

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

**Suplementação injetável de microminerais e vitaminas na reprodução de
fêmeas bovinas *Bos indicus* sincronizadas à IA em tempo fixo**

Luana Gomes da Silva

CAMPO GRANDE, MS
2023

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

**Suplementação injetável de microminerais e vitaminas na
reprodução de fêmeas bovinas *Bos indicus* sincronizadas à IA em
tempo fixo**

*Injectable trace minerals and vitamins on reproduction of *Bos indicus* bovine
females synchronized to fixed-time AI*

Luana Gomes da Silva

Orientador: Prof. Dr. Gumercindo Lorian Franco

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Vedovatto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal

CAMPO GRANDE, MS

2023



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Certificado de aprovação

LUANA GOMES DA SILVA

Suplementação injetável de microminerais e vitaminas na reprodução de fêmeas bovinas *Bos indicus* sincronizadas à IA em tempo fixo
Injectable trace minerals and vitamins on reproduction of *Bos indicus* bovine females synchronized to fixed-time AI

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para obtenção do título de Mestra em Ciência Animal. Área de concentração: Produção Animal.

Aprovado em: 20-12-2023

BANCA EXAMINADORA:

Dr. Gumerindo Loriani Franco
(UFMS) – Presidente

Dra. Fabiana de Andrade Melo Sterza
(UEMS)

Dr. Marcelo Vedovatto
(LSU)

NOTA MÁXIMA NO MEC

UFMS É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por Fabiana de Andrade Melo Sterza, Usuário Externo, em 06/01/2024, às 12:29, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.743, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA MÁXIMA NO MEC

UFMS É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por Marcelo Vedovatto, Usuário Externo, em 22/01/2024, às 10:16, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.743, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA MÁXIMA NO MEC

UFMS É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por Gumerindo Loriani Franco, Professor do Magisterio Superior, em 22/01/2024, às 14:33, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.743, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_externo=0, informando o código verificador 4568509 e o código CRC D2E08D30.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

Dedicatória

Aos meus pais Antonia Gomes Ribeiro e Manoel de Campos da Silva Filho pelo amor e dedicação com a nossa família. Ao meu irmão Lucas Gomes da Silva e que um dia eu tenha metade da sua dedicação ao conhecimento. Ao meu marido Marcio Santos da Silva, por estar ao meu lado para me incentivar e me motivar para ser o melhor de mim. À minha filha Liz Gomes da Silva, que é a luz da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus acima de tudo;

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

Aos professores Dr. Gumercindo Loriano Franco e Dr. Marcelo Vedovatto pela orientação inestimável, pelo exemplo de conduta profissional e por me proporcionarem a oportunidade de executar a pesquisa a campo com resultados promissores para o setor pecuário;

Ao Dr. Luiz Carlos Louzada Ferreira e à toda equipe da Cia Pecuária por me dar a oportunidade levar a pesquisa ao nosso serviço de campo e dividir comigo uma bagagem de muitos anos de experiência com reprodução animal. Profissionais que me incentivam, inspiram e me fazem ser cada dia mais apaixonada pela pecuária;

À Biogénesis Bagó pelo apoio financeiro e doação dos produtos para a execução do experimento;

À Fazenda Seriema por ceder os animais, estrutura e funcionários para execução do experimento;

Ao secretário da Pós-graduação Ricardo Oliveira Santos pela prontidão e dedicação em ajudar;

A todos os professores, técnicos e colegas dos laboratórios de pesquisas que realizaram as análises e proporcionaram os resultados deste trabalho. Em especial ao Aldair Felix da Silva pela grande ajuda no serviço de campo na Fazenda Seriema, Douglas Gomes Vieira e Eduardo de Assis Lima pelo serviço no experimento desenvolvido na Fazenda Escola.

À minha família pelo incentivo e inspiração. À minha mãe Antonia Gomes Ribeiro por me ensinar a sempre fazer o melhor e desde os anos iniciais despertou o interesse pelos estudos de forma espontânea. Ao meu pai Manoel de Campos da Silva Filho por me incentivar, ser meu

apoio e exemplo. Ao meu irmão Lucas Gomes da Silva por ter me inspirado a seguir o caminho da pesquisa e à minha cunhada Julia Mascarello pela amizade e incentivo.

Ao meu esposo Marcio Santos da Silva por ser meu parceiro e minha calma nas situações mais difíceis, pela dedicação com a nossa filha enquanto eu assistia as aulas e estudava. Por ser minha melhor escolha na vida;

À minha filha Liz Gomes da Silva que nasceu durante a execução dos experimentos, foi minha companhia durante os manejos no curral e sala de aula desde a gestação. Foi seu nascimento que me despertou ainda mais a vontade pela pesquisa e por fazer do mundo um lugar melhor para e viver. Eu te amo incondicionalmente minha filha e hoje você é minha maior inspiração;

A todos que contribuíram de alguma forma, muito obrigado.

RESUMO

SILVA, L. G. Suplementação injetável de microminerais e vitaminas na reprodução de fêmeas bovinas *Bos indicus* sincronizadas à IA em tempo fixo. Dissertação - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2023.

Objetivos: Os objetivos foram: **Cap.1)** realizar uma revisão de literatura sobre a utilização de microminerais injetáveis (MMI) e vitaminas (A e E) em bovinos de corte; **Cap.2)** avaliar os efeitos dos microminerais injetáveis (Cu, Zn) na reprodução e respostas inflamatórias de fêmeas bovinas *Bos indicus* sincronizadas à IA em tempo fixo; **Cap.3)** avaliar os efeitos de microminerais injetáveis (Cu, Zn, Mn e Se) e vitaminas (A e E) na reprodução e respostas inflamatórias de fêmeas bovinas *Bos indicus* sincronizadas à IA em tempo fixo.

Material e métodos: **Cap.2)** Os animais dos experimentos 1 e 2 foram divididos em 2 tratamentos com injeção subcutânea de 5 mL/fêmea: solução salina ou solução Cu Zn. No experimento 1, foram utilizadas 29 novilhas Nelore [peso corporal (PC) = $368 \pm 54,1$ kg; ECC = $4,8 \pm 0,71$] sincronizadas por protocolo de 9 dias (d-9 ao d0). No experimento 2, foram utilizadas 1469 fêmeas Nelore, sendo 871 multíparas, 337 primíparas e 261 novilhas sincronizadas por protocolo de 11 dias (d-11 ao d0). **Cap.3)** Os animais dos experimentos 1 e 2 foram divididos em 2 tratamentos com injeção subcutânea de 5 mL/fêmea: solução salina ou solução TMVI (minerais injetáveis Cu, Zn, Mn e Se e vitaminas A e E). No experimento 1, foram incluídas no estudo 68 vacas multíparas Nelore [peso corporal (PC) = $448 \pm 38,1$ kg; ECC = $4,52 \pm 0,84$] sincronizadas por protocolo de 9 dias (d-9 ao d0). No experimento 2, foram utilizadas 1470 fêmeas Nelore, sendo 866 multíparas [PC = $441 \pm 44,8$ kg; ECC = $4,81 \pm 0,66$] foram manejados em 13 grupos [67 ± 34 vacas/grupo], 341 primíparas [PC = $407,6 \pm 36,8$ kg; ECC = $5,04 \pm 0,54$] foram manejados em 7 grupos [33 ± 23 vacas/grupo] e 263 novilhas [PC = $334,5 \pm 30,1$ kg; ECC = $6,08 \pm 0,76$] foram manejados em 3 grupos [87 ± 17 novilhas/grupo] sincronizadas por protocolo de 11 dias (d-11 ao d0).

Resultados: **Cap.1)** A aplicação de MMI e vitaminas injetáveis é uma alternativa para melhorar a resposta imunológica, ganho de peso, desempenho reprodutivo e reduzir perdas gestacionais em bovinos de corte; **Cap.2)** Com a aplicação de Cu Zn no experimento 2 as novilhas Cu Zn vs. Salina tiveram maior PC no d120 ($P = 0,05$), maior escore de estro ($P = 0,01$), taxa de expressão de cio no d0 ($P = 0,04$) e tenderam ($P = 0,10$) a ter maior taxa de prenhez nas de baixo ECC no d30 (1ª IATF). Nenhum efeito ($P \geq 0,45$) foi detectado para ECC e PC nas vacas

primíparas, mas as primíparas suplementadas Cu Zn vs. Salina tiveram maior escore de estro ($P = 0,03$) e maior taxa de expressão de cio no d 0 para as de alto ECC ($P = 0,03$), apresentando também tendência a maior escore de estros geral no d0 ($P = 0,05$), no d50 ($P = 0,08$) e tendência a maior taxa de prenhez nas de baixo ECC no d30 ($P = 0,09$). Nenhum efeito foi detectado para ECC e PC ($P \geq 0,14$) e desempenho reprodutivo ($P \geq 0,11$) em múltíparas. As vacas Cu Zn vs. Salina apresentaram maior concentração de Cu plasmático ($P = 0,008$) mas não de Zn ($P = 0,56$); **Cap.3**) A aplicação TMVI aumentou a taxa de prenhez em novilhas com escore de condição corporal (ECC) < 5 em d 30 ($P = 0,05$), e tenderam a aumentar a taxa de prenhez em d 120 ($P = 0,10$) independente do ECC. Em primíparas, o TMVI tendeu a aumentar a taxa de prenhez no d 30 em vacas com ECC < 5 ($P = 0,09$). Nas múltíparas, o TMVI tendeu a aumentar ($P = 0,10$) a concentração de Cu no d 0.

Conclusões: A aplicação de MMI em bovinos no início do protocolo de IATF melhora o ganho de peso de novilhas e o desempenho reprodutivo de novilhas e primíparas, mas não afetou a reprodução em múltíparas e não desencadeou resposta inflamatória. A aplicação de TMVI no início de um protocolo de IA em tempo fixo reduziu as respostas inflamatórias e melhorou as variáveis de reprodução, principalmente em fêmeas com baixo ECC.

Palavras-Chave: Bovinos. Taxa de prenhez. Perda gestacional. Mineral injetável. Vitaminas

ABSTRACT

SILVA, L. G. Injectable trace minerals and vitamins on reproduction of *Bos indicus* bovine females synchronized to fixed-time AI. Dissertation - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2023.

Objectives: The objectives were: Chapter 1) to carry out a literature review on the use of injectable trace minerals (MMI) and vitamins (A and D) in beef cattle Chapter 2) effects of injectable trace minerals (Cu, Zn) in reproduction and responses of *Bos indicus* female bovines synchronized to fixed-time AI. Chapter 3) Effects of injectable microminerals (Cu, Zn, Se and Mn) and vitamins (A and E) on reproduction and inflammation responses of *Bos indicus* females synchronized to fixed-time AI.

Material and methods: Chap.2) The animals of all experiments were divided into 2 treatments with subcutaneous injection of 5 ml/female: saline solution or CuZn solution. In experiment 1, 29 Nelore heifers [body weight (BW) = 368 ± 54.1 kg; BSC = 4.8 ± 0.71] synchronized by 9-day protocol (d-9 to d0). In experiment 2, 1469 Nelore females were used, 871 multiparous, 337 primiparous and 261 heifers synchronized per 11-day protocol (d-11 to d0). **Chap.3)** The animals of all experiments were divided into 2 treatments with subcutaneous injection of 5 mL/female: saline solution or TMVI solution (injectable minerals Cu, Zn, Se and Mn and vitamins A and E). In experiment 1, 68 multiparous Nelore cows [body weight (BW) = 448 ± 38.1 kg; BSC = 4.52 ± 0.84] synchronized by 9-day protocol (d-9 to d0). In experiment 2, 1470 Nelore females were used, 866 multiparous [BW = 441 ± 44.8 kg; BSC = 4.81 ± 0.66] were managed in 13 groups [67 ± 34 cows/group], 341 primiparous [PN = 407.6 ± 36.8 kg; BSC = 5.04 ± 0.54] were managed in 7 groups [33 ± 23 cows/group] and 263 heifers [weight = 334.5 ± 30.1 kg; BSC = 6.08 ± 0.76] were managed in 3 groups [87 ± 17 heifers/group] synchronized by protocol of 11 days (d-11 to d0).

Results: Chap.1 The application of MMI and injectable vitamins is an alternative to improve the immune system, weight gain, reproductive performance and reduce gestational losses in beef cattle; **Chap.2)** With the application of CuZn in experiment 2, heifers CuZn vs. Salina had higher ($P = 0.05$) BW on d120, higher estrus score ($P = 0.01$), mating rate ($P = 0.04$) on d30 and tended ($P = 0.10$) to have higher pregnancy rate in low BSC on d30 (1st FTAI). No effect ($P \geq 0.45$) was detected on body performance in primiparous beef, but primiparous CuZn vs. Salina had higher estrus score ($P = 0.03$) and higher mating rate on d30 for high BSC females ($P = 0.03$), also showing a trend towards higher overall estrus score on d30 ($P = 0.05$), on d70 ($P = 0.08$) and higher pregnancy rate in low BSC on d30 ($P = 0.09$). No effects were detected for body ($P \geq 0.14$) and reproductive ($P \geq 0.11$) performance in multiparous women.

CuZn cows vs. Saline showed higher concentration of plasma Cu ($P = 0.008$) but not Zn ($P = 0.56$).; **Chap.3**) The application of TMVI increased the pregnancy rate in heifers with a body condition score (BCS) < 5 at d 30 ($P = 0.05$) and tended to increase the pregnancy rate at d 120 ($P = 0.10$) independent of BSC. In primiparous cows, TMVI tended to increase pregnancy rate at d 30 in cows with BSC < 5 ($P = 0.09$). In multiparous women, TMVI tended to increase ($P = 0.10$) Cu concentration at d 0.

Conclusions: The application of MMI in cattle at the beginning of the TAI protocol improves weight gain in heifers, reproductive performance of heifers and primiparous, but not affect reproduction in multiparous and did not trigger an inflammatory response. The application of TMVI at the beginning of a time-fixed AI protocol reduced inflammatory responses and improved reproduction parameters, mainly in females with low BSC.

Keywords: Cattle. Pregnancy rate. Gestational loss. Injectable mineral. Vitamins

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPITULO 2 - EFEITOS DA APLICAÇÃO DE COBRE E ZINCO INJETÁVEL SOBRE A REPRODUÇÃO E RESPOSTAS INFLAMATÓRIAS DE FÊMEAS BOVINAS *BOS INDICUS* SINCRONIZADAS À IA EM TEMPO FIXO

Figura 1. Esquema do protocolo de IATF realizado nos experimentos 1 e 259

CAPITULO 3 - EFEITOS DE UMA INJEÇÃO DE MINERAIS INJETÁVEIS (CU, ZN, SE E MN) E VITAMINAS (A e E) SOBRE A REPRODUÇÃO E A RESPOSTA INFLAMATÓRIA DE FÊMEAS BOVINAS *BOS INDICUS* SINCRONIZADAS À IA EM TEMPO FIXO

Figura 1. Esquema das principais atividades realizadas nos experimentos 1 e 2.86

Figura 2. Concentração plasmática de haptoglobina de vacas multíparas no Exp. 1.....87

Figura 3. Concentração sérica de vacas multíparas no Exp. 2.....88

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2 - EFEITOS DA APLICAÇÃO DE COBRE E ZINCO INJETÁVEL SOBRE A REPRODUÇÃO E RESPOSTAS INFLAMATÓRIAS DE FÊMEAS BOVINAS *BOS INDICUS* SINCRONIZADAS À IA EM TEMPO FIXO

Tabela 1. Composição química das forragens e suplemento mineral livre de escolha (Exp. 1 e 2).....	50
Tabela 2. Variáveis corporais e reprodutivas de novilhas recebendo solução salina (Salina) ou solução de cobre e zinco (CuZn) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d - 9; Experimento 1).....	51
Tabela 3. Variáveis corporais e reprodutivas de novilhas recebendo solução salina (Salina) ou solução de cobre e zinco (CuZn) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d - 11; Experimento 2)..	52
Tabela 4. Variáveis corporais e reprodutivas de vacas primíparas recebendo solução salina (Salina) ou solução de cobre e zinco (CuZn) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -11; Experimento 2).	54
Tabela 5. Variáveis corporais e reprodutivas de vacas múltíparas recebendo solução salina (Salina) ou solução de cobre e zinco (CuZn) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -11; Experimento 2).	56
Tabela 6. Variáveis sanguíneas de novilhas recebendo solução salina (Salina) ou solução de cobre e zinco (CuZn) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -9 e -11; Experimentos 1 e 2, respectivamente).	58

