMS analisado foi calculado dividindo-se o CMS da baía pelo número de novilhas na baía. O GMD analisado foi o GMD médio das novilhas no curral. Os valores médios de CMS e GMD foram utilizados para calcular a EA.

Novilhas foram utilizadas como unidade experimental para análise das variáveis P20, P30, P60, perda embrionária precoce e tardia, bem como variáveis de produção embrionária.

As análises estatísticas foram realizadas usando os procedimentos MIXED e GLIMMIX do SAS 9.3. Na interpretação e discussão dos resultados, adotou-se efeito significativo quando  $P \leq 0,05$  e tendência quando  $0,05 \leq P \leq 0,10$ . Todos os dados foram analisados quanto à normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro Wilk, homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene e remoção de outliers com base no valor residual studentizado. Os conjuntos de dados que não respeitam nenhuma das premissas estatísticas foram submetidos a transformações logarítmicas, inversas ou de raiz quadrada.

### **4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

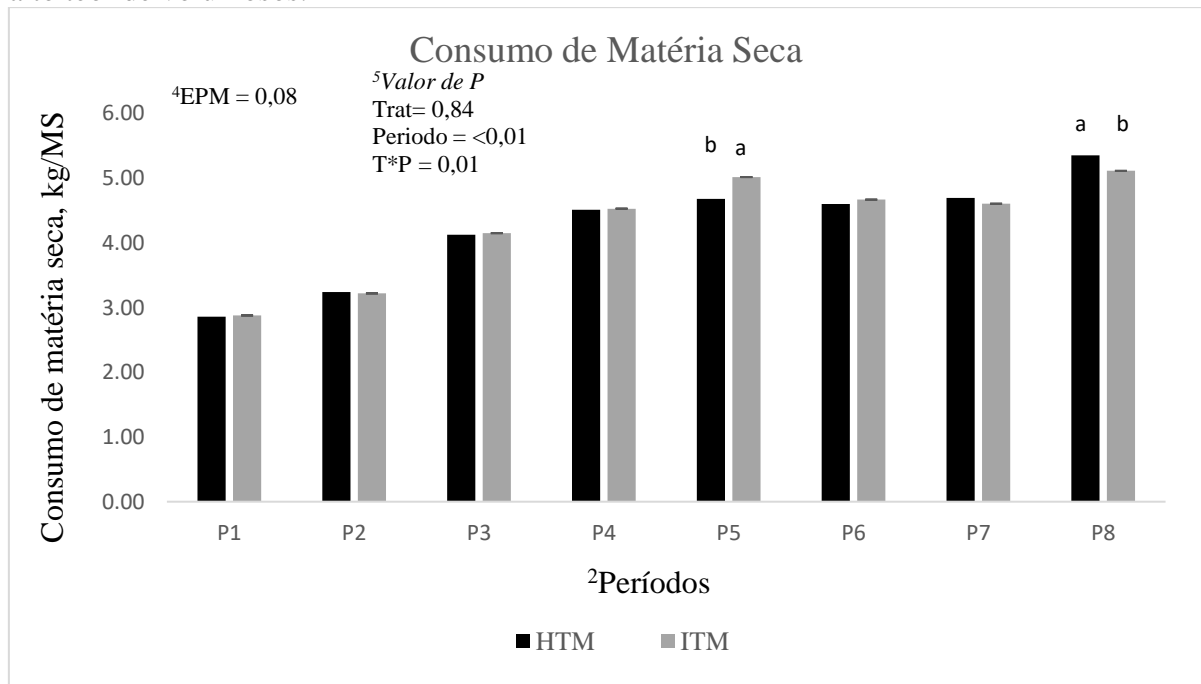
Observou-se interação entre tratamento e período para CMS, ao desdobrar a interação podemos observar que, o tratamento HTM apresentou diminuição de 6,77% no CMS de forragem ( $P < 0,01$ ) quando comparado com o tratamento ITM durante o período 5 (CMS =

4.68 vs 5.02 kg/MS, respectivamente). Entretanto, durante o período 8 o tratamento HTM apresentou aumento de 4,49% no CMS de forragem em relação ao tratamento ITM (CMS = 5.35 vs 5.11kg/MS, respectivamente), conforme mostrado na figura 1. Também, o CMS de forragem médio por animal durante o estudo foi de 4,27kg por dia, representando CMS médio 1,67% e consumo de FDN de 1,01% do peso corporal, composto por pré-secado de fibra longa.

Como esperado, houve efeito de período em relação ao CMS. Essa variável é diretamente influenciada pelo peso corporal dos animais, resultando em diferença entre períodos, com resposta semelhante ao peso corporal dos animais, CMS de forragem e suplemento, tanto em quilos quanto em porcentagem do peso corporal.

De acordo com os resultados apresentados no experimento 1, o CMS de forragem não foi influenciado ao início do estudo. Entretanto, a diferença apresentada em relação ao consumo de forragem, não é bem entendida, pois são escassos na literatura os efeitos de fontes de hidroximinerais ao longo do tempo.

Figura 1 - Consumo de matéria seca de forragem de novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.



<sup>1</sup>O CMS de forragem de cada baía foi dividido pelo número de novilhas por baía e apresentada em quilogramas por animal.

<sup>2</sup>7 Períodos experimentais com duração de 28 dias e um período experimental com duração de 60 dias.

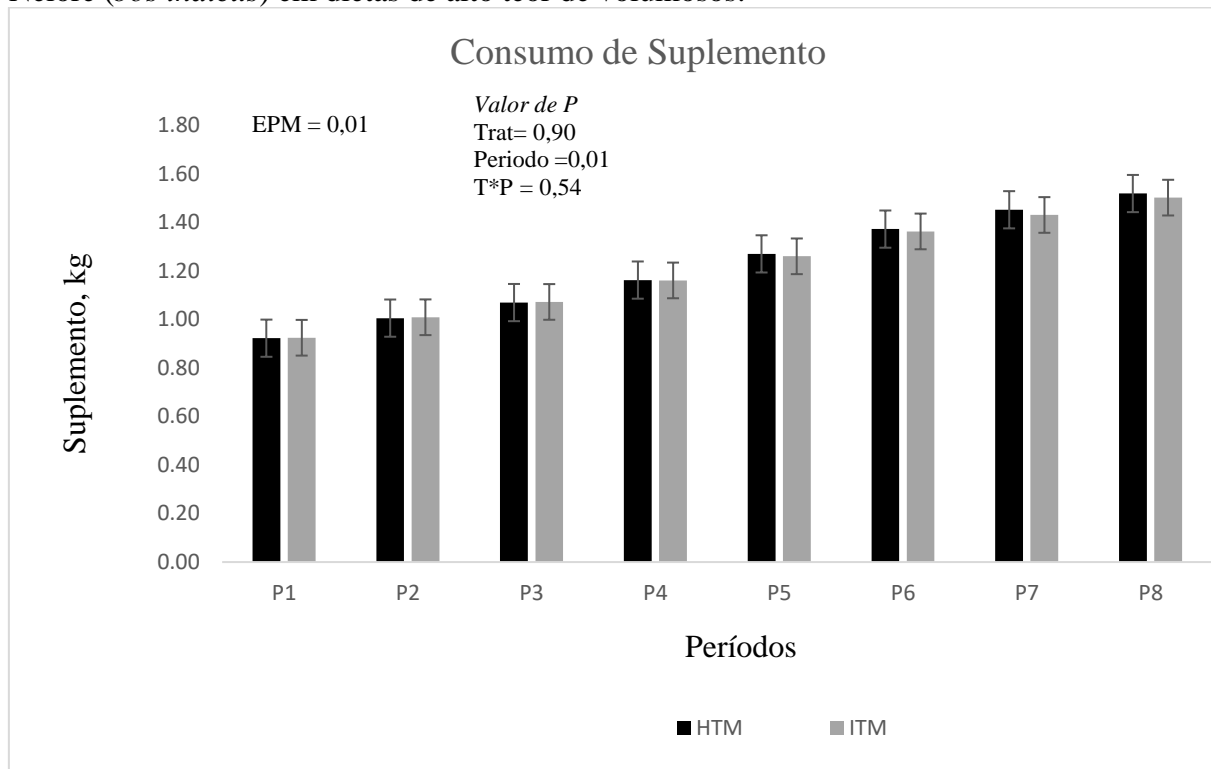
<sup>3</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; HTM: tratamento contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de HTM.

<sup>4</sup>EPM = Erro padrão da média.

<sup>5</sup>Valor de P = Tratamento efeito de tratamento; Período: efeito de período; T\*P: efeito de interação entre tratamento e período.