CAPITULO 3 - EFEITOS DE UMA INJEÇÃO DE MINERAIS INJETÁVEIS (CU, ZN, SE E MN) E VITAMINAS (A E E) SOBRE A REPRODUÇÃO E A RESPOSTA INFLAMATÓRIA DE FÊMEAS BOVINAS *BOS INDICUS* SINCRONIZADAS À IA EM TEMPO FIXO

Tabela 1. Composição química das forrageiras e garantia de níveis de suplementação de minerais e vitaminas de livre escolha (Exp. 1 e 2).....	76
Tabela 2. Variáveis corporais e reprodutivas de vacas múltíparas que receberam injeção de solução salina (solução salina) ou injeção de minerais e vitaminas (TMVI) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d-11; Experimento 1).....	78

Tabela 3. Variáveis séricas de vacas multíparas que receberam injeção de solução salina (solução salina) ou injeção de minerais e vitaminas (TMVI) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -11; Experimentos 1 e 2).....	79
Tabela 4. Variáveis corporais e reprodutivas de novilhas que receberam injeção de solução salina (solução salina) ou injeção de minerais e vitaminas (TMVI) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -11; Experimento 2).....	80
Tabela 5. Variáveis corporais e reprodutivas de vacas primíparas que receberam injeção de solução salina (solução salina) ou injeção de minerais e vitaminas (TMVI) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -11; Experimento 2).....	82
Tabela 6. Variáveis corporais e reprodutivas de vacas multíparas que receberam injeção de solução salina (solução salina) ou injeção de minerais e vitaminas (TMVI) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -11; Experimento 2).....	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC	Association of Official Analytical Chemists	MS	Matéria Seca
BVD	Diarreia Viral Bovina	Na	Sódio
Cu	Cobre	NRC	National Research Council
Cu Zn	Mineral Injetável Cu e Zn	P	Fósforo
ECC	Escore de Condição Corporal	PB	Proteína Bruta
EE	Extrato Etéreo	PC	Peso Corporal
EPM	Erro Padrão da Média	ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
FDA	Fibra em Detergente Ácido	S	Enxofre
FDN	Fibra em Detergente Neutro	Salina	Solução Salina
Fe	Ferro	SAS	Sistema de Análise Estatística
GMD	Ganho Médio Diário	Se	Selênio
IA	Inseminação Artificial	TMVI	Injeção de minerais injetáveis (Cu, Zn, Se e Mn) e vitaminas (A e E)
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo	Zn	Zinco
IBR	Rinotraqueíte Infecciosa Bovina		
LSMEANS	<i>Least-Squares Means</i>		
Mg	Manganês		
MMI	Microminerais injetáveis		
MM	Microminerais		

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	16
CAPÍTULO 1 - Microminerais e vitaminas injetáveis para bovinos de corte: revisão.....	18
Resumo	20
Abstract.....	21
Introdução	22
Uso de microminerais injetáveis - Benefícios, modo de aplicação, dose e tempo de armazenamento no fígado	23
Efeito dos mmi no ganho de peso e ecc	24
Função dos microminerais e vitaminas na reprodução de bovinos de corte	24
Efeito dos mmi na reprodução	26
Efeito antioxidante	26
Efeitos na resposta inflamatória da aplicação injetável	27
Conclusão.....	27
Referências.....	28
CAPÍTULO 2 - Efeitos da aplicação de cobre e zinco injetável sobre a reprodução de fêmeas bovinas <i>Bos indicus</i> sincronizadas à IA em tempo fixo	33
1 Introdução	36
2. Material e Métodos	37
3. Resultados	41
4. Discussão	42
5. Conclusão.....	45
CAPÍTULO 3 - Efeitos de uma injeção de minerais injetáveis (Cu, Zn, Se e Mn) e vitaminas (A e E) sobre a reprodução e a resposta inflamatória de fêmeas bovinas <i>Bos indicus</i> sincronizadas à IA em tempo fixo	61
1. Introdução	63
2. Material e Métodos	64
3. Resultados	68
4. Discussão	69
5. Conclusão.....	72
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	89

INTRODUÇÃO

Em trabalhos conduzidos em várias fazendas do estado de Mato Grosso do Sul (MS), foi observado que os microminerais identificados como deficientes nas forrageiras foram o Cu e Zn (Vedovatto, 2019a; Vedovatto et al., 2019b). Recentes trabalhos (inclusive no Brasil) mostraram que a aplicação injetável de Cu, Zn, Se e Mn pode melhorar a reprodução de vacas de corte, aumentando principalmente a taxa de prenhez (Mundell et al., 2012; Stokes et al. 2017; Vedovatto, 2019a; Vedovatto et al., 2019b). No entanto, apesar dessa tecnologia já ser comumente utilizada em vários países, como África do Sul e EUA (Arthington et al., 2014) ainda é pouco utilizada em vacas de corte no Brasil. Desta forma, a aplicação injetável de microminerais pode ser uma estratégia para estes sistemas de produção.

Em dois estudos (Vedovatto, 2019a; Vedovatto et al., 2019b), a aplicação de MMI em vacas Nelore sincronizadas para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e avaliadas em diferentes escores de condição corporal (ECC), proporcionou aumento na taxa de prenhez somente em vacas com ECC menor que 5 (ECC <5; escala 1-9). Apesar dos dois estudos terem mostrado esse mesmo efeito, falta uma melhor compreensão para estes resultados em soluções contendo somente Cu e Zn ou contendo Cu, Zn, Se e Mn complementadas com vitaminas A e E.

Assim os nossos objetivos foram: **Cap.1)** realizar uma revisão de literatura sobre a utilização de microminerais injetáveis (MMI) e vitaminas (A e E) em bovinos de corte **Cap.2)** avaliar os efeitos de microminerais injetáveis (Cu e Zn) na reprodução e respostas inflamatórias de fêmeas bovinas *Bos indicus* sincronizadas à IA em tempo fixo. **Cap.3)** Avaliar os efeitos de microminerais injetáveis (Cu, Zn, Mn e Se) e vitaminas (A e E) na reprodução e respostas inflamatórias de fêmeas bovinas *Bos indicus* sincronizadas à IA em tempo fixo.

Literatura citada

ARTHINGTON, J.D.; MORIEL, P.; MARTINS, P.G.M.A.; LAMB, G.C.; HAVENGA, L.J.

Effects of trace mineral injections on measures of performance and trace mineral status of pre- and postweaned beef calves. **Journal of Animal Science**, v.92, p.2630–2640, 2014.

MUNDELL, L.R.; JAEGER, J.R.; WAGGONER, J.W.; STEVENSON, J.S.; GRIEGER, D.M.; PACHECO, L.A.; BOLTE, J.W.; AUBEL, N.A.; ECKERLE, G.J.; MACEK, M.J.;

ENSLEY, S.M.; HAVENGA, L.J.; OLSON, K.C. Effects of prepartum and postpartum bolus injections of trace minerals on performance of beef cows and calves grazing native range. **The Professional Animal Scientist**, v.28, p.82–88, 2012.

STOKES, R.S., RALPH, A.R., MICKNA, A.J., CHAPPLE, W.P., SCHROEDER, A.R., IRELAND, F.A., SHIKE, D.W., 2017. Effect of an injectable trace mineral at the initiation of a 14- day CIDR protocol on heifer performance and reproduction. **Translational Animal Science** 1, 458–466. <https://doi.org/10.2527/tas2017.0050>

VEDOVATTO, M., MORIEL, P., COOKE, R. F., COSTA, D. S., FARIA, F. J. C., CORTADA NETO, I. M., BENTO, A. L. L., ROCHA, R. F. A. T., FERREIRA, L. C. L., ALMEIDA, R. G., SANTOS, S. A., & FRANCO, G. L., 2019a. Effects of a single trace mineral injection at beginning of fixed-time AI treatment regimen on reproductive function and antioxidant response of grazing Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, 211. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106234>

VEDOVATTO, M., MORIEL, P., COOKE, R. F., COSTA, D. S., FARIA, F. J. C., CORTADA NETO, I. M., PEREIRA, C. DA S., BENTO, A. L. D. L., DE ALMEIDA, R. G., SANTOS, S. A., & FRANCO, G. L., 2019b. Effects of a single trace mineral injection on body parameters, ovarian structures, pregnancy rate and components of the innate immune system of grazing Nelore cows synchronized to a fixed-time AI protocol. **Livestock Science**, 225, 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.05.011>

**CAPÍTULO 1 - MICROMINERAIS E VITAMINAS INJETÁVEIS PARA BOVINOS
DE CORTE: REVISÃO**

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

**MICROMINERAIS E VITAMINAS INJETÁVEIS PARA BOVINOS DE CORTE:
REVISÃO**

SILVA, Luana Gomes ¹; VEDOVATTO, Marcelo²; FRANCO, Gumercindo Lorian^{1*}

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

²Dean Lee Research and Extension Center, Louisiana State University, Alexandria, LA, 71302, USA.

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

MICROMINERAIS E VITAMINAS INJETÁVEIS PARA BOVINOS DE CORTE: REVISÃO

RESUMO

No Brasil, a maior parte dos solos usados para pastagem apresentam algum tipo de deficiência de mineral, refletindo na qualidade das forrageiras e na maioria dos casos a maneira de suprir a limitação das plantas para atender as exigências dos animais é por meio da oferta de suplemento mineral em pó. Apesar de ser uma tecnologia consolidada na maioria das vezes a baixa frequência de visitas no cocho pode prejudicar o status mineral dos animais. Uma forma direta de suplementação é o uso de microminerais injetáveis, que permite a aplicação de uma dosagem conhecida, principalmente em períodos de manejo que podem levar ao estresse do rebanho. Os minerais e vitaminas tem ação antioxidante que influenciam positivamente na saúde melhorando as respostas imunológicas dos animais. O uso de microminerais injetáveis se provou eficiente em aumentar o nível sérico de Mn e Zn a curto prazo e níveis de Cu e Se hepáticos a médio prazo. Logo, a aplicação mais próxima ao dia da inseminação artificial pode ser mais eficiente no aproveitamento dos manejos, porém, devemos analisar a resposta inflamatória da aplicação local neste período. Muitos trabalhos mostraram resposta inflamatória com a aplicação injetável, o que nos faz buscar o momento correto de realizar a aplicação sem prejudicar os índices reprodutivos. Em trabalhos realizados com bezerros desmamados a utilização de microminerais e vitaminas injetáveis se mostrou eficaz no ganho de peso e melhora do escore de condição corporal, o que não foi observado em categorias que já atingiram maturidade, como as múltiparas. Mortes embrionárias e fetais podem ser causadas por aporte deficiente de nutrientes, como por exemplo os microminerais e vitaminas. Assim, o uso de microminerais e vitaminas injetáveis é uma ferramenta eficiente para melhorar índices reprodutivos e reduzir perdas gestacionais, porém devemos analisar a resposta conforme as categorias das matrizes, escore de condição corporal e resposta inflamatória. Desta forma, o objetivo desta revisão de literatura é descrever a função dos microminerais e vitaminas para bovinos de corte, o uso de microminerais injetáveis com seus benefícios, modo de aplicação, dose e tempo de armazenamento no fígado, os efeitos dos MMI no ganho de peso e de ECC, na reprodução, efeito antioxidante e nas respostas inflamatórias, avaliando assim a aplicabilidade no início do protocolo de IATF.

Palavras-chaves: taxa de prenhez, estresse oxidativo, minerais traços, vacas

INJECTABLE TRACE MINERALS FOR BEEF CATTLE: REVIEW

ABSTRACT

In Brazil, most soils are deficient in minerals, which normally the attempt to meet the animals' requirement is by consuming powdered minerals. An effective way is the use of injectable microminerals, which allows the application in the correct dosage, mainly in periods of greater herd stress and using management already established on the property. Minerals and vitamins have antioxidant action that positively influence the health of animals by improving immune responses. The use of injectable microminerals has proven efficient in increasing short-term Mn and Zn blood status and medium-term Cu and Se liver status. Therefore, the application closer to the day of insemination may be more efficient, but we must analyze the inflammatory response from local application in this period. Many works have shown an inflammatory response with the injectable application, which makes us look for the right moment to carry out the application without impairing the reproductive indicators. Work carried out with categories of bovines that are still growing, such as calves, showed that the use of injectable microminerals and vitamins was effective in gaining weight and improving the body condition score, which was not observed in categories that had already reached maturity. Embryonic or fetal deaths can be caused by a deficient supply of nutrients, such as microminerals and vitamins. Thus, the use of injectable microminerals and vitamins is an efficient tool to improve reproductive indicators and reduce gestational losses, but we must analyze the response according to the categories of the cows, body condition score and inflammatory response. Thus, the objective of this literature review is to describe the function of microminerals and vitamins for beef cattle, the use of injectable microminerals with their benefits, mode of application, dose and storage time in the liver, the effects of MMI on weight gain and BCS, reproduction, antioxidant effect and inflammatory responses, thus evaluating the applicability at the beginning of the TAI protocol.

Keywords: pregnancy rate, oxidative stress, trace minerals, cows

INTRODUÇÃO

Para a melhor eficiência reprodutiva das vacas de corte é necessário adequar os manejos reprodutivos, nutricionais e sanitários. Os nutrientes são considerados essenciais quando a sua remoção da dieta tem impacto sobre a condição de sobrevivência e reprodução. Underwood (1981), relacionou 22 minerais essenciais para a vida animal que foram divididos em macro e microminerais, dentre os microminerais destacamos o Zn, Cu e Se. Estudos têm sido direcionados para analisar as ações de microminerais nos tecidos reprodutivos e atuação sistêmica em conjunto com outros nutrientes (AZAMBUJA et al., 2009).

A deficiência de minerais prejudica funções fisiológicas que podem variar conforme a intensidade e tempo de deficiência, categoria, idade e sexo animal. A deficiência mineral normalmente é múltipla e pode estar acompanhada por problemas infecciosos, especialmente nas deficiências dos microelementos zinco, cobre, ferro, selênio e iodo (Suttle & Jones, 1989; Chandra, 1997). Alguns microminerais tem o processo de antagonismo um ao outro, interferindo na absorção, podendo levar à deficiências, como por exemplo o baixo coeficiente de absorção do Cu que é negativamente afetado pela concentração de Mo, S e Fe na dieta e o coeficiente de absorção do Zn é afetado pela quantidade de fitato, Fe, Ca e Cu na dieta (NRC, 2005).

Recentemente alguns trabalhos mostraram que a aplicação injetável de Cu, Zn, Se e Mn pode melhorar a reprodução de vacas de corte, aumentando principalmente a taxa de prenhez (Mundell et al., 2012; Stokes et al. 2017; Vedovatto et al., 2019a; Vedovatto et al., 2019b). No entanto, há poucas informações sobre a aplicação injetável de minerais deficientes nas pastagens e a inclusão de vitaminas injetáveis durante a estação de monta, principalmente nos manejos para a IATF.

O objetivo desta revisão é descrever a função dos microminerais e vitaminas para bovinos de corte, o uso de microminerais injetáveis com seus benefícios, modo de aplicação, dose e tempo de armazenamento no fígado, os efeitos dos MMI no ganho de peso e de ECC, na reprodução, efeito antioxidante e nas respostas inflamatórias, avaliando assim a aplicabilidade no início do protocolo de IATF.

USO DE MICROMINERAIS INJETAVEIS - BENEFÍCIOS, MODO DE APLICACAO, DOSE E TEMPO DE ARMAZENAMENTO NO FIGADO

Foi citado que a deficiência mineral nos bovinos em todo o mundo (McDowell, 1994), provavelmente devido aos solos com diferentes níveis de fertilidade (Tokarnia e Döbereiner, 1978). Tal deficiência mineral na maioria das vezes é corrigida com suplementação mineral em pó no cocho, na qual há uma grande variação individual no consumo entre os animais. A utilização de minerais injetáveis assegura uma dose individual para os animais, principalmente em períodos de manejo onde há uma redução do consumo de MS e elimina o problema de antagonismo com outros minerais (p. ex. Fe, Mo, e S) no trato gastrointestinal, que interfere na absorção e aproveitamento dos minerais consumidos (Arthington et al., 2014).

O pico dos minerais no plasma após a injeção acontece em um curto período (24 horas), diminuindo lentamente ao longo dos dias (14-15 d) sendo armazenados no fígado (Bohman et al., 1984).

Pogge et al. (2012) avaliaram a eficácia da utilização de um MMI sobre a concentração plasmática destes microminerais por meio da aplicação de um produto comercial (Multimin 90®) contendo uma mistura de microminerais (15 mg de Cu/mL, 60 mg de Zn/mL, 10 mg de Mn/mL e 5 mg de Se/mL) em 20 novilhos. Após 8 e 10 horas da aplicação, verificou-se aumentos significativos nas concentrações plasmáticas de Se, Mn e Zn, mas não de Cu. Porém, 24 horas após a injeção apenas o Se apresentou concentração superior ao grupo controle.