Não houve interação entre os tratamentos experimentais e o período para o consumo de suplemento em kg/dia ( $P = 0,54$ ) e para o consumo de suplemento em relação a porcentagem de peso vivo ( $P = 0,92$ ). O suplemento foi oferecido diariamente com peso fixo, estipulado no início de cada período. O cálculo foi feito a 5 gramas por quilo de peso corporal ao início de cada período, após 28 dias os animais foram novamente pesados para avaliar o GMD e corrigir a oferta de suplemento, conforme Figuras 2 e 3. A igualdade entre os tratamentos em relação ao consumo de suplementos ocorreu devido a igualdade no peso dos animais dos dois tratamentos ao início de cada período.

Figura 2 - Consumo médio diário por animal de suplemento proteico-energético de novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.



<sup>1</sup>O consumo de suplemento de cada baía foi dividido pelo número de novilhas por baía e apresentada em quilogramas por animal.

<sup>2</sup>7 Períodos experimentais com duração de 28 dias e um período experimental com duração de 60 dias.

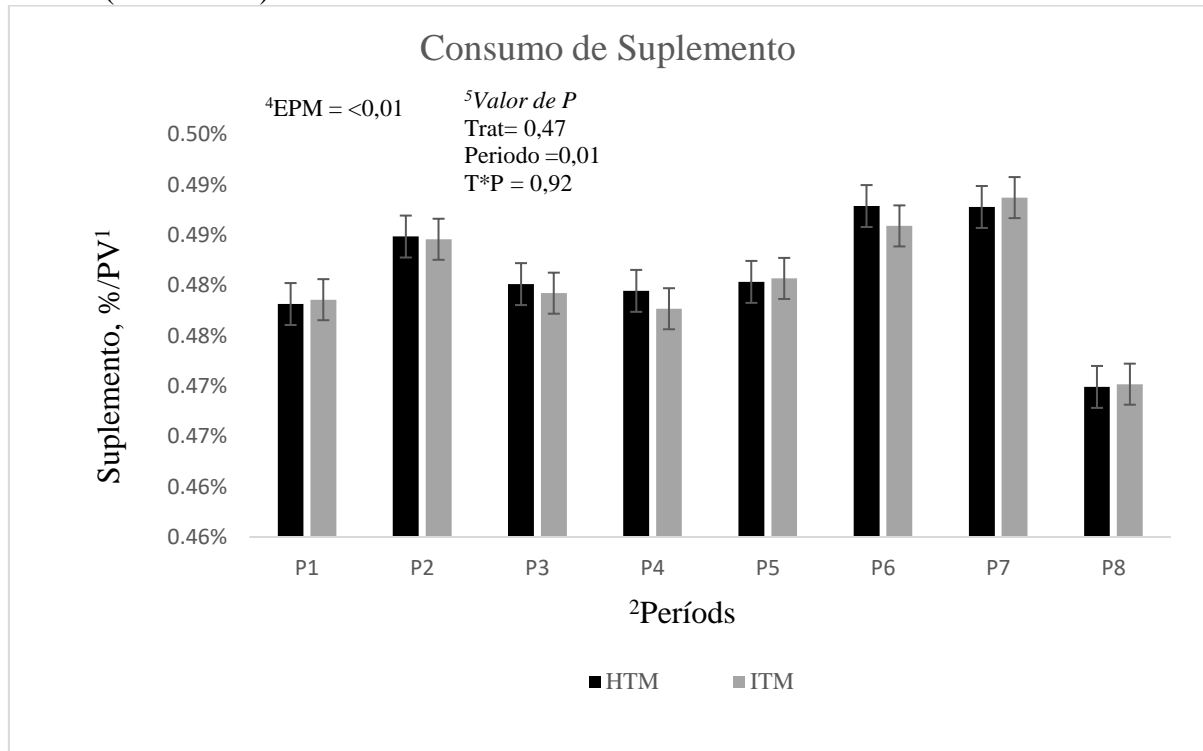
<sup>3</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; HTM: tratamento contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de HTM.

<sup>4</sup>EPM = Erro padrão da média.

<sup>5</sup>Valor de P = Tratamento efeito de tratamento; Período: efeito de período; T\*P: efeito de interação entre tratamento e período.



Figura 3 - Consumo de suplemento proteico-energético em porcentagem do PC de novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.



<sup>1</sup>O consumo de suplemento ofertado e apresentado com base na porcentagem do peso corporal de cada animal

<sup>2</sup> 7 Períodos experimentais com duração de 28 dias e um período experimental com duração de 60 dias.

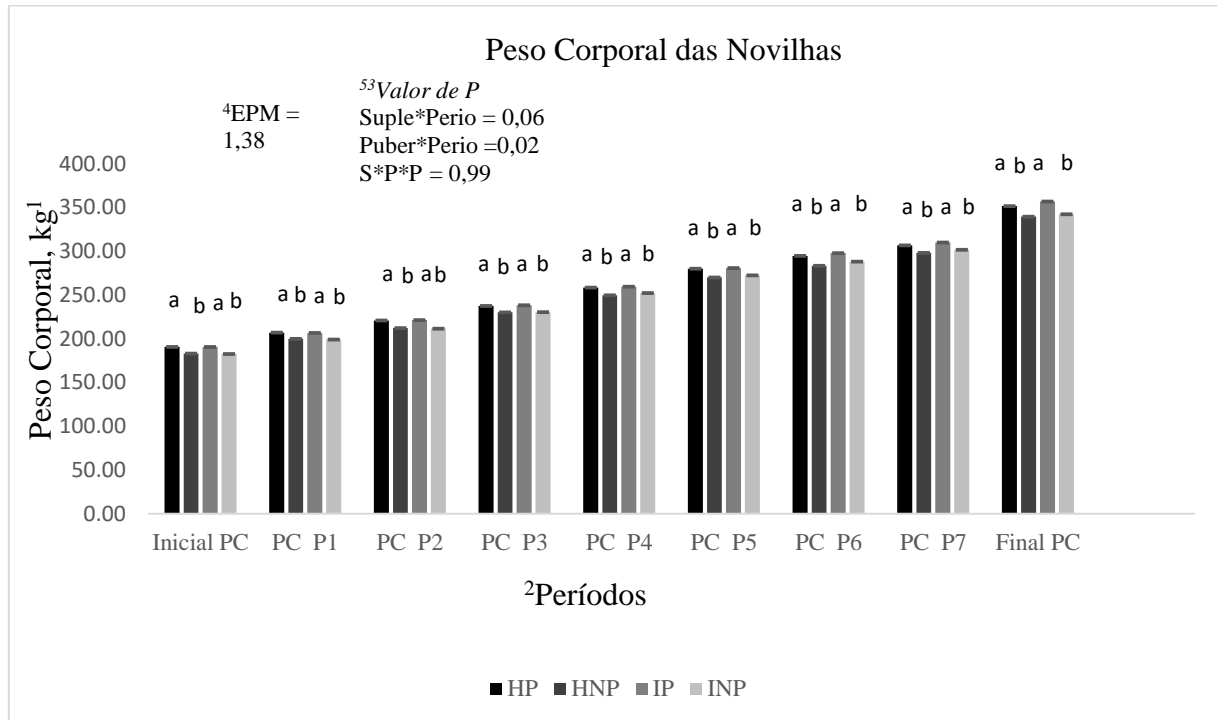
<sup>3</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; HTM: tratamento contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de HTM.

<sup>4</sup>EPM = Erro padrão da média.

<sup>5</sup>Valor de P = Tratamento efeito de tratamento; Período: efeito de período; T\*P: efeito de interação entre tratamento e período.

Não houve interação entre suplementação x período. Entretanto, houve interação entre puberdade e período (Puberdade\*Período) (P=0,02), foi observado que novilhas consideradas precoces iniciaram com maior peso corporal 4,10% maior que as novilhas não precoces, e permaneceram com maior peso corporal ao longo do estudo (Pi: 190,56 vs 182,76; P1: 206,77 vs 199,43; P2: 221,05 vs 211,78; P3:237,83 vs 230,21; P4: 258,91 vs 250,89; P5: 280,37 vs 271,16; P6: 296,20 vs 285,68; P7: 308,28 vs 299,85; PF: 354,12 vs 340,82), quando comparadas a novilhas não precoces, independentemente do tratamento, conforme mostrado na Figura 4.

Figura 4 - Peso corporal médio de novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.



<sup>1</sup>Nos dias 0, 28, 56, 84, 112, 140, 168, 196 e 256 o peso corporal dos animais foi coletado individualmente em jejum hídrico e alimentar de 14 horas

<sup>2</sup> 7 Períodos experimentais com duração de 28 dias e um período experimental com duração de 60 dias.

<sup>3</sup>HP: novilhas do tratamento HTM com presença de ovulação até os 14 meses de idade; HNP: do tratamento HTM sem presença de ovulação até os 14 meses de idade; IP: novilhas do tratamento ITM com presença de ovulação até os 14 meses de idade; INP: novilhas do tratamento ITM sem presença de ovulação até os 14 meses de idade.

<sup>4</sup>EPM = Erro padrão da média.

<sup>5</sup>Suple\*Perio: efeito interação entre suplementação e período; Puber\*Perio: efeito interação entre puberdade e período; S\*P\*P: efeito de interação entre suplementação, puberdade e período.

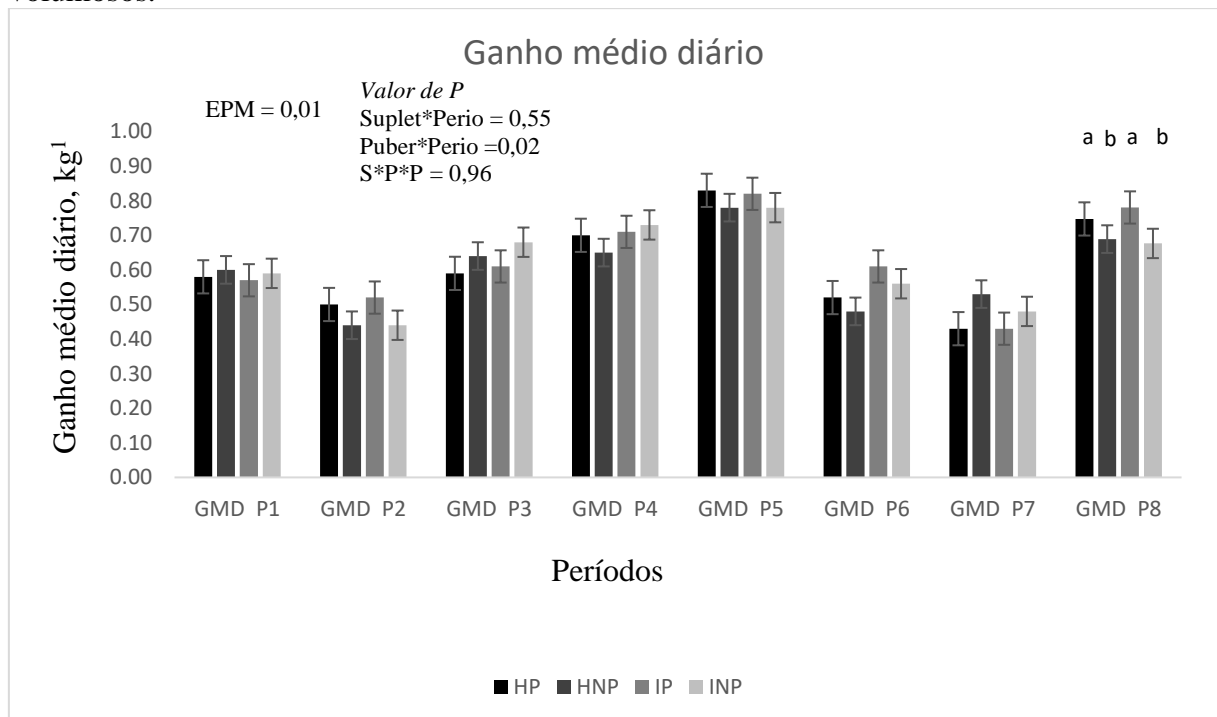
Um padrão de resposta semelhante foi observado por Barroso (2019), o autor relatou que novilhas mestiças (Angus x Nelore), filhas de touros com DEP elevada para circunferência escrotal, também apresentaram peso inicial maior quando comparadas com novilhas de DEP inferior, o padrão de resposta se repetiu para taxa de puberdade e peso a puberdade. Além disso, Terakado et al. (2015), ao avaliarem 26.977 animais Nelore em estação de monta de um rebanho durante os anos de 1986 e 2004, observaram que novilhas consideradas precoces desmamavam mais pesadas quando comparados com novilhas não precoces, dado que se mostra hereditário, visto que, fêmeas precoces em fase reprodutiva produziam bezerros mais pesados ao desmame quando comparadas com fêmeas não precoces. Fato esse que pode justificar o desmame e a permanência do peso mais elevado de novilhas precoces quando comparadas com novilhas consideradas não precoces.

Outro fator importante na manutenção do peso corporal mais elevado é a igualdade no ganho de peso dos tratamentos. Sem modificações na utilização dos nutrientes da dieta e no padrão fermentativo, como mostrado na tabela 4 e 5, respectivamente (Exp. 1).

O GMD não foi influenciado pelo tratamento HTM ao longo dos períodos experimentais (Tratamento\*Período), porém, assim como o peso corporal, houve interação Puberdade\*Período para GMD. As novilhas precoces apresentaram GMD 10,63% maior que as novilhas não precoces no oitavo período, 0,76 kg vs 0,68kg ( $P = 0,02$ ), conforme mostrado na Figura 5.

Houve também uma oscilação no GMD dos animais entre os períodos experimentais, ao início do estudo, a forragem fornecida aos animais apresentava melhor qualidade, com maior PB e menor FDN (Tabela 7.), quando comparado com os períodos finais, principalmente período 6 e 7, esse fato justifica a queda no desempenho mostrado na Figura5.

Figura 5. Ganho médio diário de novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.



<sup>1</sup>Nos dias 0, 28, 56, 84, 112, 140, 168, 196 e 256 o peso corporal dos animais foi coletado individualmente em jejum hídrico e alimentar de 14 horas para posterior cálculo do GMD.

<sup>2</sup> 7 Períodos experimentais com duração de 28 dias e um período experimental com duração de 60 dias.

<sup>3</sup>HP: novilhas do tratamento HTM com presença de ovulação até os 14 meses de idade; HNP: do tratamento HTM sem presença de ovulação até os 14 meses de idade; IP: novilhas do tratamento ITM com presença de ovulação até os 14 meses de idade; INP: novilhas do tratamento ITM sem presença de ovulação até os 14 meses de idade.

<sup>4</sup>EPM = Erro padrão da média.

<sup>5</sup>Suple\*Perio: efeito interação entre suplementação e período; Puber\*Perio: efeito interação entre puberdade e período; S\*P\*P: efeito de interação entre suplementação, puberdade e período.

Os efeitos encontrados na literatura em relação a produtividade ligada aos hidroximinerais apresentam algumas inconsistências. São mostrados efeitos promotores de desempenho, como aumento na produção de AGCC (Guimarães et al., 2020) e, conseqüentemente, maior retenção energética. Por outro lado, em estudo “*in vitro*” conduzido por Eryavuz & Dehority (2009), foi observada a diminuição do biofilme e, conseqüentemente, menor digestão da celulose quando fontes de Zn solúveis em altas concentrações (50 µg/ml) foram adicionadas ao conteúdo ruminal. Porém, estudos “*in vivo*” são menos consistentes na expressão desses resultados (Genther & Hansen, 2015). Segundo os autores, um fator de suma importância para que haja prejuízo no processo fermentativo são as doses solúveis no ambiente ruminal.

Em estudo realizado por Miller et al., (1989), não foi observada diminuição no CMS de vacas alimentadas com 1.000 de ZnSO<sub>4</sub> kg/MS, porém, quando a dose ofertada foi a de 2.000 de ZnSO<sub>4</sub> kg/MS, foi observada redução no CMS devido à possíveis efeitos negativos em relação à digestibilidade, além disso, os autores relataram redução na produção leiteira dos animais. Outro fato observado, é o aumento da produção de propionato causada pela inclusão de altas doses de Zn solúvel (Froetschel et al., 1990; Arelovich et al., 2000; Bateman et al., 2004). Essas modificações não foram observadas durante o Experimento 1, mostrando uma possível semelhança na ação entre HTM e CON em relação ao ambiente ruminal, justificando a igualdade entre os tratamentos em relação ao CMS e GMD.