Genther e Hansen (2015) trabalhando com bezerros alimentados com uma dieta adequada e uma deficiente em Cu (4,1 mg/kg de MS) e com concentrações adequadas de Mn (25,7 mg/kg de MS) e Zn (33,9 mg/kg de MS), contendo substâncias antagonistas, como Fe (sulfato ferroso 300 mg/kg da dieta) e Mo (molibdato de sódio 5 mg/kg da dieta), na qual foram submetidos a um período de estresse de 20 horas de transporte e seguida receberam injeções de MMI ou solução salina esterilizada. As concentrações plasmáticas Se, Zn e Mn foram aumentados no dia 1. Porém, somente as concentrações plasmáticas de selênio permaneceram superiores 15 dias após a injeção. Vinte e nove dias após as injeções foram observadas concentrações hepáticas de Cu e Se superiores nos animais suplementados comparativamente aos animais do grupo controle.

Assim o uso de MMI se provou eficiente em aumentar o nível sanguíneo de Mn e Zn a curto prazo e níveis hepáticos de Cu e Se a médio prazo. Logo, sugerimos que a aplicação no início do protocolo de IATF, utilizando como estratégia para minimizar os efeitos negativos do

estresse durante o protocolo e o aproveitar o período de ação da aplicação do MMI, porém devemos analisar a reposta inflamatória neste período.

EFEITO DOS MMI NO GANHO DE PESO E ECC

Com a melhora no sistema imunológico com a aplicação de MMI se espera que ocorra aumento no ganho de peso e ECC, principalmente em ambientes com desafio sanitário maior, no qual não se tem um planejamento sanitário adequado, sem utilização de vacinas reprodutivas contra brucelose, leptospirose, IBR (Rinotraqueíte Infecciosa Bovina) e BVD (Diarreia Viral Bovina).

Resultados de estudos com bezerros de corte em crescimento indicaram que os tratamentos MMI podem aumentar o ganho médio diário do bezerro (Arthington et al., 2014; Genter e Hansen, 2014).

Vedovatto et al. (2019a) observaram que uma única injeção de MMI 11 dias antes da IA não afetou o peso corporal das vacas. As vacas tratadas com MMI, no entanto, tenderam a ter um maior ECC e ganharam ECC de d -11 a 30, enquanto as vacas que não receberam o MMI (controle) tiveram uma diminuição no ECC e um ECC menor durante o mesmo período.

Isso sugere que em vacas de corte que já atingiram maturidade o efeito pode ter ocorrido na partição dos nutrientes, aumentando a deposição de músculo e tecido adiposo e consequentemente o ECC mas não resultando melhora no ganho de peso.

Genter e Hansen (2014) relataram que o nível sérico de minerais do animal no dia da aplicação também afeta na resposta do ganho de peso, principalmente para animais que passaram por um período consumindo uma dieta deficiente em minerais. Logo, aqueles animais que não estão em deficiência mineral e consomem uma dieta que atinja as exigências podem não responder no desempenho de ganho de peso com a aplicação de MMI.

Ainda há poucos estudos que estratificaram o ECC e peso corporal dos bovinos e avaliaram os efeitos de MMI em vacas magras ou gordas sobre desempenho reprodutivo e ganho de peso.

FUNÇÃO DOS MICROMINERAIS E VITAMINAS NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS DE CORTE

Os microminerais e vitaminas para bovinos de corte desempenham papel importante para o bom funcionamento do organismo, sendo essenciais para saúde, crescimento e

reprodução. Na deficiência dos minerais normalmente as taxas de concepção são prejudicadas e a ocorre alta incidência de abortos. A morte embrionária ou fetal pode ser causada pela deficiência de nutrientes, tais como cobre, iodo, ferro, magnésio e zinco (Keen et al., 1998).

Espécies reativas de oxigênio (ROS) podem afetar com alguns processos fisiológicos ligados a reprodução, como a maturação do oócito até o momento da fertilização, sobrevivência e desenvolvimento embrionário e manutenção da gestação (Agarwal et al., 2012).

A deficiência de cobre está associada com uma resposta limitada aos antígenos e com susceptibilidade acentuada a infecções bacterianas. Durante os períodos reprodutivos na deficiência de cobre é comum ocorrer morte embrionária, baixa atividade ovariana, há depressão do estro, taxa de concepção reduzida, retenção de placenta, dificuldade ao parto e a problemas ósseos (Graham, 1991).

Durante os períodos reprodutivos a exigência de zinco pelo bovino é mais alta devido às demandas por esse nutriente para o crescimento fetal, o estresse do parto e a produção de leite. A deficiência de zinco afeta concentrações hormonais em fêmeas bovinas gestantes e pode resultar em abortos, teratogênese, gestação prolongada, mumificação fetal, distocia, baixo peso ao nascer, aumento de hemorragia ao parto e redução na sobrevivência da cria. O zinco é importante para o crescimento e desenvolvimento fetal normal, principalmente na construção de estruturas e estratégias necessárias para manutenção da vida e da saúde (Graham, 1991; Hostetler et al., 2003).

O manganês é importante em diversos processos biológicos como a atividade enzimática, sistema imunológico e reprodutivo, principalmente no controle de estrógenos e progesterona no sangue (McDowell, 2003). A deficiência de manganês em animais adultos causa baixos índices reprodutivos, estro irregular, retardamento de cio, abortos, reabsorção de fetos, baixo peso ao nascer, problemas de ovulação com resultados em baixa taxa de concepção (NRC, 2001).

O selênio atua em diversas funções corporais como crescimento, reprodução e imunidade e está associado a vitamina E. Atua com atividade antioxidante e anti-inflamatória, na qual a deficiência de Se pode resultar em degeneração tecidual, alteração da resposta imunológica, que favorece infecções, desordens reprodutivas e redução no crescimento (Hostetler et al., 2003).

EFEITO DOS MMI NA REPRODUÇÃO

Mundell et al. (2012) conduziram um experimento com aplicação de MMI 30 dias antes da IA e encontraram um aumento na taxa de prenhez (60,2% vs. 51,2%). Outros estudos onde também foi aplicada a suplementação injetável houve um aumento (Stokes et al., 2017; Vedovatto et al., 2019b) ou nenhum efeito sobre taxas de prenhez em comparação com a administração de uma injeção de solução salina (Willmore et al., 2015; Maldonado et al., 2017; Stokes et al., 2017, Stokes et al. 2018). Arthington et al. (2014) apresentaram que o aumento do controle do estresse oxidativo com a aplicação de MMI parece ser eficiente até aproximadamente 14 dias após a aplicação. Desta forma, aplicações mais próximas do período de IA podem ser mais eficientes.

A aplicação com 30 dias antes da IA aumenta um manejo durante o protocolo de IATF, aumentando custos de mão de obra e reduzindo a eficiência operacional. De tal forma, seguindo recomendação de Vedovatto et al. (2019a) é que a aplicação no início do protocolo de IATF aumenta o desempenho reprodutivo de vacas de corte em pastejo através da regulação do estresse oxidativo no período pós IA em comparação com a administração de solução salina.

EFEITO ANTIOXIDANTE

Os radicais livres são estabilizados por mecanismos antioxidantes, que mantem a integridade e estrutura das células. Os mecanismos antioxidantes são importantes no sistema imune e saúde dos animais. Esses mecanismos antioxidantes são dependentes de nutrientes essenciais, entre eles o Cu, Zn, Se, Mg e vitaminas A e E, que atuam como cofatores de enzimas antioxidantes, como a glutathione peroxidase, superóxido dismutase de cobre e zinco e superóxido dimutase de manganês (KURZ, 2004).

A aplicação de MMI pode aumentar o controle do estresse oxidativo nas células e isso pode refletir em melhora no sistema imunológico de bovinos (Teixeira et al., 2014).

Minerais e vitaminas são essenciais para atividades antioxidantes. Muitas vezes os manejos durante o protocolo de IATF geram estresse ao animal, principalmente as categorias que nunca passaram pelo manejo, como as novilhas, ou até mesmo com a mudança da equipe de manejo. A resposta do organismo ao estresse é o aumento da produção e liberação de hormônios e neurotransmissores que conseqüentemente pode provocar alterações em todos os órgãos e sistemas, sendo o sistema imunológico (LEWIS; McKAY, 2009) e o reprodutor grandemente atingidos (BISPO; PEREIRA, 1994).

EFEITOS NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA DA APLICAÇÃO INJETÁVEL

As proteínas de fase aguda são proteínas plasmáticas, dentre elas a haptoglobina e ceruloplasmina, cujo estímulo à síntese ocorre de forma rápida e marcante em resposta à injúria tecidual e estas proteínas permitem o diagnóstico de processos inflamatórios em animais. Arthington et al. (2014) observaram aumento da concentração de haptoglobina por 6 a 10 d após a aplicação de MMI, indicando uma possível reação inflamatória. Vedovatto et al. (2019a) não encontrou aumento na concentração de haptoglobina com a aplicação de MMI 11 dias antes da IA e nem de na alteração da concentração de ceruloplasmina.

A ceruloplasmina é uma proteína da fase aguda Cu-dependente e bovinos com maior nível sérico de Cu podem apresentar maiores concentrações de ceruloplasmina em resposta a algum evento estressante, como por exemplo a aplicação do MMI, colheitas de sangues e protocolo de IATF (Arthington et al., 2014).

Vedovatto et al. (2019a,b) mostraram redução do tamanho do corpo lúteo (CL), e Da Silva Zornitta et al. (2021) observaram redução no ganho de peso de bezerros desmamados com restrição alimentar quando aplicado uma solução de microminerais injetáveis. Os autores levantaram a possibilidade desses efeitos negativos estarem associados a resposta inflamatória causada pela injeção. Além disso, Arthington et al. (2014) observaram aumento na concentração de proteínas da fase aguda em animais que receberam uma aplicação de microminerais injetáveis.

No entanto, Caramalac et al. (2021) avaliaram uma injeção de MM (1 mL/92kg de PC) ao desmame em novilhas Angus sobre reações inflamatórias, e não foram detectados efeitos sobre haptoglobina ou ceruloplasmina.

CONCLUSÃO

Os minerais injetáveis são uma alternativa para melhorar o sistema imunológico, ganho de peso, desempenho reprodutivo e reduzir perdas gestacionais em bovinos de corte. Porém, o efeito depende do nível sérico mineral e categoria animal no dia da aplicação. Faltam mais estudos que estratifiquem o ECC e peso corporal de bovinos, avaliando a relação da aplicação de MMI com desempenho corporal e reprodutivo.

REFERÊNCIAS

- ARTHINGTON, J. D., P. MORIEL, P. G. M. A. MARTINS, G. C. LAMB, AND L. J. HAVENGA. 2014. Effects of trace mineral injection on measures of performance and trace mineral status of pre- and postweaned beef calves. **Journal of Animal Science**. 92:2630–2640. doi:10.2527/jas.2013-7164
- Agarwal, A., Aponte-Mellado, A., Premkumar, B.J., Xamã, A., Gupta, S., 2012. Os efeitos do estresse oxidativo na reprodução feminina: uma revisão. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 29, 10–49. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-49>.
- AZAMBUJA, R.C.C.; CUNHA, G.S.C.; VIANNA, L.L. et al. Influência de microminerais na eficiência reprodutiva dos bovinos. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 6p., 2009.
- BOHMAN, V. R.; DRAKE, E. L.; BEHRENS, W. C. Injectable copper and tissue composition of cattle. **Journal of dairy Science**. v. 67, p.1468, 1984.
- BISPO, D. L. N.; PEREIRA, O. C. M. Importância do conhecimento das alterações induzidas pelo estresse, em animais domésticos. **Interciência**. v.19, n.2, p.72-74, 1994.
- CARAMALAC, L.S., MORIEL, P., RANCHES, J., SILVA, G.M., ARTHINGTON, J.D., 2021. Comparison of injectable trace minerals vs. adjuvant on measures of innate and humoral immune responses of beef heifers. *Livest. Sci.* 251, 104665. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104665>.
- CHANDRA, R. K. Nutrition and the immune system: na introduction. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 66, n. 2, p. 460S-463S, 1997.
- DA SILVA ZORNITTA, C., D'OLIVEIRA, M. C., DE LUCCA BENTO, A. L., ROCHA, R. F. A. T., VEDOVATTO, M., & FRANCO, G. L. (2021). Effect of injectable trace mineral at weaning on growth and physiology of Nellore calves under feed restriction. **Tropical animal health and production**, 54(1), 18. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-03001-w>

- GENTHER-SCHROEDER, O.N.; HANSEN, S.L. Effect of a multielement trace mineral injection before transit stress on inflammatory response, growth performance, and carcass characteristics of beef steers. **Journal of Animal Science**, v.93, p.1767–1779, 2015
- GRAHAM, T. W. Trace element deficiencies in cattle. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, v. 7, n. 1, p. 153-215, 1991.
- HOSTETLER, C. E.; KINCAID, R. L.; MIRANDO, M. A. The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. **Veterinary Journal**, v. 166, n. 2, p. 125-139, 2003.
- KEEN, C. L.; URIU-HARE, J. Y.; HAWK, S. N.; JANKOWSKI, M. A.; DASTON, G. P.; KWIK-URIBE, C. L.; RUCKER, R. B. Effect of copper deficiency on prenatal development and pregnancy outcome. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 67, n. 5 (Suppl.), p. 1003S-1011S, 1998.
- KURZ, M. W. Modulação nutricional da imunidade e respostas fisiológicas em bezerros de corte. Tese de mestrado, Texas A&M University. Universidade A&M do Texas, 2004. Disponível eletronicamente em <https://hdl.handle.net/1969.1/1096>
- LEWIS, K.; MCKAY, D. M. Metabolic stress evokes decreases in epithelial in pithelial barrier function. *New York Academy of Sciences, Proceedings*. p. 1165, p. 327-37, 2009.
- MALDONADO, J.G., SANTOS, R.R., DE LARA, R.R., PENA, O.G., 2017. Effect of an injectable trace mineral complex supplementation on development of ovarian structures and serum copper and zinc concentration in over-conditioned Holstein cows. **Anim. Reprod. Sci.** 181, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.03.015>.
- MCDOWELL, L. R. Feeding minerals to cattle on pasture. *Animal Feed Science and Technology*, v. 60,p. 247–271, 1994.
- MCDOWELL, L. R. *Minerals in Animal and Human Nutrition*. Elsevier, 2003

- MUNDELL, L.R., JAEGER, J.R., WAGGONER, J.W., STEVENSON, J.S., GRIEGER, D.M., PACHECO, L.A., BOLTE, J.W., AUBEL, N.A., ECKERLE, G.J., MACEK, M.J., ENSLEY, S.M., HAVENGA, L.J., OLSON, K.C., 2012. Effects of prepartum and postpartum bolus injections of trace minerals on performance of beef cows and calves grazing native range. **Prof. Anim. Sci.** 28, 82–88. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30318-1](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30318-1).
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. NRC. Nutrient requirements of beef cattle. Washington. 2001
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. NRC. Mineral Tolerance of Animals. Washington. 2005
- POGGE, D.J.; RICHTER, E.L.; DREWNOSKI, M.E. HANSEN, S.L. Mineral concentrations of plasma and liver after injection with a trace mineral complex differ among Angus and Simmental cattle. **Journal of Animal Science**, v.90, p.2692-2698, 2012.
- STOKES, R.S., RALPH, A.R., MICKNA, A.J., CHAPPLE, W.P., SCHROEDER, A.R., IRELAND, F.A., SHIKE, D.W., 2017. Effect of an injectable trace mineral at the initiation of a 14- day CIDR protocol on heifer performance and reproduction. **Translational Animal Science**. 1, 458–466. <https://doi.org/10.2527/tas2017.0050>.
- STOKES, R.S., VOLK, M.J., IRELAND, F.A., GUNN, P.J., SHIKE, D.W., 2018. Effect of repeated trace mineral injections on beef heifer development and reproductive performance. **J. Anim. Sci.** 96, 3943–3954. <https://doi.org/10.1093/jas/sky253>
- SUTTLE, N. F.; JONES, D. G. Recent developments in trace element metabolism and function: trace elements, disease resistance and immune responsiveness in ruminants. *Journal of Nutrition*, v. 119, n. 7, p. 1055-1061, 1989.
- TEIXEIRA, A.G.V.; LIMA, F.S.; BICALHO, M.L.S.; KUSSLER, A.; LIMA, S.F.; FELIPPE, M.J.; BICALHO, R.C. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on immunity, health, and growth of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.4216–4226, 2014.

- TOKARNIA, C.H. & DÖBEREINER, J. Diseases caused by mineral deficiencies in cattle raised under range conditions in Brazil. Latin American Symposium on Mineral Nutrition Research with Grazing Ruminants, Belo Horizonte, Brazil. p. 163-169, 1978.
- UNDERWOOD, E.J. The Mineral Nutrition of Livestock, 2nd Ed. Slough, U.K.: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1981.
- VEDOVATTO, M., MORIEL, P., COOKE, R. F., COSTA, D. S., FARIA, F. J. C., CORTADA NETO, I. M., BENTO, A. L. L., ROCHA, R. F. A. T., FERREIRA, L. C. L., ALMEIDA, R. G., SANTOS, S. A., & FRANCO, G. L., 2019a. Effects of a single trace mineral injection at beginning of fixed-time AI treatment regimen on reproductive function and antioxidant response of grazing Nellore cows. *Animal Reproduction Science*, 211. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106234>
- VEDOVATTO, M., MORIEL, P., COOKE, R. F., COSTA, D. S., FARIA, F. J. C., CORTADA NETO, I. M., PEREIRA, C. DA S., BENTO, A. L. D. L., DE ALMEIDA, R. G., SANTOS, S. A., & FRANCO, G. L., 2019b. Effects of a single trace mineral injection on body parameters, ovarian structures, pregnancy rate and components of the innate immune system of grazing Nellore cows synchronized to a fixed-time AI protocol. *Livestock Science*, 225, 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.05.011>
- WILLMORE, C. J., HALL, J. B., HARRISON, S. et al. Effect of a trace mineral injection on pregnancy rate of Angus beef heifers when synchronized using the 14-day controlled internal drug-releasing insert– prostaglandin F_{2α} protocol at a commercial feedlot. **The Professional Animal Scientist**, v. 31, p. 588–592, 2015.

CAPÍTULO 2 - Efeitos da aplicação de cobre e zinco injetável sobre a reprodução de fêmeas bovinas *Bos indicus* sincronizadas à IA em tempo fix

1

O artigo a seguir está redigido de acordo com as exigências para publicação da revista *Animal Reproduction Science*

CAPÍTULO 2 - Efeitos da aplicação de cobre e zinco injetável sobre a reprodução de fêmeas bovinas *Bos indicus* sincronizadas à IA em tempo fixo

Luana Gomes da Silva^{1,2}, Gumercindo Lorian Franco¹, Eduardo de Assis Lima¹, Juliana Ranches³, Fábio José Carvalho Faria¹, Luiz Carlos Louzada Ferreira², Reuel Luiz Gonçalves⁴, Aldair Félix da Silva⁵, Douglas Gomes Vieira¹, Marcelo Vedovatto^{6*}

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande 79074-460, Brasil.

²Cia Pecuária Assessoria, Campo Grande, MS, 79003-140, Brasil.

³Eastern Oregon Agricultural Research Center, Oregon State University, Burns, OR 97720, USA

⁴Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, 80810-000, Brasil.

⁵Unidade Universitária de Aquidauana, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana, MS 79200-000, Brasil.

⁶ Dean Lee Research and Extension Center, Louisiana State University, Alexandria, LA, 71302, USA.

*Autor correspondente: mvedovatto@agcenter.lsu.edu

Resumo

O objetivo foi avaliar os efeitos da aplicação de um produto à base de microminerais injetáveis Cu e Zn (Cu Zn) no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) sobre a reprodução de fêmeas Nelore. No experimento 1, foram utilizadas 29 novilhas Nelore [peso corporal (PC) = $368 \pm 54,1$ kg; escore de condição corporal (ECC 1-9) = $4,8 \pm 0,71$] submetidas a um protocolo de IATF de 9 dias (d -9 ao d 0). No d -9 as novilhas foram classificadas por PC, ECC e aleatoriamente distribuídas para um dos tratamentos: 1) injeção subcutânea de solução salina (5 mL Salina; 0,9% NaCl) ou 2) injeção de 5 mL dos microminerais Cu e Zn (15 mg/mL Cu e 50 mg/mL Zn Cu Zn). Foi avaliado o PC e ECC (d-9 e d 30), a concentração plasmática de Cu e Zn, haptoglobina, ceruloplasmina e cortisol (d-9, d 0 e d 30), diâmetro do folículo dominante, escore de estro e taxa de expressão de cio (d 0), corpo lúteo (CL) (d 7 e d 14), concentração plasmática de progesterona (d 14), taxa de prenhez (d 30), tamanho do concepto (d 60). As novilhas que receberam Cu Zn tiveram maior PC no d 30 ($P < 0,01$) e tenderam ($P = 0,10$) ter maior diâmetro de CL no d 14 e não foram detectados efeitos ($P \geq 0,21$) para as outras variáveis. No experimento 2, foram utilizadas 1469 fêmeas Nelore, sendo 871 múltiparas [PC = $442,4 \pm 43,9$ kg; ECC = $4,77 \pm 0,65$], 337 primíparas [PC = $407,6 \pm 36,8$ kg; ECC = $5,04 \pm 0,54$] e 261 novilhas [PC = $334,5 \pm 30,1$ kg; ECC = $6,08 \pm 0,76$]. Essas foram submetidas a um protocolo de IATF de 11 dias (d-11 ao d 0) e as que não ficaram prenhes no d 30, foram resincronizadas e as não prenhes no d 70 foram agrupadas com touros até o último diagnóstico de gestação (d 120). As soluções (tratamentos) foram aplicadas somente no início do primeiro protocolo de IATF (d-11) nas mesmas doses descritas no experimento 1. Foi avaliado o PC e ECC (d -11, 30, 70 e 120), concentração plasmática de Cu e Zn (d-9, d 0 e d 30), escore de estro (d 0 e d 50), taxa de expressão de cio (d0 e d41), taxa de prenhez (d 30, d 70 e d 120) e perda gestacional (d 30, d 70 e d 120). No experimento 2, as novilhas Cu Zn tiveram maior PC no d 120 ($P = 0,05$), maior escore de estro ($P = 0,01$), taxa de expressão de cio ($P = 0,04$) no d 30 e aquelas classificadas com ECC < 5 no d 30 tenderam a ter maior taxa de prenhez ($P = 0,10$). Nenhum efeito ($P \geq 0,45$) foi detectado para PC e ECC em primíparas, mas as primíparas que receberam Cu Zn tiveram maior escore de estro ($P = 0,03$), maior taxa de expressão de cio ($P = 0,03$) e escore de estros geral no d 0 ($P = 0,05$) no d 0 para as classificadas com alto ECC. Também apresentaram tendência a maior escore de estro no d 50 ($P = 0,08$) e maior taxa de prenhez nas de baixo ECC no d 30 (1ª IATF) ($P = 0,09$). Nenhum efeito foi detectado para variáveis corporais ($P \geq 0,14$) e desempenho reprodutivo ($P \geq 0,11$) em múltiparas. As vacas com CuZn apresentaram maior concentração de Cu plasmático

($P = 0,008$) mas não de Zn ($P = 0,56$). Assim, o uso de Cu Zn no início do protocolo de IATF melhorou o ganho de peso de novilhas, o desempenho reprodutivo de novilhas e primíparas, mas não teve efeito em múltiparas. Não foi observado aumento da resposta inflamatória com o uso de Cu Zn no início do protocolo de IATF.

Palavras-chaves: taxa de prenhez, IATF, perda gestacional, micromineral injetável

1. Introdução

Já foi relatado que a deficiência de Cu e Zn podem influenciar no crescimento e desenvolvimento do embrião e do feto aumentando risco de morte embrionária em animais domésticos (Hostetler et al., 2003). Recentemente foi demonstrada deficiência desses microminerais Cu e Zn em algumas forrageiras em Mato Grosso do Sul (Vedovatto et al., 2019a; Vedovatto et al., 2019b), demonstrando, portanto, a necessidade de atenção à suplementação para otimização do desempenho reprodutivo de vacas de corte.

Na deficiência destes minerais pode ocorrer morte embrionária, atividade ovariana subótima, redução do estro, taxa de concepção reduzida, retenção de placenta, dificuldade ao parto e problemas ósseos (Graham, 1991).

Zn e Cu atuam como componente catalítico ou como estabilizador de metaloenzimas (e.g., superóxido dismutase). Com o aumento dessas enzimas no plasma ocorre um menor estresse oxidativo nos órgãos reprodutivos e conseqüentemente ocorre uma melhora no desempenho reprodutivo das fêmeas.

A deficiência de microelementos, particularmente Zn, também tem sido associada a defeitos epigenéticos em oócitos e desenvolvimento ovariano prejudicado durante o período fetal (Hurley e Keen, 1988). Portanto, o aumento do status de microelementos para vacas em gestação pode favorecer o desenvolvimento ovariano da prole da novilha, protegendo as células e folículos ovarianos do excesso de ROS (espécies reativas de oxigênio) endógenos (Harvey et al., 2021).

A aplicação injetável de Cu e Zn em vacas em pastejo pode ser uma boa estratégia para assegurar o status de microminerais em sistemas de produção. Porém, apesar desta tecnologia já ser comumente utilizada em diversos países, como África do Sul e Estados Unidos (Arthington, 2004) ainda é pouco utilizada em bovinos de corte no Brasil, provavelmente por causa dos custos adicionais ao sistema de produção

Em dois estudos (Vedovatto, 2019ab), a aplicação de produto a base de microminerais injetáveis (MMI; Cu, Zn, Se e Mn) em vacas Nelore sincronizadas para IATF, proporcionou aumento na taxa de prenhez em vacas com baixo escore de condição corporal (ECC <5; 1-9). Embora ambos os estudos tenham mostrado esse mesmo efeito, falta uma melhor compreensão para estes resultados. Além disso, como Cu e Zn são microminerais deficientes em algumas forrageiras (Vedovatto et al., 2019ab), a aplicação injetável de somente estes dois, ao invés de uma mistura contendo vários, pode ser mais economicamente viável e diminuir as respostas inflamatórias.

Vedovatto et al. (2019ab) observaram redução do tamanho do CL, e Zornitta et al. (2021) observaram redução no ganho de peso de bezerros que receberam a aplicação de MMI. Os autores levantaram a possibilidade desses efeitos negativos estarem associados a resposta inflamatória causada pela injeção. Além disso, Arthington et al. (2014) observaram aumento na concentração de ceruloplasmina e haptoglobina, proteínas da fase aguda, em animais que receberam uma aplicação de microminerais injetáveis. Nos experimentos citados acima, a solução aplicada continha Zn, Mn, Cu e Se (60 mg/mL de Zn, 10 mg/mL de Mn, 5 mg/mL de Se e 15 mg/mL de Cu) e nossa hipótese é que se aplicando uma solução contendo somente Cu e Zn, a resposta inflamatória será menor.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da aplicação de um produto injetável à base de Cu e Zn em novilhas, vacas primíparas e múltíparas com diferentes ECC sobre as variáveis corporais, variáveis ovarianas, variáveis de estro, taxa de expressão de cio, taxa de prenhez tamanho de concepto,, perda gestacional, nível sérico de microminerais e concentrações de haptoglobina e ceruloplasmina de vacas Nelore sincronizadas para IATF.

2. Material e Métodos

Os protocolos experimentais foram revisados e aprovados pelo comitê de ética no uso de animais da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) sob o protocolo nº 754/2016.

2.1 Animais, tratamento e coleta de amostras

2.1.1. Experimento 1

O estudo foi realizado na Fazenda Escola da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFMS em Terenos, MS, Brasil (20°26'50.8"S 54°50'21.5"W). Foram avaliadas 29 novilhas Nelore [PC = 368 ± 54,1 kg; ECC = 4,8 ± 0,71], com idades de 24 a 36 meses, mantidas em um único piquete de 12 ha com capim-marandu [*Urochloa brizantha* (Hochst. Ex A. Rich) R. D. Webster, cv. Marandu] e com livre acesso à água e suplemento mineral em pó (Tabela 1).

O estudo começou 9 dias antes da inseminação artificial (IA) e terminou 60 dias após a IA (d-9 a d 60). No d-9, as novilhas foram classificadas por PC e ECC e, em seguida, aleatoriamente distribuídas para os tratamentos: Salina) injeção subcutânea de solução salina (0,9% NaCl; 5 mL/novilha) ou Cu Zn solução contendo Cu e Zn (Cu Zn, Suplenut®, Biogénesis Bagó, Buenos Aires, Argentina; 5 mL/vaca). A solução de Cu Zn continha 15 mg/mL de Cu e 50 mg/mL de Zn. Todas as aplicações foram administradas por meio pistola

automática dosadora (Höppner, São Paulo, Brasil) por via subcutânea, no lado direito da tábua do pescoço.

As novilhas foram submetidas a um protocolo de IATF conforme Figura 1. No d -9, receberam uma injeção intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis, São Paulo, Brasil) e um dispositivo intravaginal de liberação de progesterona monodose contendo 0,5 g de progesterona (P4; DIB; Zoetis). No d -2 foi retirado o dispositivo de progesterona e realizada injeção intramuscular de PGF2 α (12,5 mg/vaca; Lutalyse; Zoetis), cipionato de estradiol (0,6 mg/vaca; ECP; Zoetis) e eCG (200 UI/novilha; Novormon; Zoetis). No d 0, todas as novilhas foram inseminadas pelo mesmo técnico e com sêmen do mesmo touro Nelore.

O diâmetro do folículo dominante foi avaliado no d 0, corpo lúteo (CL) no d 7 e 14, status de prenhez no d 30 e tamanho do concepto no d 60, sendo todos avaliados por ultrassonografia transretal (transdutor de 7,5 MHz; Mindray DP 2200 VET, Shenzhen, China). O volume CL foi calculado usando a fórmula para o volume de esfera [$V = 4/3\pi(D/2)^3$] onde D é o diâmetro máximo (mm) do CL e mensurado em cm³. O ECC (escala 1-9) foi avaliado nos D -9 e D 30 juntamente com o PC, de acordo com Herd e Sprott (1986), por um único avaliador blindado para os tratamentos.

Para avaliação do escore de estro, no d -2, todas as vacas foram pintadas na região sacral com bastão marcador (RaidexMaxi; RAIDEX GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha) e no momento da IATF foi avaliada a expressão do estro e classificada em escores de acordo com a remoção de tinta na região sacral: 1 – sem remoção de tinta = sem manifestação de estro; 2 – pouca remoção da tinta = baixa expressão do estro; 3 – remoção total da tinta = alta expressão do estro (Rodrigues et al., 2019).

Amostras de sangue foram coletadas da veia coccígea nos dias -9, 0 e 30 em tubos de coleta de sangue de 10 mL (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, EUA) com gel ativador de coágulo (soro) ou heparina sódica (plasma). Imediatamente após a coleta, as amostras de sangue foram armazenadas em gelo e depois centrifugadas a 1200 \times g por 30 minutos para separação e coleta do soro e do plasma. As amostras de soro e plasma foram armazenadas a -20 °C para posterior análise no soro de Cu e Zn e no plasma de haptoglobina, ceruloplasmina e cortisol.

Para a determinação da composição química da forrageira foi feita uma colheita manual pelo método de simulação de pastejo (Euclides et al., 1992) em 3 momentos (d -9, 30, 60). Em seguida, as amostras foram secas em estufa de ventilação a 60°C por 5 d, trituradas a 1 mm e combinadas em uma única amostra (Tabela 1).

2.1.2 Experimento 2

O estudo foi conduzido em uma fazenda comercial de cria (Fazenda Seriema), localizada em Miranda-MS, Brasil (20°24'02.0"S 1935 56°18'11.2"W). Foram avaliadas 1469 matrizes da raça Nelore, sendo 871 multíparas [PC = 442,4 ± 43,9 kg; ECC = 4,77 ± 0,65] mantidas em 13 grupos [67 ± 34 vacas/grupo], 337 primíparas [PC = 407,6 ± 36,8 kg; ECC = 5,04 ± 0,54] mantidas em 7 grupos [32 ± 23 vacas/grupo] e 261 novilhas [PC = 334,5 ± 30,1 kg; ECC = 6,08 ± 0,76] mantidas em 3 grupos [87 ± 17 novilhas/lote]. Os pastos eram de capim Marandú [*Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster, cv. Marandu;], com o método de pastejo rotacionado com livre acesso a água e suplemento mineral em pó (Tabela 1).