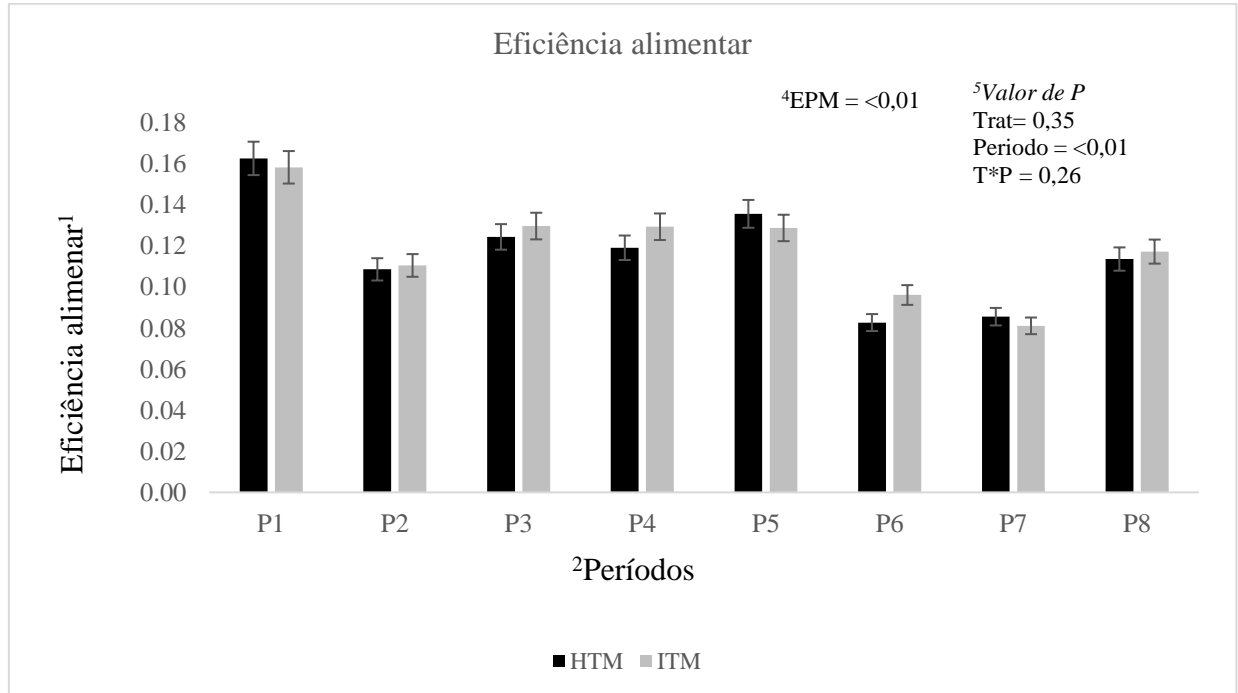
Semelhante aos resultados obtidos no presente estudo, Ryan et al. (2015) não observaram efeitos em relação ao ganho de peso quando novilhos mestiços foram tratados com hidroximinerais, igualmente aos resultados obtidos por Springman et al. (2021). Os autores não observaram efeitos de GMD em novilhas angus ao substituírem fontes de minerais convencionais em forma de sulfatos por fontes de hidroximinerais.

Em estudo conduzido por Yasui et al. (2014), os autores concluíram que a inclusão de hidroximinerais tem a capacidade de modular positivamente a capacidade antioxidante no plasma de vacas leiteiras multíparas em período de transição, porém a produção e composição do leite não foi afetada pela inclusão de diferentes fontes de minerais. Corroborando com os dados obtidos por Faulkner et al. (2017), os autores também não observaram diferenças produtivas quando houve a inclusão de hidroximinerais na dieta de vacas leiteiras, mesmo com capacidade de apresentar melhores valores na digestibilidade da fibra dietética (Faulkner & Weiss, 2017).

Igualmente aos dados de CMS e GMD, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos em relação à EA (Figura 6). Fato esperado, visto que, trata-se de uma

variável composta pelos resultados obtidos a partir de CMS e GMD que, por sua vez, também não apresentaram diferenças estatísticas.

Figura 6 - Eficiência alimentar de novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.



<sup>1</sup> A EA das novilhas foi feita a partir do ganho médio diário obtido nos dias 0, 28, 56, 84, 112, 140, 168, 196 e 256 e do CMS das novilhas durante os períodos experimentais

<sup>2</sup> 7 Períodos experimentais com duração de 28 dias e um período experimental com duração de 60 dias.

<sup>3</sup> ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; HTM: tratamento contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de HTM.

<sup>4</sup> EPM = Erro padrão da média.

<sup>5</sup> Valor de P = Tratamento efeito de tratamento; Período: efeito de período; T\*P: efeito de interação entre tratamento e período.

Ao início do experimento, os animais tinham  $8 \pm 1$  meses de idade, após atingirem os 12 meses de idade, foram realizadas ultrassonografias semanais para avaliar a idade à puberdade desses animais. A suplementação com HTM não influenciou a idade à puberdade de novilhas aos 12, 12,5, 13 e 13,5 meses de idade, conforme Tabela 9.

Tabela 9 - Início da puberdade em novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.

Item <sup>2</sup>	Tratamentos <sup>3</sup>		Valor de P <sup>4</sup>
	HTM	ITM	
12 meses	2/107 (1,86%)	0/105 (0%)	0,97
12.5 meses	6/107 (5,61%)	6/105 (5,71%)	0,97
13 meses	18/107 (16,82%)	13/105 (14,29%)	0,61
13.5 meses	23/107 (21,49%)	23/105 (21,90%)	0,94

<sup>1</sup>A avaliação ginecológica para observação do aparecimento de puberdade iniciou-se durante o período 5e se estendeu até que se iniciassem os protocolos de indução à ovulação e IATF

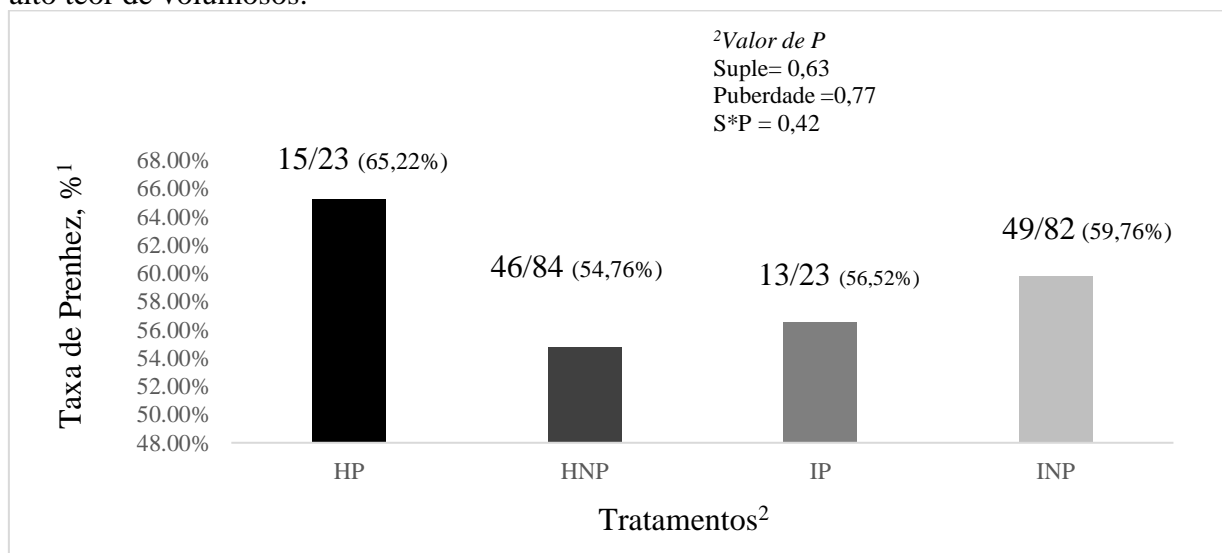
<sup>2</sup>Idade à primeira ovulação espontânea.

<sup>3</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; HTM: tratamento contendo Cu = 40mg e Zn = 148 mg por kg de suplemento na forma de HTM.

<sup>4</sup>Valor de P = Tratamento efeito de tratamento; Período: efeito de período; T\*P: efeito de interação entre tratamento e período.

Após a avaliação ginecológica dos animais e o aparecimento dos animais púberes, todos os animais foram submetidos a um protocolo de IATF, as novilhas que permaneceram sem prenhez após a primeira IA foram submetidas a um segundo protocolo de IATF. Os resultados da prenhez total não foram influenciados (P = 0,42) por nenhum dos tratamentos, conforme mostrado na figura 7.

Figura 7 - Taxa de prenhez, ao final do estudo de novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.



<sup>1</sup> A IATF das novilhas ocorreu durante o período 8 para que não houvesse interferência de manejos nos resultados

<sup>2</sup>HP: novilhas do tratamento HTM com presença de ovulação até os 14 meses de idade; HNP: do tratamento HTM sem presença de ovulação até os 14 meses de idade; IP: novilhas do tratamento ITM com presença de ovulação até os 14 meses de idade; INP: novilhas do tratamento ITM sem presença de ovulação até os 14 meses de idade.