O estudo começou 11 dias antes da IA e terminou 120 dias após a IA (d-11 a d 120) conforme a Figura 1. No d -11, as vacas foram aleatoriamente distribuídas para 2 tratamentos: salina (controle) ou Cu Zn, na mesma dosagem e local de aplicação, conforme descrito no Exp. 1.

Todas as fêmeas foram submetidas a um regime de tratamento com IATF de d -11 a 0. No d -11, as fêmeas receberam uma injeção intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis, São Paulo, Brasil) e um dispositivo intravaginal de liberação de progesterona contendo 1,9 g de progesterona e as novilhas o dispositivo intravaginal de liberação de progesterona foi previamente utilizado por duas vezes (P4; CIDR; Zoetis). No d -2, o dispositivo de progesterona foi removido e aplicadas injeções intramusculares de PGF2 α (12,5 mg/vaca; Lutalyse; Zoetis), cipionato de estradiol (0,6 mg/vaca; ECP; Zoetis) e eCG (300 UI/primípara e multípara; 200 IU/novilhas; Novormon; Zoetis). No d 0, todas as fêmeas do mesmo grupo foram inseminadas pelo mesmo técnico e utilizando sêmen do mesmo touro Nelore.

No dia 30 foi feito o diagnóstico de prenhez por ultrassom (Mindray DP 2200 VET com transdutor 7,5 MHz, Shenzhen, China) e as fêmeas não prenhes foram ressincronizadas de modo que o diagnóstico de prenhez foi realizado no d 70. Em seguida, as fêmeas foram expostas a touros Nelore na relação de 1:40 e retirados no d 120, quando foi feito o diagnóstico final de gestação. O ECC e o PC foram avaliados nos d -11, 30, 70 e 120 e o escore de estro no d 0, conforme descrito no Exp. 1

Para coleta de amostras de sangue foram selecionadas 10 multíparas por tratamento, escolhidas de forma aleatória e que pertenciam ao mesmo grupo. As amostras foram coletadas da veia coccígea nos d -11, 0 e 30 em tubos de coleta de sangue de 10 mL, processados conforme descrito no Exp. 1 e o soro foi armazenado a -20 °C para posterior análise de Cu e Zn.

Para a determinação da composição química da forrageira foi feita uma colheita manual pelo método de simulação de pastejo (Euclides et al., 1992) em 3 momentos no d -11, d 30 e d 120). Em seguida, as amostras foram secas em estufa de ventilação a 60°C por 5 dias, trituradas a 1 mm e combinadas em uma única amostra composta (Tabela 1).

2.2 Análises laboratoriais

As amostras da forrageira (Exp. 1 e 2) foram analisadas segundo (AOAC, 2000): matéria seca (MS), método 930.15; proteína bruta (PB), método 976.05; extrato etéreo (EE), método 920.39 e cinzas, método 942.05. As concentrações de lignina, fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) foram analisadas conforme descrito por Van Soest et al. (1991). As concentrações de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados conforme descrito por Weiss et al. (1992), e energia líquida para manutenção (ELm) e ganho (ELg) pelas equações propostas pelo NASEM (2016).

Nas amostras de soro (Exp. 1 e 2) foram determinadas as concentrações de Cu e Zn (Braselton et al., 1997). Amostras de plasma (Exp. 1) para as concentrações de haptoglobina foram analisadas conforme descrito por Cooke e Arthington (2013) e ceruloplasmina conforme descrito por Demetriou et al. (1974). O CV inter e intra-ensaio foi de 3,9% e 9,4% para haptoglobina e 2,0% e 4,3% para ceruloplasmina, respectivamente. As amostras foram analisadas quanto às concentrações de cortisol usando o kit ELISA (Salimetrics Expanded Range, High Sensitivity 1-E3002, State College, PA), enquanto o CV intra e inter-ensaio foi, respectivamente, 1,9 e 3,3%. As concentrações plasmáticas de progesterona foram determinadas usando um imune ensaio enzimático quimioluminescente competitivo em fase sólida (IMMULITE 1000, Diagnostics Products Corp. USA) previamente validado para amostras de gado (Martin et al., 2007). O intervalo detectável e o CV intra-ensaio para as concentrações plasmáticas de progesterona foram de 0,2 a 9,9 ng/mL e 4,7%, respectivamente.

2.3 Análises estatísticas

Para todas as análises, o animal (matriz) foi considerado a unidade experimental. Os resultados de alteração de PC, alteração de ECC, escore de estro, variáveis ovarianas, tamanho do concepto e variáveis sanguíneas foram analisados usando o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC; versão 9.4) e as taxas de expressão de cio, prenhez e perda gestacional usando o procedimento GLIMMIX do SAS. Para tanto foi utilizada a aproximação de Satterthwaite para determinar os graus de liberdade do denominador para o teste de efeitos fixos. Todos esses dados foram testados quanto ao efeito fixo do tratamento, usando matriz (tratamento) como efeito aleatório. Os dados de PC e ECC foram analisados como medidas repetidas usando o procedimento MIXED do SAS e testados para efeitos fixos de tratamento,

dia e interação resultante, usando matriz (tratamento) como variável aleatória. As estruturas de covariância foram selecionadas de acordo com o menor critério de informação de Akaike.

Todos os resultados obtidos no d -9 (início do estudo) para cada variável foram incluídos como covariáveis em cada respectiva análise, mas foram removidos do modelo quando $P > 0,10$. As matrizes bovinas foram classificadas em dois grupos (alto e baixo ECC) de acordo com a mediana do ECC obtido nos d 30, 70 e 120. As médias foram separadas usando PDIFF e todos os resultados foram relatados como LSMEANS seguido de EPM. Significância foi definida quando $P \leq 0,05$ e tendência quando $P > 0,05$ e $\leq 0,10$.

3. Resultados

3.1. Experimento 1

Na Tabela 2 foram apresentados os resultados das variáveis corporais e reprodutivas. As novilhas do grupo Cu Zn apresentaram maior PC no d 30 ($P < 0,01$) e tenderam a ter maior mudança de PC de d -9 a d 30 ($P = 0,09$) e maior diâmetro do CL apenas no dia 14 ($P = 0,10$). Nenhum outro efeito foi detectado ($P \geq 0,15$) para ECC, variáveis de estro, variáveis ovarianas, concentração sérica de progesterona, taxa de prenhez e tamanho do concepto.

Na Tabela 6 foram apresentados os resultados das variáveis sanguíneas de novilhas. Nenhum efeito foi detectado ($P \geq 0,21$) para as concentrações sanguíneas de Cu e Zn, haptoglobina, ceruloplasmina e cortisol.

3.1. Experimento 2

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados das variáveis corporais e reprodutivas das novilhas. Nas novilhas, o grupo Cu Zn obtiveram maior PC no d 120 ($P = 0,05$) com tendência a ter maior mudança de PC do d -11 ao d 30 e do d -11 ao d 120 ($P = 0,09$), assim as classificadas como de baixo ECC apresentaram maior escore de estro ($P = 0,01$) e maior taxa de expressão de cio ($P = 0,04$) no d 0, com tendência a maior taxa de expressão de cio geral no d 0 ($P = 0,10$) e maior taxa de prenhez d 30 (1ª IATF) ($P = 0,10$). Nenhum outro efeito foi detectado para variáveis corporais ($P \geq 0,22$) o desempenho reprodutivo ($P \geq 0,16$) em novilhas de corte.

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados das variáveis corporais e reprodutivas das primíparas. Nenhum efeito ($P \geq 0,45$) foi detectado para variáveis corporais em primíparas de corte. O grupo Cu Zn obteve maior escore de estro no d 0 para as classificadas como ECC alto ($P = 0,03$) e tendência de escore de estros geral no d 0 ($P = 0,05$), escore de estros geral no d 50 ($P = 0,08$), taxa de expressão de cio no d 0 para as classificadas de alto ECC ($P = 0,03$), efeito positivo da injeção de Cu Zn para taxa de prenhez ($P = 0,09$) no d 30 para as classificadas

de baixo ECC (1ª IATF) e menor perda gestacional do d 70 ao d 120 para as classificadas de baixo ECC ($P = 10$). Nenhum outro efeito ($P \geq 0,17$) foi detectado para o desempenho reprodutivo em primíparas de corte.

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados das variáveis corporais e reprodutivas das multíparas. Nenhum efeito foi detectado para variáveis corporais ($P \geq 0,14$) e desempenho reprodutivo ($P \geq 0,11$) em multíparas de corte.

Na Tabela 6, estão apresentados os resultados das variáveis sanguíneas. As novilhas CuZn vs. Salina apresentaram maior concentração de Cu ($P = 0,0008$) mas não de Zn ($P \geq 0,17$).

4. Discussão

O desequilíbrio na composição mineral da dieta pode causar perda de peso, puberdade atrasada, disparidade hormonal e menor atividade ovariana. Com a aplicação de Cu Zn se espera melhora no status imunológico e diminuição do estresse oxidativo, aumentando o ganho de peso dos animais. No atual trabalho, a aplicação de Cu Zn aumentou o PC e o ECC apenas em novilhas, mas não em primíparas e multíparas, provavelmente devido ao fato das novilhas ainda estarem em crescimento, diferente das demais categorias que já atingiram a maturidade fisiológica. Mundell et al. (2012) e Arthington et al. (2014) trabalhando com novilhas de corte também encontraram uma tendência de maior GMD para as que receberam Cu Zn em comparação com novilhas que receberam solução salina.

Adicionalmente, Vedovatto et. al (2019a) trabalhando com multíparas também não encontraram efeito no GMD com uma única injeção de Cu, Se, Mn e Zn, porém as vacas tratadas tenderam a ter um maior ECC e ganharam ECC de d -11 a 30, enquanto as vacas tratadas com solução salina tiveram uma diminuição no ECC e apresentaram um ECC menor durante o mesmo período.

A redução no CMS (consumo de matéria seca) reflete em redução no nível sérico de minerais (Drackley, 1999; Mulligan et al., 2006) e o estresse causado pelas práticas de manejo nos protocolos de sincronização para IATF provavelmente reduz o CMS e o nível sérico de minerais. A novilha é a categoria de maior estresse devido ser o primeiro manejo no curral da sua vida reprodutiva (Fernandez-Novo et al. 2020). As de baixo ECC têm maior exigência para recuperação do ECC e manifestação do estro e no presente trabalho tiveram melhora no seu desempenho com o uso do mineral injetável. Em momentos de estresse há um aumento na taxa metabólica e ocorre uma maior produção de radicais livres; o uso de microminerais injetáveis produz um melhor balanço oxidativo e resposta imune (Palomares, 2022). Com o melhor balanço oxidativo houve a tendência de aumentar o volume e diâmetro do CL, mas sem

consequência sobre a concentração de progesterona, mesmo assim resultou em melhora na manutenção da gestação.

O uso de MMI proporciona um estável status de microminerais mais estável e auxilia na resposta oxidante minimizando os problemas relacionados ao estresse (Vanegas et al., 2004; Machado et al., 2013; Palomares, 2022). Arthington et al. (2014) teve como hipótese que a queda no GMD após períodos de estresse é devido à um aumento na ceruloplasmina, proteína de fase aguda dependente de Cu, que podem afetar o metabolismo de nutrientes e o crescimento animal (Johnson, 1997). Uma única dose de Cu Zn no d -11 do protocolo de IATF não alterou as concentrações plasmáticas das proteínas de fase aguda (haptoglobina e ceruloplasmina), tendeu a aumentar o diâmetro do CL no d 14 nas novilhas e não apresentou resposta inflamatória no local através da injeção. Vedovatto et. al (2019a) também não encontraram alterações nas concentrações plasmáticas de haptoglobina e ceruloplasmina com a aplicação de MMI 11 dias antes da IA.

O comportamento de estro está relacionado à concentração circulantes de estradiol (E2), e indiretamente associada ao pico de LH e ao momento da ovulação. No Experimento 1 não houve aumento no diâmetro do folículo dominante e na expressão de estro de novilhas e no Experimento 2 quando as matrizes foram separadas por ECC, as novilhas de baixo ECC quando recebem tratadas com Cu Zn apresentaram maiores expressões de estro (2,59 vs 2,82) e primíparas de ECC alto (2,68 vs. 2,49) e no geral (2,58 vs. 2,44) tratadas com Cu Zn tenderam a reduzir o escore de estro no d 0. Segundo Nogueira et al. (2019) a expressão de estro no dia da IA está associada a maior fertilidade. Identificando os animais com alta expressão de estro podemos direcionar para biotécnicas mais específicas, como por exemplo sêmen sexado.

O ECC afeta as funções do ovário e vacas com maior ECC têm maior tamanho do folículo dominante, área do corpo lúteo, taxa de estro e taxa de ovulação (Lents et al., 2008; Nishimura et al., 2018). Vacas de corte com maior ECC apresentaram maior expressão de estro (Nishimura et al., 2018; Vedovatto et al. 2022). Desta forma as novilhas que responderam com melhoras nas variáveis corporais também melhoraram as expressões de estro, diferente das categorias com ECC alto, que provavelmente já tinham reservas suficientes.

O estresse ao parto e os efeitos combinados entre crescimento corporal e primeira lactação elevam as exigências nutricionais, e pode ser responsável pela baixa resposta reprodutiva quando essas primíparas são submetidas a períodos de restrição alimentar pré e ou pós-parto (Spitzer et al. 1995, Pilau & Lobato 2009). Assim, primíparas de baixo ECC no d 30 tiveram tendência a melhorar a taxa de prenhez quando receberam a suplementação injetável com Cu Zn.

Na segunda IA as primíparas de baixo ECC tratadas com Cu Zn tiveram tendência a redução na perda gestacional (9,74 vs. 0,97) provavelmente por ser a categoria de maior exigência nutricional, devido a exigência para crescimento e reprodução, as matrizes de ECC baixo não tiveram alteração do d 0 (5,20) ao d 120 (5,18), mostrando que o grupo não teve melhoras de ECC. A aplicação de Cu Zn em categorias de alta exigência e sem balanço energético positivo pode possibilitar uma melhor resposta metabólica e imunológica, resultando em menores perdas gestacionais.

Não foi encontrada efeito do Cu Zn no desempenho reprodutivo das multíparas pois as vacas classificadas como baixo ECC ainda possuíam valores bons ECC (5,44). Multíparas com ECC entre 5 e 6 no início da estação de monta apresentam melhor taxa de prenhez e expressão de estro. Concordando com nossos dados, Sales et al. (2011) observaram que vacas com ECC < 5 tiveram taxas de prenhez menores do que vacas com ECC \geq 5 no momento da IATF. O maior ECC no início da IATF resultou em maior taxa de prenhez em vacas de corte *Bos indicus* e *Bos taurus* em diversos estudos (Nishimura et al., 2018; Vedovatto et al., 2019a, 2019b; Cooke et al., 2021), conforme observado em nosso estudo. Os resultados deste estudo que explicam por que as vacas com ECC \geq 5 tiveram maior taxa de prenhez são relacionados a maiores tamanhos do CL, concentração de progesterona, expressão de estro, taxa de expressão de cio e tamanho do embrião em comparação com vacas com ECC < 5.

As vacas que receberam Cu Zn apresentaram maior concentração de Cu ($P = 0,008$). Os teores de Cu no suplemento e no pasto foram de 1400 e 4,16 mg/kg, respectivamente. Considerando o peso médio de 443,4 kg, com consumo médio diário de 2,2% do PC de volumoso e 0,200 kg/dia de suplemento mineral, as novilhas tinham disponibilidade de consumo de 32,20 mg/kg de MS, ou seja, muito superior ao recomendado, de 10 mg/kg (NASEN, 2016). Conforme Bavera e Bocco (1987), McDowell (1992) e Underwood e Suttle (2010) os teores de Cu do grupo Salina de 49 $\mu\text{g/dL}$ indicam deficiência de Cu pois estão abaixo de 60 $\mu\text{g/dl}$, mesmo com a disponibilidade de consumo via pasto e suplemento em pó maiores do que o recomendado. Assim, ao suplementar encontramos diferença no aumento da concentração de cobre de vacas que receberam Cu Zn, pois estas estavam em condições de deficiência mineral. Segundo Puls (1988), McDowell, (1992) e Underwood e Suttle (2010) valores abaixo de 60 $\mu\text{g/dl}$ indicam deficiência em Zn e os grupos apresentaram teores aproximados ao mínimo, então o tratamento não apresentou melhoras significativas pois não estavam em deficiência. Mesmo com fornecimento acima do recomendado encontramos baixos valores sanguíneos de Cu que pode ter impacto de altos teores de Fe na pastagem, prejudicando a absorção. Os níveis séricos minerais foram avaliados por coleta sanguínea, porém

reconhecemos que o melhor método seria via biópsia de fígado, porém não foi realizada para não causar resposta inflamatória e prejudicar os demais resultados.