<sup>3</sup>Suple: efeito de suplementação; Puberdade: efeito de puberdade; S\*P: efeito de interação entre suplementação e puberdade

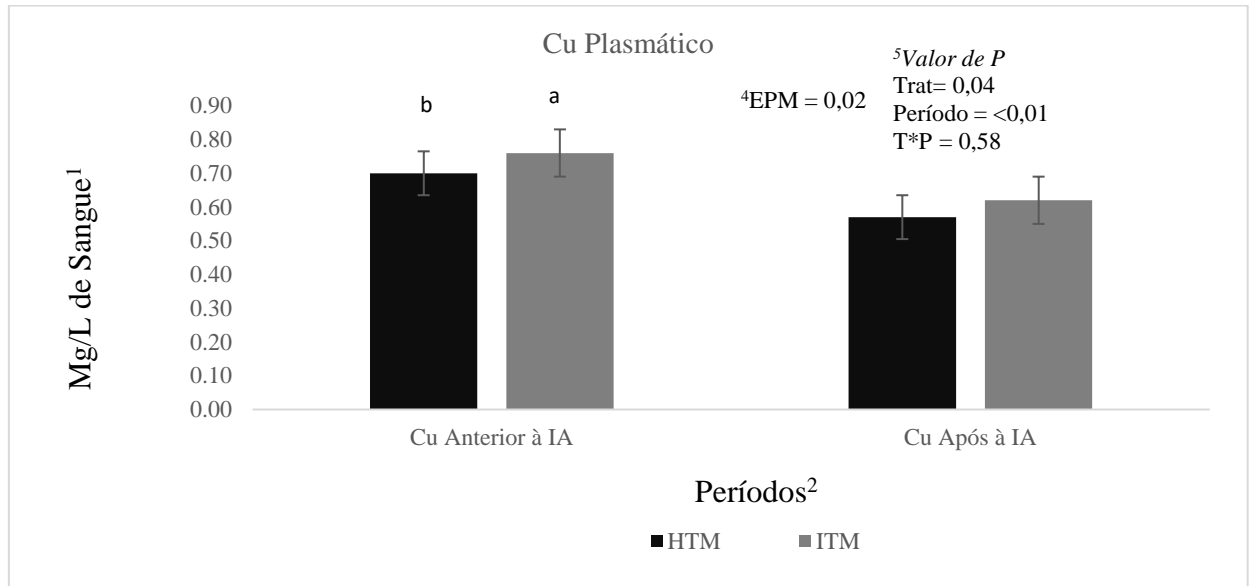
Ao avaliar os resultados de prenhez separadamente, não houve efeito de suplementação, puberdade ou interação entre suplementação e puberdade, tanto em relação à prenhez aos 20, 30 e 60 dias, quanto nas perdas gestacionais precoces ou tardias. Após ser submetida a um segundo protocolo de inseminação artificial em tempo fixo, observou-se efeito ( $P = 0,05$ ) da puberdade para prenhez aos 20 dias, em que o tratamento HP apresentou melhores resultados para gestação aos 20 dias, quando comparado ao HNP e INP, porém não houve efeito para as demais variáveis, conforme mostrado na Tabela 10.

As variáveis ligadas aos parâmetros produtivos e reprodutivos não foram afetadas pela inclusão de HTM. Esse fato, se dá, pois, as novilhas do tratamento ITM, mesmo com status de Cu hepático inferior quando comparado ao tratamento HTM antecedendo a IATF, não teriam sido consideradas deficientes em microminerais, segundo os intervalos de referência sugeridos por Kincaid (1999).

Ao final do período 7 e 8, demarcando o início e final dos protocolos reprodutivos, respectivamente, foram feitas coletas de sangue e de tecido hepático para avaliação das concentrações de Cu e Zn e, com isso, o status mineral dos animais. Foi observado efeito de tratamento para as concentrações sanguíneas de Cu ( $P = 0,04$ ), em que o tratamento HTM apresentou menores concentrações sanguíneas de Cu quando comparado ao grupo ITM anteriormente à IATF (0,70 vs 0,76 mg de Cu/L de sangue, respectivamente; Figura 8), diferente disto, a suplementação com hidroximineral não afetou as concentrações de Zn no sangue (Figura 9).

Houve interação ( $P = 0,02$ ) entre tratamento e período para as concentrações de Cu no tecido hepático. O tratamento HTM apresentou maior concentração hepática de Cu quando comparado ao tratamento ITM (18,11 vs 16,87 mg de Cu/kg de tecido, respectivamente) antes da IA, ao final do período 7, entretanto, ao final do período 8, após os protocolos reprodutivos, não foram observadas diferenças nas concentrações hepáticas das novilhas tratadas com HTM ou ITM (Figura 10). Não houve efeito de tratamento ou interação entre tratamento e período para as concentrações de Zn no tecido hepático, porém, houve efeito de período ( $P = 0,04$ ), em que os animais dos dois tratamentos apresentaram maiores concentrações de Zn no tecido hepático ao final do estudo (Figura 11).

Figura 8 - Concentrações plasmáticas de Cu de novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.



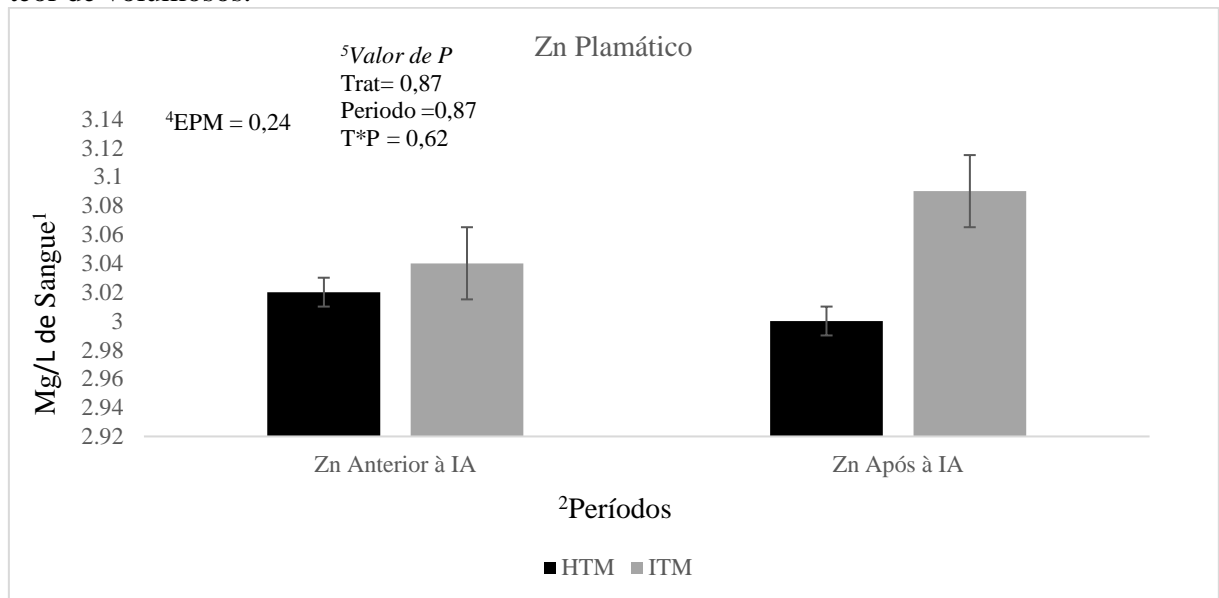
<sup>1,2</sup> A coleta de sangue foi feita ao final do período que antecedia os protocolos reprodutivos e posteriormente aos mesmos (período 7 e 8, respectivamente).

<sup>3</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg/kg e Zn = 148 mg/kg, por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; HTM: tratamento contendo Cu = 40mg/kg e Zn = 148 mg/kg, por kg de suplemento na forma de HTM.

<sup>4</sup>EPM = Erro padrão da média.

<sup>5</sup>Trat = efeito de tratamento; Período: efeito de período; T\*P: efeito de interação entre tratamento e período.

Figura 9 - Concentrações plasmáticas de Zn de novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.



<sup>1,2</sup> A coleta de sangue foi feita ao final do período que antecedia os protocolos reprodutivos e posteriormente aos mesmos (período 7 e 8, respectivamente).