5. Conclusão

A administração de Cu e Zn no início do protocolo de IATF em novilhas melhorou o tamanho de CL no d 14, concentrações de Cu no d 30 e o ganho de peso. A expressão de cio e taxa de prenhez foi melhorada pela administração de Cu e Zn em novilhas e primíparas, mas esse aumento foi observado principalmente em fêmeas com baixa ECC (< 5). Nas primíparas classificadas como baixo ECC a administração de Cu e Zn apresentou redução na perda gestacional do d 70 ao d 120. O Cu e Zn não causou reações inflamatórias e a concentração plasmática de haptoglobina e cortisol sérico diminuiu durante o estudo. Assim, a administração do TMVI foi eficiente para melhorar a reprodução de fêmeas com baixa ECC, sem causar reações inflamatórias.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

- AOAC. Official Methods of Analysis, 17th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg, MD, 2000.
- Arthington, J. D., 2004. Nutrição mineral de gado de corte. . In: Novos Enfoques Na Produção e Reprodução de Bovinos, 8., 2004, Uberlândia. Anais Uberlândia: CONAPEC Jr, 141–155.
- Arthington, J. D., Moriel, P., Martins, P. G., Lamb, G. C., & Havenga, L. J. (2014). Effects of trace mineral injections on measures of performance and trace mineral status of pre- and postweaned beef calves. *Journal of animal science*, 92(6), 2630–2640. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7164>.
- Bavera, G. A.; Bocco, O. Suplementación mineral del bovino, Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina, 1987, 88p.
- Braselton, W.E., Stuart, K.J., Mullaney, T.P., Herdt, T.H., 1997. Biopsy mineral analysis by inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy with ultrasonic nebulization. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9, 395–400. <https://doi.org/10.1177/104063879700900409>

- Cooke, R. F., and J. D. Arthington. 2013. Concentrations of haptoglobin in bovine plasma determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 97:531–536. doi:10.1111/j.1439-0396.2012.01298x.
- Cooke RF, Lamb GC, Vasconcelos JLM, Pohler KG. Effects of body condition score at initiation of the breeding season on reproductive performance and overall productivity of *Bos taurus* and *B. indicus* beef cows. *Anim Reprod Sci.* 2021 Sep;232:106820. doi: 10.1016/j.anireprosci.2021.106820. Epub 2021 Jul 30. PMID: 34364040.
- Da Silva Zornitta, C., D'Oliveira, M. C., de Lucca Bento, A. L., Rocha, R. F. A. T., Vedovatto, M., & Franco, G. L. (2021). Effect of injectable trace mineral at weaning on growth and physiology of Nellore calves under feed restriction. *Tropical animal health and production*, 54(1), 18. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-03001-w>
- Drackley, 1999 J.K. Drackley Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *J. Dairy Sci.*, 82 (1999), pp. 2259-2273
- Demetriou, J. A., P. A. Drewes, and J. B. Gin. 1974. Ceruloplasmin. In: D. C. Cannon and J. W. Winkelman, editors, *Clinical chemistry*. Harper and Row, Hagerstown, MD. p. 857–864.
- Euclides, V. P. B., Macedo, M. C. M., & Oliveira, M. P. (1992). Avaliação de diferentes métodos de amostragem [para se estimar o valor nutritivo de forragem] sob pastejo. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*.
- Fernandez-Novo, A., Pérez-Garnelo, S.S., Villagrà, A., Pérez-Villalobos, N., Astiz, S. O efeito do estresse na reprodução e nas tecnologias reprodutivas em bovinos de corte - uma revisão. *Animais* . 2020; 10(11):2096. <https://doi.org/10.3390/ani10112096>
- Graham, T. W. Trace element deficiencies in cattle. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, v. 7, n. 1, p. 153-215, 1991.
- Harvey, K. M., Cooke, F. R., Colombo, E. A., Rett, B., De Sousa, O. A., Harvey, L. M., Russell, J. R., Pohler, K. G., Brandão, A. P. Supplementing organic-complexed or inorganic Co, Cu, Mn, and Zn para vacas de corte durante a gestação: respostas pós-desmame de descendentes criados como novilhas de reposição ou gado de engorda, *Journal of Animal Science* , Volume 99, Edição 6, junho de 2021, skab082, <https://doi.org/10.1093/jas/skab082>
- Herd, D., Sprott, L.S., 1986. Body condition, nutrition, and reproduction of beef cows. *Texas A&M Univ. Ext. Bull.* 1526. Texas A&M AgriLife Extension Service, College Station, TX.

- Hostetler, C. E.; Kincaid, R. L.; Mirando, M. A. The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. *Veterinary Journal*, v. 166, n. 2, p. 125-139, 2003.
- Hurley, L. S., and C. L. Keen. 1988. Fetal and neonatal development in relation to maternal trace element nutrition: manganese, zinc, and copper. In: Berger H., editor, *Vitamins and minerals in pregnancy and lactation*: 16:215–230. Lippincott Williams & Wilkins, New York, NY.
- Johnson, R. W. 1997. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: An integrated view. *J. Anim. Sci.* 75:1244–1255. doi:10.2527/1997.7551244x
- Lents, C.A., White, F.J., Ciccioli, N.H., Wettemann, R.P., Spicer, L.J., Lalman, D.L., 2008. Effects of body condition score at parturition and postpartum protein supplementation on estrous behavior and size of the dominant follicle in beef cows. *J. Anim. Sci.* 86, 2549–2556. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1114>.
- Machado, V.S., Bicalho, M.L., Pereira, R.V., Caixeta, L. S., Knauer, W.A., Oikonomou, G.; Gilbert, R.O., Bicalho, R.C. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and production of lactating Holstein cows. *Vet J.* 2013 Aug;197(2):451-6. doi: 10.1016/j.tvjl.2013.02.022. Epub 2013 Apr 15. PMID: 23598255.
- Martin, J. L., Vonnahme, K.A., Adams, D.C., Lardy, G.P., Funston, R.N., 2007. Effects of dam nutrition on growth and reproductive performance of heifer calves. *J. Anim. Sci.* 85, 841–847. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-337>
- McDOWELL, L.R. *Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil*. 3 ed., University of Florida, 92 p., 1999.
- Mundell, L. R., Jaeger, J. R., Waggoner, J. W., Stevenson, J. S., Grieger, D. M., Pacheco, L. A., Bolte, J. W., Aubel, N. A., Eckerle, G. J., Macek, M. J., Ensley, S. M., Havenga, L. J., & Olson, K. C., 2012. Effects of prepartum and postpartum bolus injections of trace minerals on performance of beef cows and calves grazing native range. *The Professional Animal Scientist*, 28(1), 82–88. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30318-1](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30318-1).
- Mulligan et al., 2006 F.J. Mulligan, L. O'Grady, D.A. Rice, M.L. Doherty. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Anim. Reprod. Sci.*, 96 (2006), pp. 331-353.
- NASEM, 2016. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. *Nutrient Requirements of Beef Cattle Model*. 8th Rev, ed. National Academic Press, Washington, DC.

- Nishimura, T.K., Martins, T., Silva, M.I., Lafuente, B.S., Maio, J.R.C., Binelli, M., Pugliesi, G., Saran Netto, A., 2018. Importance of body condition score and ovarian activity on determining the fertility in beef cows supplemented with long-acting progesterone after timed-AI. *Anim. Reprod. Sci.* 198, 27–36 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.08.042>.
- Nogueira, E., Silva, M.R., Silva, J.C.B., Abreu, U.P.G., Anache, N.A., Silva, K.C., Cardoso, C.J.T., Sutovsky, P., Rodrigues, W.B. Timed artificial insemination plus heat I: effect of estrus expression scores on pregnancy of cows subjected to progesterone–estradiol-based protocols, *Animal*, Volume 13, Issue 10, 2019, 2305-2312, ISSN 1751-7311. <https://doi.org/10.1017/S1751731119000442>.
- NRC. 2000. Nutrient requirement soft beef cattle. 7th ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC. O'Connor, J. C., McCusker, R.H., Strle, K., Johnson, R.W., Dantzer, R., Kelley, K.W., 2008.
- Palomares RA. Trace Minerals Supplementation with Great Impact on Beef Cattle Immunity and Health. *Animals*. 2022; 12(20):2839. <https://doi.org/10.3390/ani12202839>
- Pilau A. & Lobato J.F.P. Desenvolvimento e desempenho reprodutivo de vacas primíparas aos 22/24 meses de idade. *Rev. Bras. Zootec.*, 38:728-736, 2009.
- Puls, R. Mineral levels in animal health, Sherpa International, Ontario, Canada, 1988, 240p.
- Rodrigues, W.B., Jara, J.P., Borges, J.C., Oliveira, L.O.F., Abreu, U.P.G., Anache, N.A., Silva, K.S., Bezerra, A.O., Cardoso, C.J.T., Nogueira, N., 2019. Efficiency of mating, artificial insemination or resynchronisation at different times after first timed artificial insemination in postpartum Nelore cows to produce crossbred calves. *Anim. Prod. Sci.* 59, 225–231. <https://doi.org/10.1071/AN17466>.
- Sa Filho, M.F., Crespilho, A.M., Santos, J.E., Perry, G.A., Baruselli, P.S., 2010. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. *Anim. Reprod. Sci.* 120, 23–30.
- Sales, J.N., Crepaldi, G.A., Giroto, R.W., Souza, A.H., Baruselli, P.S., 2011. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 124, 12–18.
- Spitzer J.C., Morrison D.G. & Wettemann R.P. Reproductive responses and calf birth and weaning weights as affected by body condition at parturition and postpartum weight gain in primiparous beef cows. *J. Anim. Sci.*, 73:1251-1257, 1995.

- Underwood, E.J.; Suttle, N.F. *The Mineral Nutrition of Livestock*. 4.ed. New York: CAB International, 2010, 587 p.
- Van Soest, P.J.; 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*, Volume 74, Issue 10, 1991, p. 3583-3597, ISSN 0022-0302, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).
- Vanegas, J.A., Reynolds, J., Atwill, E.R. Effects of an injectable trace mineral supplement on first-service conception rate of dairy cows. *J Dairy Sci*. 2004 Nov;87(11):3665-71. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73505-5. PMID: 15483150.
- Vedovatto, M., Moriel, P., Cooke, R. F., Costa, D. S., Faria, F. J. C., Cortada Neto, I. M., Bento, A. L. L., Rocha, R. F. A. T., Ferreira, L. C. L., Almeida, R. G., Santos, S. A., & Franco, G. L., 2019a. Effects of a single trace mineral injection at beginning of fixed-time AI treatment regimen on reproductive function and antioxidant response of grazing Nellore cows. *Animal Reproduction Science*, 211. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106234>
- Vedovatto, M., Moriel, P., Cooke, R. F., Costa, D. S., Faria, F. J. C., Cortada Neto, I. M., Pereira, C. da S., Bento, A. L. D. L., de Almeida, R. G., Santos, S. A., & Franco, G. L., 2019b. Effects of a single trace mineral injection on body parameters, ovarian structures, pregnancy rate and components of the innate immune system of grazing Nellore cows synchronized to a fixed-time AI protocol. *Livestock Science*, 225, 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.05.011>
- Weiss, W.P, Conrad, P.H.R., St. Pierre, N.R., 1992. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. *Anim. Feed Sci. Technol.* 39:95–110. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(92\)90034-4](https://doi.org/10.1016/0377-8401(92)90034-4).

Tabela 1. Composição química das forrageiras e do suplemento mineral em pó (Exp. 1 e 2).

Itens	Exp. 1 (Fazenda Escola) ¹	Exp. 2 (Fazenda Comercial) ¹	Requerimentos (NASEN, 2016) ²
Pasto			
g/kg de DM			
Proteína bruta	91.8	75.2	-
Fibra Detergente Neutra	643	716	-
Fibra detergente ácida	349	393	-
Lignina	57.2	70.0	-
Extrato etéreo	14.4	12.5	-
Cinzas	102	86.3	-
Cálcio	1.98	1.77	-
Fósforo	1.93	1.78	-
Sódio	0.37	0.77	1.0
Potássio	25.9	22.5	7.0
Magnésio	2.28	2.02	2.0
Enxofre	0.9	1.00	1.5
TDN2	572	546	-
Mcal/kg de MS			-
ELm3	1.21	1.13	-
Elg	0.65	0.57	-
mg/kg de MS			-
Ferro	431	109	50.0
Manganês	158	91.8	40.0
Selênio	ND	3.51	0.10
Zinco	26.9	20.7	30.0
Cobre	4.86	4.16	10.0
Suplemento mineral de livre escolha			
g/kg de DM			
Cálcio	145 – 165	140 – 190	-
Fósforo	65	80	-
Sódio	133	110	-
Magnésio	6	10	-
Enxofre	25	16	-
mg/kg de MS			
Flúor	650	880	-
Cobalto	120	61	-
Iodo	120	55	-
Ferro	500	-	-
Manganês	700	4682	-
Selênio	12.0	11.8	-
Zinco	4000	3273	-
Cobre	1400	1091	-
Consumo alvo, g/d	100	200	-

¹No Exp. 1 o suplemento mineral utilizado foi Phos Cria (Agromix Nutrição Animal, Jaboticabal, SP, Brasil) e no Exp. 2, foi Probeef 800 (Nutron Nutrição Animal, Itapira, SP, Brasil);

² Exigências para vacas no início da lactação estabelecidas por NASEN (2016).

³Calculado conforme descrito por Weiss et al. (1992).

⁴ Calculado usando as equações propostas pelo NASEM (2016).

Tabela 2. Variáveis corporais e reprodutivas de novilhas submetidas a injeção de solução salina (Salina) ou solução de cobre e zinco (Cu Zn) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -9; Experimento 1).

Itens	Tratamentos ¹			SE M	P-value	
	Salina	Cu Zn			Tratamento	Tratamento × dia
Número de animais	15	14				
<i>Variáveis corporais</i>						
Peso corporal (PC), kg					<0.01	<0.01
d-9	370	371	0.50			
d 30	391 ^b	395 ^a	0.75			
Mudança de PC, kg	20.5	24.4	1.51		0.09	
Escore da condição corporal (ECC), 1 – 9					0.52	0.63
d-9	4.81	4.90	0.14			
d 30	4.81	4.78	0.14			
Alteração ECC, 1 – 9	0.00	-0.15	0.17		0.52	
<i>Variáveis de estro²</i>						
Escore de estro (d 0), 1 – 3	1.80	1.42	0.23		0.25	
Taxa de expressão de cio (d 0), %	75.34	76.42	0.12		0.95	
<i>Variáveis ovarianas</i>						
Diâmetro do folículo dominante (d 0), mm	10.73	10.36	0.87		0.77	
CL diâmetro, mm						
d 7	18.47	19.23	0.93		0.59	
d 14	17.33	19.41	0.81		0.10	
CL volume, cm ³						
d 7	3.55	3.99	0.55		0.60	
d 14	2.99	4.00	0.44		0.15	
Progesterona sérica (d 14), ng/mL	5.68	6.42	0.67		0.44	
Taxa de prenhez (d 30), %	40.84	45.19	0.14		0.84	
<i>Tamanho do concepto</i>						
Coroa garupa (d 60), mm	32.88	30.56	2.14		0.51	
Torácica (d 60), mm	15.29	13.18	1.12		0.27	

¹ Salina - solução de 0,9% de NaCl, e a Cu Zn (Suplenut®, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil) solução de 15 mg/mL de Cu e 50 mg/mL de Zn. Ambas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no lado direito da tábua do pescoço de cada animal.

² Nos protocolos de IATF, no momento da retirada da P4, todas as vacas foram pintadas na região sacral com bastão marcador de cera (RaidexMaxi; RAIDEX GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha), e no momento da IATF foi avaliada a expressão do estro e classificada em escores de acordo com remoção de tinta na região sacral: 1 – sem remoção de tinta = sem manifestação de estro; 2 – má remoção da tinta = baixa expressão do estro; 3 – remoção total da tinta = alta expressão do estro (Rodrigues et al., 2019).

^{a-b} Dentro de uma linha, letras diferentes em sobrescrito diferem ($P \leq 0,05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0,10$).