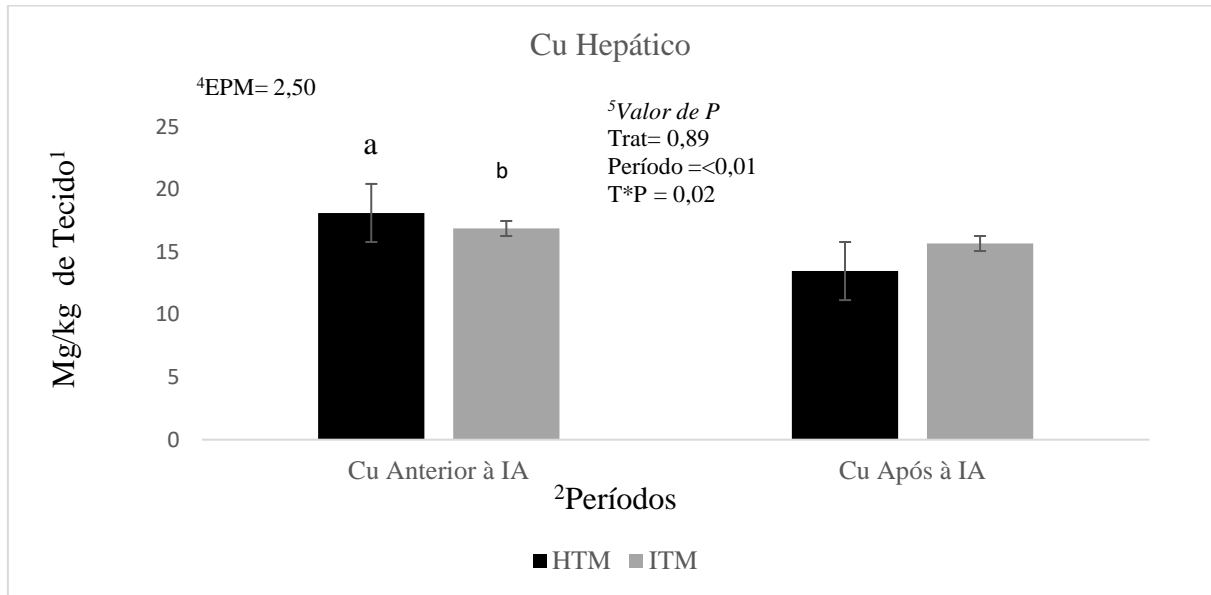
<sup>3</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg/kg e Zn = 148 mg/kg, por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; HTM: tratamento contendo Cu = 40mg/kg e Zn = 148 mg/kg, por kg de suplemento na forma de HTM.

<sup>4</sup>EPM = Erro padrão da média.

<sup>5</sup>Trat = efeito de tratamento; Período: efeito de período; T\*P: efeito de interação entre tratamento e período.



Figura 10 - Concentrações hepáticas de Cu de novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.



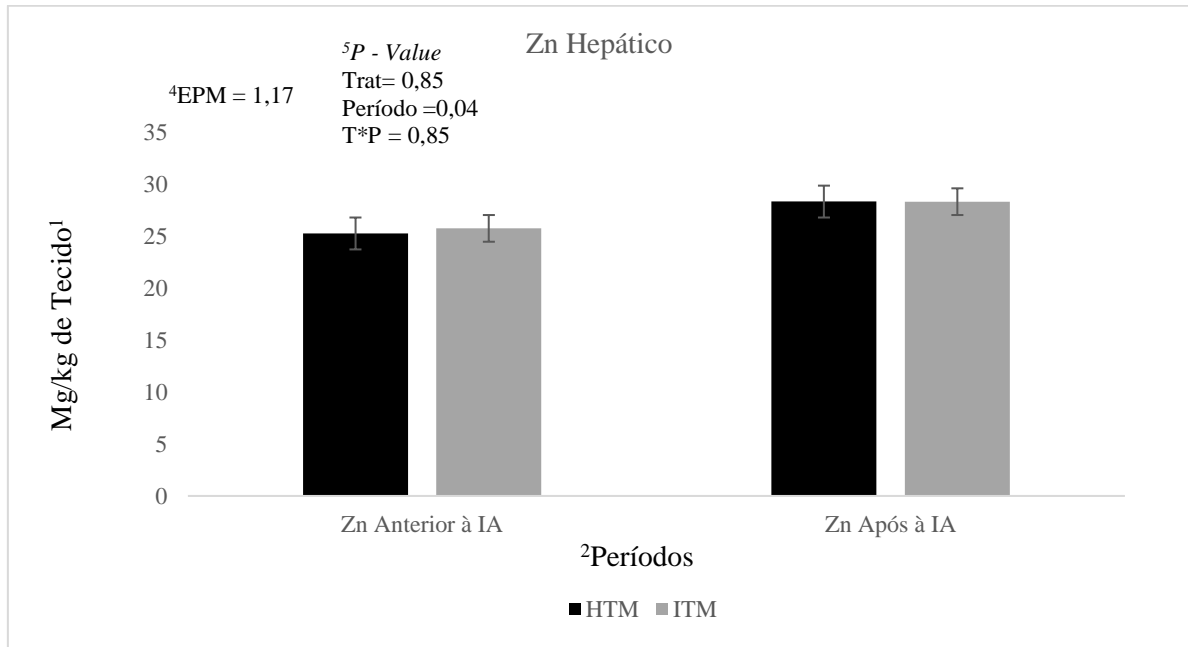
<sup>1,2</sup> A biópsia hepática foi feita ao final do período que antecedia os protocolos reprodutivos e posteriormente aos mesmos (período 7 e 8, respectivamente).

<sup>3</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg/kg e Zn = 148 mg/kg, por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; HTM: tratamento contendo Cu = 40mg/kg e Zn = 148 mg/kg, por kg de suplemento na forma de HTM.

<sup>4</sup>EPM = Erro padrão da média.

<sup>5</sup>Trat = efeito de tratamento; Período: efeito de período; T\*P: efeito de interação entre tratamento e período.

Figura 11 - Concentrações hepáticas de Zn de novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.



<sup>1,2</sup> A biópsia hepática foi feita ao final do período que antecedia os protocolos reprodutivos e posteriormente aos mesmos (período 7 e 8, respectivamente).

<sup>3</sup>ITM: tratamento controle contendo Cu = 40mg/kg e Zn = 148 mg/kg, por kg de suplemento na forma de CuSO<sub>4</sub> e ZnO; HTM: tratamento contendo Cu = 40mg/kg e Zn = 148 mg/kg, por kg de suplemento na forma de HTM.

<sup>4</sup>EPM = Erro padrão da média.

<sup>5</sup>Trat = efeito de tratamento; Período: efeito de período; T\*P: efeito de interação entre tratamento e período.

Embora concentrações hepáticas e plasmáticas sejam usados com frequência para avaliar status mineral em seres vivos, o Zn é armazenado com mais eficiência nos rins e ossos (Underwood, 1977; Rojas et al., 1995).

Segundo Small et al. (1997) status de Cu se modifica nos tecidos em diferentes fases fisiológicas da fêmea e, de acordo com as informações citadas pelos autores, as concentrações de Cu maiores no período de estro quando comparadas ao período de 21 dias após a concepção, o que justificando efeito de período das concentrações plasmáticas de Cu e interação tratamento\*período das concentrações hepáticas de Cu, visto que, as primeiras coletas foram feitas quando os animais ainda não haviam entrado em estação reprodutiva, diferentemente do ocorrido na segunda coleta, em que as fêmeas já haviam sido inseminadas e encontravam-se, em maioria, prenhes.

Houve interação entre suplementação e puberdade na produção de oócitos grau 2 ( $P < 0,01$ ), oócitos grau 3 ( $P < 0,01$ ), oócitos viáveis ( $P < 0,01$ ) e produção total de embriões por animal ( $P < 0,01$ ), conforme tabela 11. A menor produção de oócitos pode estar ligada a uma interação hormonal entre presença de CL e desenvolvimento folicular (Pfeifer et al., 2009). Essa possível interação pode ser apresentada de diversas formas, pois cada CL tem uma função hormonal individual, podendo atuar de forma sistêmica ou local na população folicular (Bartlewski et al., 2001; Shabankareh et al., 2009).

É possível que um CL ativo iniba de forma acentuada a foliculogênese. De acordo com Matton et al. (1981) a presença de folículos dominantes foi reduzida em animais que apresentavam CL de ciclos anteriores ainda no momento da aspiração, resposta foi semelhante na contagem de folículos antrais ( $>3$  mm) em ovelha (Bartlewski et al., 2001), o que justificaria os resultados obtidos no presente estudo.

Além disso, alguns dados presentes na literatura relatam reduções nos níveis de estradiol em vacas leiteiras com presença de CL nos ovários (Hajarian et al., 2015; Santos et al., 2009), bem como uma redução significativa na quantidade e qualidade dos folículos produzidos pelos animais (Penitente-Filho et al., 2014). Segundo Hajarian et al. (2015) esses efeitos são observados em tanto folículos com CL ipsilateral quanto em ovários sem presença de CL. Esses efeitos supressores do CL em relação à produção de oócitos e, por consequência, na produção total de embriões, pode ser justificado devido à efeitos supressores da P<sub>4</sub> nos pulsos de LH, que é um grande responsável pelo crescimento final dos grandes folículos dominantes.

Tabela 10 - Taxa de prenhez e perdas gestacionais referentes à IATF em novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.