Tabela 3. Variáveis corporais e reprodutivas de novilhas recebendo solução salina (Salina) ou solução de cobre e zinco (Cu Zn) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -11; Experimento 2)

Itens	Tratamentos ¹		SEM	P-value	
	Salina	Cu Zn		Tratamento	Tratamento × dia
Número de animais	130	131			
<i>Variáveis corporais</i>					
Peso corporal (PC), kg				<0.01	0.05
d-11	333	333	6.98		
d 30	359	361	6.98		
d 70	374	376	7.24		
d 120	415 ^b	427 ^a	7.13		
Mudança de PC, kg					
d -11 a 30	24.3	26.8	8.98	0.09	
d 30 a 70	13.6	14.4	5.01	0.61	
d 70 a 120	42.8	47.5	26.7	0.57	
d -11 a 120	76.9	87.8	27.8	0.09	
Escore de condição corporal (ECC), 1 – 9				0.34	0.44
d-11	5.56	5.58	0.05		
d 30	6.07	6.10	0.05		
d 70	5.94	5.92	0.07		
d 120	6.53	6.70	0.07		
Alteração ECC, 1 – 9					
d -11 a 30	0.51	0.52	0.09	0.60	
d 30 a 70	-0.14	-0.18	0.18	0.81	
d 70 a 120	0.59	0.78	0.18	0.55	
d -11 a 120	0.97	1.12	0.09	0.22	
<i>Variáveis de estro</i> ^{2, 3}					
Escore de estro (d 0), 1 – 3					
d 0					
ECC baixo	2.59	2.82	0.07	0.01	
ECC alto	2.67	2.62	0.09	0.68	
Geral	2.62	2.73	0.05	0.16	
d 50					
ECC baixo	2.82	2.86	0.07	0.71	
ECC alto	2.83	2.84	0.07	0.93	
Geral	2.82	2.85	0.05	0.69	
Taxa de expressão de cio, % ^{2, 3}					
d 0					
ECC baixo	88.3	97.1	3.14	0.04	
ECC alto	87.8	89.9	5.07	0.72	
Geral	87.8	93.7	2.58	0.10	
d 41					
ECC baixo	100	96	0.02	0.23	
ECC alto	100	100	-	-	
Geral	100	98.0	1.24	0.25	
Taxa de prenhez, % ³					

d 30 (1ª IATF)				
ECC baixo	47.9	56.1	5.10	0.10
ECC alto	48.0	52.8	6.88	0.61
Geral	48.3	55.4	4.63	0.26
d 70 (2ª IATF)				
ECC baixo	38.2	28.6	9.97	0.42
ECC alto	33.1	48.9	9.65	0.25
Geral	36.2	38.7	7.26	0.79
d 120 (touro)				
ECC baixo	12.4	9.45	3.90	0.58
ECC alto	15.0	11.4	4.71	0.59
Geral	13.6	10.2	2.92	0.43
d 120 (IATFs + touro)				
ECC baixo	82.3	77.3	5.44	0.40
ECC alto	80.6	87.4	6.47	0.35
Geral	81.7	82.1	4.12	0.94
Perda gestacional, % ³				
d 30 a 120				
ECC baixo	0.00	2.50	1.81	0.33
ECC alto	3.66	3.05	3.48	0.90
Geral	1.50	2.77	1.79	0.61
d 70 a 120				
ECC baixo	7.15	1.92	8.70	0.39
ECC alto	0.43	12.3	10.8	0.33
Geral	3.65	16.5	6.30	0.16

¹ Salina - solução de 0,9% de NaCl, e a Cu Zn (Suplenut®, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil) solução de 15 mg/mL de Cu e 50 mg/mL de Zn. Ambas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no lado direito da tábua do pescoço de cada animal.

² Nos protocolos de IATF, no momento da retirada da P4, todas as vacas foram pintadas na região sacral com bastão marcador de cera (RaidexMaxi; RAIDEX GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha), e no momento da IATF foi avaliada a expressão do estro e classificada em escores de acordo com remoção de tinta na região sacral: 1 – sem remoção de tinta = sem manifestação de estro; 2 – má remoção da tinta = baixa expressão do estro; 3 – remoção total da tinta = alta expressão do estro (Rodrigues et al., 2019).

^{a-b} Dentro de uma linha, letras diferentes em sobrescrito diferem ($P \leq 0,05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0,10$).

³ As novilhas foram classificadas em dois grupos (alto e baixo ECC) de acordo com a mediana do ECC obtido nos d 30, 70 e 120. No d 30, a média do ECC foi de $5,90 \pm 0,68$ (baixo ECC), $6,41 \pm 0,79$ (alto ECC) e $6,06 \pm 0,76$ (geral). No d 70, a média do ECC foi de $5,87 \pm 0,41$ (baixo ECC), $6,04 \pm 0,72$ (alto ECC) e $5,92 \pm 0,59$ (geral). No dia 120, a média do ECC foi de $6,60 \pm 0,97$ (baixo ECC), $7,00 \pm 1,01$ (alto ECC) e $6,98 \pm 1,01$ (geral).

Tabela 4. Variáveis corporais e reprodutivas de vacas primíparas recebendo solução salina (Salina) ou solução de cobre e zinco (CuZn) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -11; Experimento 2)

Itens	Tratamentos ¹		SEM	P-value	
	Salina	CuZn		Tratamento	Tratamento × dia
Número de animais	170	167			
<i>Variáveis corporais</i>					
Peso corporal (PC), kg				0.98	0.82
d-11	410	409	7.25		
d 30	406	405	7.25		
d 70	416	415	7.94		
d 120	388	392	7.32		
Mudança de PC, kg					
d -11 a 30	-1.29	-3.04	8.48	0.50	-
d 30 a 70	10.6	11.1	8.37	0.74	-
d 70 a 120	-19.2	-18.4	25.2	0.89	-
d -11 a 120	-11.5	-10.4	42.0	0.85	-
Pontuação da condição corporal (ECC), 1 – 9				0.88	0.71
d-11	5.02	5.00	0.09		
d 30	5.22	5.38	0.09		
d 70	5.20	5.24	0.09		
d 120	5.49	5.44	0.09		
Alteração ECC, 1 – 9					
d -11 a 30	0.20	0.38	0.14	0.71	-
d 30 a 70	-0.02	-0.14	0.07	0.74	-
d 70 a 120	0.20	0.20	0.07	0.97	-
d -11 a 120	0.47	0.44	0.13	0.45	-
<i>Variáveis de estro^{2, 3}</i>					
Escore de estro (d 0), 1 – 3					
d 0					
ECC baixo	2.44	2.41	0.17	0.78	
ECC alto	2.68	2.49	0.09	0.03	
Geral	2.58	2.44	0.10	0.05	
d 50					
ECC baixo	2.23	2.43	0.16	0.35	
ECC alto	2.35	2.58	0.15	0.12	
Geral	2.34	2.55	0.11	0.08	
Taxa de expressão de cio, % ^{2, 3}					
d 0					
ECC baixo	80.9	83.8	9.49	0.59	
ECC alto	93.3	83.6	3.70	0.03	
Geral	89.2	84.4	3.99	0.17	
d 41					
ECC baixo	82.4	80.8	8.25	0.88	
ECC alto	79.8	90.4	7.46	0.14	
Geral	82.6	89.1	6.13	0.28	
Taxa de prenhez, % ³					

d 30 (1ª IATF)				
ECC baixo	52.7	61.7	5.00	0.09
ECC alto	55.7	54.7	4.89	0.88
Geral	53.9	56.4	4.02	0.65
d 70 (2ª IATF)				
ECC baixo	58.7	42.2	10.4	0.25
ECC alto	41.9	53.4	7.02	0.26
Geral	48.1	49.9	5.98	0.82
d 120 (touro)				
ECC baixo	3.65	3.25	2.98	0.90
ECC alto	5.27	3.57	3.10	0.60
Geral	4.70	3.53	2.54	0.62
d 120 (IATFs + touro)				
ECC baixo	68.9	75.4	6.00	0.42
ECC alto	71.3	70.4	7.48	0.87
Geral	72.9	74.2	5.67	0.78
Perda gestacional, % ³				
d 30 a 120				
ECC baixo	19.7	9.96	6.37	0.26
ECC alto	6.24	12.6	3.60	0.23
Geral	10.4	11.7	3.22	0.78
d 70 a 120				
ECC baixo	9.74	0.97	4.90	0.10
ECC alto	0.27	2.23	1.57	0.30
Geral	3.35	0.68	2.39	0.31

¹ Salina - solução de 0,9% de NaCl, e a Cu Zn (Suplenut®, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil) solução de 15 mg/mL de Cu e 50 mg/mL de Zn. Ambas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no lado direito da tábua do pescoço de cada animal.

² Nos protocolos de IATF, no momento da retirada da P4, todas as vacas foram pintadas na região sacral com bastão marcador de cera (RaidexMaxi; RAIDEX GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha), e no momento da IATF foi avaliada a expressão do estro e classificada em escores de acordo com remoção de tinta na região sacral: 1 – sem remoção de tinta = sem manifestação de estro; 2 – má remoção da tinta = baixa expressão do estro; 3 – remoção total da tinta = alta expressão do estro (Rodrigues et al., 2019).

^{a-b} Dentro de uma linha, letras diferentes em sobrescrito diferem ($P \leq 0,05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0,10$).

³ As vacas foram classificadas em dois grupos (alto e baixo ECC) de acordo com a mediana do ECC obtido nos d 30, 70 e 120. No d 30, a média do ECC foi de $5,20 \pm 0,67$ (baixo ECC), $5,52 \pm 0,76$ (alto ECC) e $5,40 \pm 0,72$ (geral). No d 70, a média do ECC foi de $5,14 \pm 0,59$ (baixo ECC), $5,35 \pm 0,70$ (alto ECC) e $5,27 \pm 0,67$ (geral). No d 120, a média do ECC foi de $5,18 \pm 0,59$ (baixo ECC), $5,63 \pm 0,79$ (alto ECC) e $5,49 \pm 0,76$ (geral).

Tabela 5. Variáveis corporais e reprodutivas de vacas multíparas recebendo solução salina (Salina) ou solução de cobre e zinco (CuZn) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -11; Experimento 2)

Itens	Tratamentos ¹		SEM	P-value	
	Salina	CuZn		Tratamento	Tratamento × dia
Número de animais	435	436			
<i>Variáveis corporais</i>					
Peso corporal (PC), kg				0.25	0.51
d-11	442	442	3.78		
d 30	450	450	3.78		
d 70	457	451	4.25		
d 120	469	468	3.79		
Mudança de PC, kg					
d -11 a 30	6.72	7.12	3.90	0.72	
d 30 a 70	11.4	11.6	6.45	0.89	
d 70 a 120	7.24	0.64	17.11	0.14	
d -11 a 120	21.7	23.1	12.14	0.69	
Pontuação da condição corporal (ECC), 1 – 9				0.63	0.89
d-11	4.82	4.80	0.05		
d 30	5.11	5.08	0.05		
d 70	5.08	5.06	0.07		
d 120	5.44	5.44	0.05		
Alteração ECC, 1 – 9					
d -11 a 30	0.29	0.28	0.09	0.77	
d 30 a 70	-0.03	-0.02	0.05	0.25	
d 70 a 120	0.36	0.34	0.07	0.81	
d -11 a 120	0.62	0.64	0.09	0.86	
<i>Variáveis de estro^{2, 3}</i>					
Escore de estro (d 0), 1 – 3					
d 0					
ECC baixo	2.69	2.66	0.04	0.68	
ECC alto	2.71	2.72	0.05	0.93	
Geral	2.70	2.69	0.04	0.76	
d 50					
ECC baixo	2.49	2.52	0.13	0.78	
ECC alto	2.39	2.52	0.12	0.36	
Geral	2.49	2.56	0.10	0.36	
Taxa de expressão de cio, % ^{2, 3}					
d 0					
ECC baixo	92.3	93.1	1.97	0.72	
ECC alto	92.1	92.7	2.40	0.81	
Geral	92.5	93.2	1.66	0.71	
d 41					
ECC baixo	84.1	84.0	6.23	0.98	
ECC alto	73.5	83.1	6.13	0.18	
Geral	81.1	85.3	4.54	0.31	
Taxa de prenhez, % ³					

d 30 (1ª IATF)				
ECC baixo	61.1	64.8	3.46	0.40
ECC alto	64.6	59.0	3.49	0.26
Geral	62.6	62.3	2.60	0.91
d 70 (2ª IATF)				
ECC baixo	52.9	56.3	5.42	0.65
ECC alto	56.1	47.1	6.02	0.28
Geral	54.4	51.8	3.93	0.64
d 120 (touro)				
ECC baixo	8.91	4.79	2.77	0.14
ECC alto	6.46	9.82	2.35	0.21
Geral	7.11	6.51	1.72	0.73
d 120 (IATFs + touro)				
ECC baixo	83.9	84.4	3.35	0.90
ECC alto	86.5	86.1	3.53	0.90
Geral	84.9	84.7	2.92	0.94
Perda gestacional, % ³				
d 30 a 120				
ECC baixo	8.41	6.34	2.54	0.44
ECC alto	8.85	5.20	2.31	0.28
Geral	7.78	5.43	1.51	0.27
d 70 a 120				
ECC baixo	3.24	1.16	1.54	0.35
ECC alto	0.02	3.87	1.71	0.11
Geral	1.91	2.43	1.18	0.75

¹ Salina - solução de 0,9% de NaCl, e a Cu Zn (Suplenut®, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil) solução de 15 mg/mL de Cu e 50 mg/mL de Zn. Ambas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no lado direito da tábua do pescoço de cada animal.

² Nos protocolos de IATF, no momento da retirada da P4, todas as vacas foram pintadas na região sacral com bastão marcador de cera (RaidexMaxi; RAIDEX GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha), e no momento da IATF foi avaliada a expressão do estro e classificada em escores de acordo com remoção de tinta na região sacral: 1 – sem remoção de tinta = sem manifestação de estro; 2 – má remoção da tinta = baixa expressão do estro; 3 – remoção total da tinta = alta expressão do estro (Rodrigues et al., 2019).

^{a-b} Dentro de uma linha, letras diferentes em sobrescrito diferem ($P \leq 0,05$) ou tendem a diferir ($P \leq 0,10$).

³ As vacas foram classificadas em dois grupos (ECC alto e baixo) de acordo com a mediana do ECC obtido nos d 30, 70 e 120. No d 30, a média do ECC foi $5,44 \pm 0,88$ (baixo ECC), $5,52 \pm 0,76$ (alto ECC) e $5,04 \pm 0,79$ (geral). No d 70, a média do ECC foi de $5,44 \pm 1,03$ (baixo ECC), $5,35 \pm 0,70$ (alto ECC) e $5,02 \pm 0,88$ (geral). No d 120, a média do ECC foi de $5,09 \pm 0,61$ (baixo ECC), $5,76 \pm 1,03$ (alto ECC) e $5,38 \pm 0,88$ (geral).

Tabela 6. Variáveis sanguíneas de novilhas recebendo solução salina (Salina) ou solução de cobre e zinco (CuZn) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -9 e -11; Experimentos 1 e 2, respectivamente).

Itens	Tratamentos ¹		SEM	P-values	
	Saline	CuZn		Tratamento	Tratamento × dia
Exp. 1					
Número de animais	15	14			
Cu, µg/dL	52.1	49.2	2.60	0.47	0.61
Zn, µg/dL	51.9	48.1	4.60	0.58	0.91
Haptoglobina (mg/mL)	0.40	0.41	0.02	0.69	0.25
Ceruloplasmina	16.4	16.6	0.54	0.75	0.97
Cortisol (ug/dL)	3.05	3.52	0.24	0.18	0.73
Exp. 2					
Número de animais	10	10			
Cu, µg/dL	49.0	69.9	3.79	0.008	0.28
Zn, µg/dL	59.8	67.8	7.72	0.56	0.17

¹A solução salina tinha 0,9% de NaCl, e a CuZn (Suplenut, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil) continha 15 e 50 mg/mL de Cu e Zn, respectivamente. Ambas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no lado direito de cada animal.