Variáveis <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>				Valor de P <sup>3</sup>		
	HP	HNP	IP	INP	Puberdade	Suplementação	P*S
<b>1° IA</b>							
Prenhez 20D	15/23 (65.21%)	49/84 (58.33%)	15/23 (65.21%)	53/82 (64.63%)	0,65	0,70	0,70
Prenhez 30D	12/23 (52.17%)	44/84 (52.38%)	10/23 (43.48%)	44/82 (53.66%)	0,11	0,22	0,92
Prenhez 60D	11/23 (47.82%)	38/84 (45.24%)	9/23 (39.13%)	41/82 (50.00%)	0,22	0,44	0,59
Perda Precoce	3/15 (20.00%)	5/49 (10.20%)	5/15 (33.33%)	8/53 (16.98%)	0,11	0,22	0,92
Perda Tardia	1/12 (8.33%)	6/44 (13.64%)	1/10 (10.00%)	4/44 (9.09%)	0,98	0,82	0,64
<b>2° IA</b>							
Prenhez 20D	6/8 <sup>a</sup> (75.00%)	12/35 <sup>b</sup> (34.29%)	4/8 <sup>ab</sup> (50.00%)	10/29 <sup>b</sup> (34.48%)	0,05	0,37	0,36
Prenhez 30D	4/8 (50.00%)	7/35 (20.00%)	4/8 (50.00%)	8/29 (27.59%)	0,98	0,98	0,98
Perda Precoce	2/6 (33.33%)	5/12 (41.66%)	0 (0.00%)	2/10 (20.00%)	0,98	0,98	0,98

<sup>1</sup>Prenhez 20D = diagnóstico de gestação 20 dias após a IA; Prenhez 30D = diagnóstico de gestação 30 dias após a IA; Prenhez 60D = diagnóstico de gestação 60 dias após a IA; Perda Precoce = perda gestacional entre 20 e 30 dias de gestação; Perda Tardia = perda gestacional entre 30 e 60 dias de gestação;

<sup>2</sup>HP: novilhas do tratamento HTM com presença de ovulação até os 14 meses de idade; HNP: do tratamento HTM sem presença de ovulação até os 14 meses de idade; IP: novilhas do tratamento ITM com presença de ovulação até os 14 meses de idade; INP: novilhas do tratamento ITM sem presença de ovulação até os 14 meses de idade.

<sup>a,b,c</sup>Na linha, médias sem sobrescritos em comum são diferentes pelo teste de Tukey (P < 0,05).

<sup>3</sup>Puberdade: efeito de puberdade; Suplementação: efeito de suplementação; P\*S = efeito de interação entre puberdade e suplementação.

Tabela 11. Produção média de oócitos e embriões em novilhas Nelore (*bos indicus*) em dietas de alto teor de volumosos.

Variáveis	Tratamentos <sup>1</sup>				EPM <sup>2</sup>	Valor de P <sup>3</sup>		
	HP	HNP	IP	INP		Puberdade	Suplementação	P*S
Oócitos G1	0,35	0,20	0,53	0,42	0,06	0,18	0,06	0,59
Oócitos G2	0,92 <sup>c</sup>	2,10 <sup>a</sup>	1,43 <sup>b</sup>	1,38 <sup>bc</sup>	0,19	0,01	0,96	<0,01
Oócitos G3	9,94 <sup>c</sup>	19,83 <sup>a</sup>	13,21 <sup>b</sup>	12,17 <sup>b</sup>	1,15	<0,01	0,03	<0,01
Oócitos Viáveis	11,22 <sup>c</sup>	22,13 <sup>a</sup>	15,17 <sup>b</sup>	13,96 <sup>b</sup>	1,26	<0,01	0,07	<0,01
Total de Embriões	3,25 <sup>c</sup>	6,03 <sup>a</sup>	4,87 <sup>b</sup>	3,75 <sup>c</sup>	0,38	0,03	0,66	<0,01

<sup>1</sup>HP: novilhas do tratamento HTM com presença de ovulação até os 14 meses de idade; HNP: do tratamento HTM sem presença de ovulação até os 14 meses de idade; IP: novilhas do tratamento ITM com presença de ovulação até os 14 meses de idade; INP: novilhas do tratamento ITM sem presença de ovulação até os 14 meses de idade.

<sup>a,b,c</sup>Na linha, médias sem sobrescritos em comum são diferentes pelo teste de Tukey (P < 0,05).

<sup>2</sup>EPM: Erro padrão da média.

<sup>3</sup>Puberdade: efeito de puberdade; Suplementação: efeito de suplementação; P\*S = efeito de interação entre puberdade e suplementação.

A função individual dos minerais ainda é pouco relatada em relação ao desenvolvimento folicular, em estudo realizado por Lamb et al. (2008), os autores não observaram efeito da suplementação de diferentes fontes de microminerais quando comparadas com novilhas não suplementadas em relação à quantidade de folículos ovarianos e CL em novilhas angus, porém, os autores não avaliaram o status total e individual dos minerais no corpo dos animais. Corroborando com isso, Stokes et al. (2018), também não relataram diferenças significativas em relação ao número de folículos em novilhas Angus suplementadas com fontes de microminerais injetáveis, porém, semelhante ao presente estudo, observaram aumento no status de Cu hepático.

Em estudo realizado por Dantas et al. (2019), animais suplementados com fontes orgânicas de minerais apresentaram maior número de folículos recuperados na aspiração folicular quando comparados com animais suplementados com fontes inorgânicas e, mesmo com boa correlação para as concentrações de Zn, não foram observadas diferenças no status plasmático e hepático de Zn nos animais do grupo tratado com fontes orgânicas. Segundo os autores, o único elemento em maior concentração hepática foi o Co, apresentando, também, correlação positiva com a maior recuperação de oócitos.

Há grande dificuldade em entender o maior número de oócitos coletados de novilhas HNP, visto que, ainda não há um entendimento concreto em relação aos microelementos de forma individual nos processos reprodutivos. Mesmo o Zn apresentando boa correlação com a maior recuperação de oócitos (Dantas et al., 2019) tratando-se de um antioxidante, melhorador de status metabólico (Anchordoquy et al., 2013), o que justificaria a maior recuperação de oócitos das novilhas HNP. Não foram observadas diferenças nas concentrações de Zn plasmáticas e hepáticas, conforme pode ser observado nas figuras 8 e 9.

#### 4.4 CONCLUSÃO

A substituição de fontes inorgânicas convencionais de microminerais, como sulfatos e óxidos por fontes alternativas, como os hidroximinerais não afeta o status mineral hepático e sanguíneo, tão quanto variáveis como consumo de matéria seca, peso corporal, ganho médio diário e eficiência alimentar de novilhas Nelore superprecoces. O fator precocidade influenciou positivamente o peso corporal dos animais ao longo do estudo.

Da mesma forma, a suplementação com fontes alternativas de Cu e Zn não foi capaz de melhorar os resultados de prenhez aos 20, 30 e 60 dias, igualmente a perda gestacional precoce e tardia (aos 30 e 60 dias, respectivamente)

Observou-se, também, que as fontes de hidroximinerais, tão quanto o fator precocidade, não afetam o desempenho reprodutivo das novilhas. Entretanto, as interações entre suplementação e puberdade devem ser avaliadas em mais estudos para que haja uma percepção mais aguçada das respostas observadas.

A utilização de hidroximinerais na nutrição de novilhos Nelore jovens deve ser avaliada quanto à sua viabilidade financeira, visto que, a produção desses compostos agrega valor aos produtos comercializados, fazendo com que, esses, sejam mais onerosos ao produtor, aumentando os custos da atividade.

## REFERÊNCIAS

- ANCHORDOQUY, J. P.; ANCHORDOQUY, J. M.; SIRINI, M. A.; MATTIOLI, G.; PICCO, S. J.; FURNUS, C. C. Effect of different manganese concentrations during in vitro maturation of bovine oocytes on DNA integrity of cumulus cells and subsequent embryo development. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 48, n. 6, p. 905-911, 2013.
- ARELOVICH, H. M.; OWENS, F. N.; HORN, G. W.; VIZCARRA, J. A. Effects of supplemental zinc and manganese on ruminal fermentation, forage intake, and digestion by cattle fed prairie hay and urea. **Journal of animal science**, v. 78, n. 11, p. 2972-2979, 2000.
- BALAMURUGAN, B.; RAMAMOORTHY, M.; MANDAL, R. S. K.; KEERTHANA, J., GOPALAKRISHNAN, G., KAVYA, K., & KATIYAR, R. Mineral an important nutrient for efficient reproductive health in dairy cattle. **International Journal of Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 694-701, 2017.
- BARROSO, J. P. R. **Efeito do ritmo de ganho de peso e da DEP do touro na puberdade de novilhas cruzadas (Angus x Nelore) desmamadas precocemente**. 2019. 53 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciências). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.
- BARTLEWSKI, P. M.; BEARD, A. P.; RAWLINGS, N. C. Ultrasonographic study of the effects of the corpus luteum on antral follicular development in unilaterally ovulating western white-faced ewes. **Animal reproduction science**, v. 65, n. 3-4, p. 231-244, 2001.
- BATEMAN II, H.G.; WILLIAMS, C.C.; GANTT, D.T.; CHUNG, Y.H.; BEEM, A.E., STANLEY, C.C.; GOODIER, G.E.; HOYT, P.G.; WARD, J.D.; BUNTING, L.D. Effects of zinc and sodium monensin on ruminal degradation of lysine-HCl and liquid 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid. **Journal of dairy science**, v. 87, n. 8, p. 2571-2577, 2004.
- BRAGA, M. M.; CASTILHO, L. M. L.; DOS SANTOS, M, N. Biópsia hepática em bovinos: proposta de nova técnica. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v. 15, n. 1, 2009.
- BRUNES, L. C.; BALDI, F. S.; COSTA, M. F. O. E.; QUINTANS, G.; BANCHERO, G., LÔBO, R. B.; MAGNABOSCO, C. U. Early growth, backfat thickness and body condition has major effect on early heifer pregnancy in Nellore cattle. **Anais Da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, 2022.
- DANTAS, F. G.; REESE, S. T.; FILHO, R. V.; CARVALHO, R. S.; FRANCO, G. A.; ABBOTT, C. R.; POHLER, K. G. Effect of complexed trace minerals on cumulus-oocyte complex recovery and in vitro embryo production in beef cattle. **Journal of Animal Science**. v. 97, n. 4, p. 1478-1490, 2019.
- ERYAVUZ, A.; DEHORITY, B.A. Effects of supplemental zinc concentration on cellulose digestion and cellulolytic and total bacterial numbers in vitro. **Animal feed science and technology**, v. 151, n. 3-4, p. 175-183, 2009.
- FAULKNER, M. J.; WEISS, W. P. Effect of source of trace minerals in either forage-or by-product-based diets fed to dairy cows: 1. Production and macronutrient digestibility. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 7, p. 5358-5367, 2017.

- FAULKNER, M. J.; ST-PIERRE, N. R.; WEISS, W. P. Effect of source of trace minerals in either forage-or by-product-based diets fed to dairy cows: 2. Apparent absorption and retention of minerals. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 7, p. 5368-5377, 2017.
- FORMIGONI, A.; FUSTINI, M.; ARCHETTI, L.; EMANUELE, S.; SNIFFEN, C. AND BIAGI, G. Effects of an organic source of copper, manganese and zinc on dairy cattle productive performance, health status and fertility. **Animal feed science and technology**. 164: 191-198, 2011.
- FROETSCHER, M. A.; MARTIN, A. C.; AMOS, H. E.; EVANS, J. J. Effects of zinc sulfate concentration and feeding frequency on ruminal protozoal numbers, fermentation patterns and amino acid passage in steers. **Journal of animal science**, v. 68, n. 9, p. 2874-2884, 1990.
- GENTHER, O. N.; HANSEN, S. L. The effect of trace mineral source and concentration on ruminal digestion and mineral solubility. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 1, p. 566-573, 2015.
- GUIMARAES, O.; WAGNER, J.; SPEARS, J.; ENGLE, T. Influence of trace mineral source on digestion, ruminal volatile fatty acid and soluble mineral on steers fed a dairy type diet balanced to meet requirements for a high producing lactating dairy cow. **Journal of Animal Science**, v. 98, p. 133, 2020.
- KINCAID, R. L. Assessment of trace mineral status of ruminants: A review. **In: Proceedings of the American Society of Animal Science**. Vol. 77. p. 1-10. 1999.
- LAMB, G. C.; BROWN, D. R.; LARSON, J. E.; DAHLEN, C. R.; DILORENZO, N.; ARTHINGTON, J. D.; DICOSTANZO, A. Effect of organic or inorganic trace mineral supplementation on follicular response, ovulation, and embryo production in superovulated Angus heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 106, n. 3-4, p. 221-231, 2008.
- MATTON, P.; ADELAKOUN, V.; COUTURE, Y.; DUFOUR, J. Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v. 52, n. 4, p. 813-820, 1981.
- MILLER, W.J.; AMOS, H.E.; GENTRY, R.P.; BLACKMON, D.M.; DURRANCE, R.M.; CROWE, C.T.; FIELDING, A.S.; NEATHERY, M.W. Long-term feeding of high zinc sulfate diets to lactating and gestating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 72, n. 6, p. 1499-1508, 1989.
- PENITENTE-FILHO, J. M.; CARRASCAL, E.; OLIVEIRA, F. A.; ZOLINI, A. M., OLIVEIRA, C. T.; SOARES, Í. A. C.; TORRES, C. A. A. Influence of dominant follicle and corpus luteum on recovery of good quality oocytes for in vitro embryo production in Cattle. **British Biotechnology Journal**, v. 4, n. 12, p. 1305, 2014.
- PFEIFER, L. F. M.; MAPLETOFT, R. J.; KASTELIC, J. P.; SMALL, J. A.; ADAMS, G. P., DIONELLO, N. J.; SINGH, J. Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. **Theriogenology**, v. 72, n. 9, p. 1237-1250, 2009.

PHILLIPPO, M.; HUMPHRIES, W. R.; ATKINSON, T.; HENDERSON, G. D.; GARTHWAITE, P. H. The effect of dietary molybdenum and iron on copper status, puberty, fertility and oestrous cycles in cattle. **The Journal of Agricultural Science**, v. 109, n. 2, p. 321-336, 1987.

PICCO, S. J.; ANCHORDOQUY, J. M.; DE MATOS, D. G.; ANCHORDOQUY, J. P.; SEOANE, A.; MATTIOLI, G. A.; FURNUS, C. C. Effect of increasing zinc sulphate concentration during in vitro maturation of bovine oocytes. **Theriogenology** 74:1141–1148. 2010.

ROJAS, L. X.; MCDOWELL, L. R.; COUSINS, R. J.; MARTIN, F. G.; WILKINSON, N. S. JOHNSON, A. B.; VELASQUEZ, J. B. Relative bioavailability of two organic and two inorganic zinc sources fed to sheep. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 4, p. 1202-1207, 1995.

RYAN, A. W.; KEGLEY, E. B.; HAWLEY, J.; POWELL, J. G.; HORNSBY, J. A.; REYNOLDS, J. L.; LAUDERT, S. B. Supplemental trace minerals (zinc, copper, and manganese) as sulfates, organic amino acid complexes, or hydroxy trace-mineral sources for shipping-stressed calves. **The Professional Animal Scientist**, v. 31, n. 4, p. 333-341, 2015.

SANTOS, J.; RUTIGLIANO, H.; SÁ FILHO, M. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. **Animal reproduction science**, v. 110, n. 3-4, p. 207-221, 2009.

SHABANKAREH, H. K.; HABIBIZAD, J.; TORIKI, M. Corpus luteum function following single and double ovulation during estrous cycle in Sanjabi ewes. **Animal reproduction science**, v. 114, n. 4, p. 362-369, 2009.

SMALL, J. A.; CHARMLEY, E.; RODD, A. V.; FREDEEN, A. H. Serum mineral concentrations in relation to estrus and conception in beef heifers and cows fed conserved forage. *Canadian journal of animal science*, v. 77, n. 1, p. 55-62, 1997.

SPRINGMAN, S. A.; DREWNOSKI, M. E.; FUNSTON, R. N. Effects of hydroxy trace mineral supplementation on gain and reproductive performance in beef heifers. **Livestock Science**, v. 245, p. 104425, 2021.

STOKES, R. S.; VOLK, M. J.; IRELAND, F. A.; GUNN, P. J.; SHIKE, D. W. Effect of repeated trace mineral injections on beef heifer development and reproductive performance. **Journal of animal science**, v. 96, n. 9, p. 3943-3954, 2018.

TERAKADO, A. P. N., PEREIRA, M. C., YOKOO, M. J., & ALBUQUERQUE, L. G. D. Evaluation of productivity of sexually precocious Nelore heifers. **animal**, v. 9, n. 6, p. 938-943, 2015.

UNDERWOOD, E. J. **Trace elements in human and animal nutrition**. 4th ed. Academic Press, Inc., New York, USA. 1977.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed. New York: Cabi, 1999. 624p.



YASUI, T.; RYAN, C. M.; GILBERT, R. O.; PERRYMAN, K. R.; OVERTON, T. R. Effects of hydroxy trace minerals on oxidative metabolism, cytological endometritis, and performance of transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 6, p. 3728-3738, 2014.