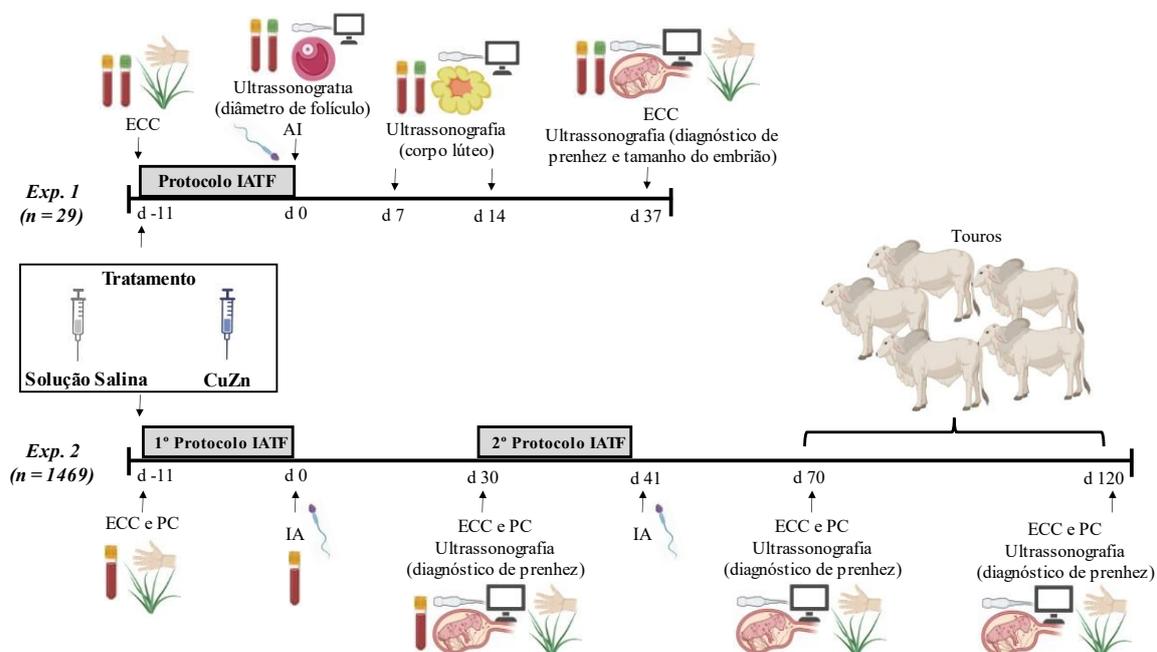


Figura 1. Esquema do protocolo de IATF realizado nos experimentos 1 e 2. As fêmeas designadas para o tratamento com solução salina receberam uma injeção (5 mL/vaca) de 0,9% de NaCl, e as fêmeas designadas para solução CuZn. Todas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF; d-9 a d 0; inseminado em d 0) no lado direito de cada animal. Abreviações não definidas na figura: escore de condição corporal (ECC), inseminação artificial (IA) e peso corporal (PC).

CAPÍTULO 3 - Efeitos de uma injeção de minerais injetáveis (Cu, Zn, Se e Mn) e vitaminas (A e E) sobre a reprodução e a resposta inflamatória de fêmeas bovinas *Bos indicus* sincronizadas à IA em tempo fixo

O artigo a seguir está redigido de acordo com as exigências para publicação da Theriogenology.

CAPÍTULO 3 - Efeitos de uma injeção de minerais injetáveis (Cu, Zn, Se e Mn) e vitaminas (A e E) sobre a reprodução e a resposta inflamatória de fêmeas bovinas *Bos indicus* sincronizadas à IA em tempo fixo

Luana Gomes da Silva ^{1,2}, Marcelo Vedovatto ^{3*}, Eduardo Assis ¹, Juliana Ranches⁴, Fábio José Carvalho Faria ¹, Luiz Carlos Louzada Ferreira², Reuel Luiz Gonçalves⁵, Aldair Félix da Silva ¹, Douglas Gomes ¹, Willian Vaniel Alves dos Reis ¹, Gumercindo Lorian Franco ¹

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 79074-460, Brasil.

²Cia Pecuária Assessoria, Campo Grande, MS, 79003-140, Brasil.

³Dean Lee Research and Extension Center, Louisiana State University, Alexandria, LA, 71302, USA.

⁴Eastern Oregon Agricultural Research Center, Oregon State University, Burns, OR 97720, EUA.

⁵Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, 80810-000, Brasil.

*Autor para correspondência: mv.vedovatto@gmail.com

RESUMO

No experimento 1 o objetivo foi avaliar os efeitos da injeção de minerais injetáveis (Cu, Zn, Se e Mn) e vitaminas (A e E) (TMVI) sobre a reprodução e a resposta inflamatória de fêmeas Nelore. No Exp. 1, 68 multíparas foram sincronizadas a um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (d -11 a d 0; inseminadas em d 0). Em d-11, as vacas foram alocadas em 5 mL/vaca de solução salina ou 5 mL/vaca de TMVI (10, 40, 10 e 5 mg/mL de, Zn, Mn e Se, e 59500 e 50 UI/mL de vitaminas A e E, respectivamente). O tamanho do folículo dominante foi avaliado em d 0, corpo lúteo em d 7 e 14 e taxa de prenhez (TP) em d 37. Amostras de sangue foram coletadas (n = 12/tratamento) e as concentrações plasmáticas de progesterona foram avaliadas nos d 7 e 14, e Zn séricos em d -11, 0 e 37, e haptoglobina plasmática, ceruloplasmina plasmática e cortisol sérico em d -11, 0, 7, 14 e 37. Vacas tratadas com TMVI vs. Salina tenderam a ter maior ($P = 0,10$) concentração plasmática de progesterona em d 14, mas não em d 7 ($P = 0,63$), e tiveram maior ($P = 0,05$) taxa de prenhez em d 37. Vacas tratadas com TMVI vs Salina tenderam ($P = 0,09$) a ter menor haptoglobina em d 37 ($P = 0,09$), e apresentaram menor concentração de cortisol durante todo o estudo ($P = 0,05$). No Exp. 2, 866 multíparas, 341 primíparas e 263 novilhas foram sincronizadas ao protocolo IATF de d -11 a d 0. Em d-11, as fêmeas foram designadas para tratamentos com salina ou TMVI como em Exp.1. A gestação foi avaliada nos dias 30, 70 e 120 e amostras de sangue foram coletadas de multíparas (n = 12/tratamento) nos dias -11, 0 e 30 para avaliação das concentrações séricas de e Zn. Fêmeas não prenhes em d 30 foram ressincronizadas em um novo protocolo, e não prenhes em d 70 foram expostas a touros a uma taxa de 1/40. O TMVI aumentou a TP em novilhas com escore de condição corporal (ECC) < 5 em d 30 (48,2 vs. 63,1 \pm 5,61%; $P = 0,05$), e tenderam a aumentar a TP em d 120 (81,6 vs. 88,3 \pm 3,21%; $P = 0,10$) independente do ECC. Em primíparas, o TMVI tendeu a aumentar a TP em d 30 em vacas com ECC < 5 (54,1 vs. 67,8 \pm 5,19; $P = 0,09$). Nas multíparas, o TMVI tendeu a aumentar ($P = 0,10$) a concentração de Cu em d 0. A aplicação de TMVI no início de um protocolo de IA com tempo fixo reduziu as respostas inflamatórias e melhorou as variáveis de reprodução, principalmente em fêmeas com baixa ECC.

Palavras-chave: ECC, cortisol, haptoglobina, gravidez

1. Introdução

Os minerais injetáveis (Cu Zn, Se e Mn) e vitaminas (A e E) são importantes para a saúde, crescimento e fertilidade em bovinos de corte (NASEM, 2016). Para animais em pastejo, a forragem nem sempre atende às necessidades de microminerais (MM) e vitaminas, e a suplementação é frequentemente necessária. O método convencional de fornecimento é através de suplemento mineral e vitamínico de livre escolha. No entanto, essa estratégia leva a uma alta variabilidade na ingestão de suplementos entre os animais de um mesmo rebanho (Ranches et al., 2021). Consequentemente, pode levar a baixos níveis séricos de MM e vitaminas em alguns animais. O uso de MM e injeção de vitaminas (TMVI), remove essa variabilidade e garante o fornecimento de uma quantidade conhecida para cada animal e aumenta rapidamente o MM e o nível sérico vitamínico dos animais (Pogge et al., 2012).

A injeção de MM tem a capacidade de melhorar a reprodução em vacas multíparas com baixos escores de condição corporal (ECC < 5; 1-9), mas não naquelas com bom ECC (≥ 5 ; Vedovatto et al., 2019a,b). Vedovatto et al. (2019a) também relataram que a injeção de MM no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) diminuiu o tamanho do corpo lúteo (CL) sem reduzir a concentração plasmática de progesterona. Os autores não conseguiram explicar a causa dessa redução da CL, mas suspeitaram de uma reação inflamatória leve causada pela injeção de MM.

Tem sido relatado que o uso de TMVI pode melhorar o mecanismo antioxidante e, assim, reduzir o estresse oxidativo em vacas (Bordignon et al., 2019; Vedovatto et al., 2019a,b). O estresse oxidativo tem sido associado à inflamação e à redução do desempenho reprodutivo, ou seja, afetando múltiplos processos fisiológicos, desde a maturação dos ovócitos até a fecundação, sobrevivência e desenvolvimento embrionário e manutenção da gestação (Agarwal et al. 2012). Portanto, a utilização do TMVI tem o potencial de melhorar o desempenho reprodutivo por meio da modulação do sistema antioxidante dos bovinos.

Nossa hipótese era que o TMVI melhoraria a reprodução de fêmeas de corte e essa melhora seria maior em fêmeas com baixo ECC, e maior em novilhas do que vacas primíparas ou multíparas. Além disso, levantamos a hipótese de que o uso do TMVI pode causar uma reação inflamatória leve e prejudicaria os folículos e o desenvolvimento da CL, porém sem prejudicar a taxa de prenhez em vacas de corte. Assim, os objetivos desses dois experimentos foram avaliar os efeitos do TMVI no início do protocolo de IATF sobre a reprodução e a resposta inflamatória de fêmeas Nelore.

Até onde sabemos, não temos conhecimento de manuscritos revisados por pares que descrevem os efeitos (durante toda a estação reprodutiva) de um TMVI na reprodução de vacas de corte.

2. Material e Métodos

Os protocolos experimentais foram revisados e aprovados pelo comitê de ética no uso de animais da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) sob o protocolo nº 754/2016.

2.1 Animais, tratamentos e coleta de amostras

2.1.1. Experimento 1

Um esquema descrevendo as principais atividades realizadas em Experimento 1 é apresentado na Figura 1. O estudo foi realizado na Fazenda Escola da UFMS em Terenos, MS, Brasil (20°26'50.8"S 54°50'21.5"W). Foram incluídas no estudo 68 vacas multíparas nelore [peso corporal (PC) = 448 ± 38,1 kg; ECC = 4,52 ± 0,84]. As fêmeas foram mantidas em uma única pastagem de 12 ha com capim-marandu como forrageira principal [*Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster, cv. Marandu] e tiveram livre escolha de acesso à água e ao suplemento mineral e vitamínico (Tabela 1).

O estudo teve início 11 dias antes da inseminação artificial (IA) e terminou 37 dias após a IA (d -11 a d 37). Em d-11, as vacas foram estratificadas por PC e ECC e, em seguida, distribuídas aleatoriamente em 1 de 2 tratamentos: 1) Salina; injeção de solução salina (NaCl 0,9%; 5 mL/vaca) ou 2) TMVI; uma injeção de solução de minerais injetáveis [Adaptador Min, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil; 10, 40, 10 e 5 mg/mL de (como edetato), Zn (como Zn edetato), Mn (como Mn edetate) e Se (como selenito de sódio) respectivamente; 5 mL/vaca] e outra injeção de solução vitamínica [Adaptador Vit, Biogénesis Bagó; 59500 e 50 UI/mL de vitamina A (como palmitato) e vitamina E (como acetato), respectivamente; 5 mL/vaca]. Todas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no lado direito de cada animal.

Todas as vacas foram designadas para um protocolo de IATF de d -11 a 0. Em d-11, as vacas receberam uma injeção intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis, São Paulo, Brasil) e um dispositivo intravaginal liberador de progesterona monodose contendo 0,5 g de progesterona (P4; CIDR; Zoetis) foi inserida. Em d-2 foi retirado o dispositivo de progesterona e injeção intramuscular de PGF2 α (12,5 mg/vaca; Lutalyse; Zoetis), cipionato de estradiol (1 mg/vaca; PEC; Zoetis) e eCG (300 UI/vaca; Novormon;

Zoetis) foram aplicadas. No d 0, todas as vacas foram inseminadas pelo mesmo técnico utilizando sêmen do mesmo touro Nelore.

O diâmetro do folículo dominante (d 0), diâmetro CL (d 7 e 14), estado gestacional e tamanho do concepto (coroa-garupa e tórax; d 37) foram avaliados por ultrassonografia transretal (transdutor de 7,5 MHz; Mindray DP 2200 VET, Shenzhen, China). O volume da CL (cm³) foi calculado usando a fórmula para o volume da esfera [$V = 4/3\pi(D/2)^3$] onde D é o diâmetro máximo (mm) da CL. O ECC (escala 1-9) foi avaliado no d-11 e d 37 de acordo com Herd e Sprott (1986) por um único avaliador, cego para os tratamentos.

Amostras de sangue foram coletadas de uma subamostra de 12 vacas/tratamento, da veia coccígea em d-11, 0, 7, 14 e 37 em tubos de coleta de sangue de 10 mL (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, EUA) com heparina sódica (para coleta de plasma) e sem heparina sódica (para coleta de soro). Imediatamente após a coleta, as amostras de sangue foram armazenadas em gelo e, em seguida, centrifugadas a $1200 \times g$ por 30 min para separação e coleta de plasma e soro. As amostras foram armazenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior análise plasmática de progesterona, haptoglobina e ceruloplasmina e concentração sérica de, Zn e cortisol. Progesterona foi analisada em d 7 e 14, haptoglobina, ceruloplasmina e cortisol em d -11, 0, 7, 14 e 37 e e Zn em d -11, 0 e 37.

Amostras de forragem foram coletadas utilizando a técnica de amostragem manual realizada em 3 momentos (d -11, 30, 60). Em seguida, as amostras foram secas em estufa de ventilação a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 dias, trituradas a 1 mm e combinadas em uma única amostra composta para posterior análise da composição química.

2.1.2 Experimento 2

Um esquema descrevendo as principais atividades realizadas em Experimento 2 é apresentado na Figura 1. O estudo foi realizado em uma fazenda comercial de bezerros (Fazenda Seriema), localizada em Miranda-MS, Brasil ($20^{\circ}24'02.0''\text{S}$ $1935\ 56^{\circ}18'11.2''\text{W}$). Um total de 1470 fêmeas Nelore foram incluídas no estudo. Um total de 866 multíparas [PC = $441 \pm 44,8$ kg; ECC = $4,81 \pm 0,66$] foram manejados em 13 grupos [67 ± 34 vacas/grupo], 341 primíparas [PN = $407,6 \pm 36,8$ kg; ECC = $5,04 \pm 0,54$] foram manejados em 7 grupos [33 ± 23 vacas/grupo] e 263 novilhas [peso = $334,5 \pm 30,1$ kg; ECC = $6,08 \pm 0,76$] foram manejados em 3 grupos [87 ± 17 novilhas/grupo]. As vacas pastejavam capim-marandú [*Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster, cv. Marandu], em método de pastejo rotacionado, e tinham livre escolha de acesso à água e ao suplemento mineral e vitamínico (Tabela 1).

O estudo começou 11 dias antes da IA e terminou 120 dias após a IA (d-11 a d 120). No d-11, dentro de cada grupo de manejo, as fêmeas foram aleatoriamente distribuídas em 1 de 2 tratamentos: Salina ou TMVI, conforme descrito no Exp. 1. No d -11, as vacas receberam uma injeção intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis, São Paulo, Brasil) e um dispositivo intravaginal de liberação de progesterona contendo 1,9 g de progesterona e as novilhas o dispositivo intravaginal de liberação de progesterona foi previamente utilizado por duas vezes (P4; CIDR; Zoetis). No d -2, o dispositivo de progesterona foi removido e aplicadas injeções intramusculares de PGF2 α (12,5 mg/vaca; Lutalyse; Zoetis), cipionato de estradiol (0,6 mg/vaca; ECP; Zoetis) e eCG (300 UI/primípara e múltipara; 200 IU/novilhas; Novormon; Zoetis). No d 0, todas as fêmeas do mesmo grupo foram inseminadas pelo mesmo técnico e utilizando sêmen do mesmo touro Nelore. A taxa de prenhez foi diagnosticada por ultrassom (Mindray DP 2200 VET com transdutor de 7,5 MHz) nos dias 30, 70 e 120. Fêmeas não prenhes em d 30 foram resincronizadas em um novo protocolo, e não prenhes em d 70 foram expostas a touros a uma taxa de 1/40. Os touros foram retirados no dia 120 quando foi realizado o diagnóstico final de prenhez.

Doze vacas múltiparas por tratamento do mesmo grupo de manejo foram selecionadas aleatoriamente para coleta de sangue. As amostras foram coletadas da veia coccígea em d-11, 0 e 30, em tubos de coleta de sangue de 10 mL sem heparina sódica, processados conforme descrito no Exp. 1 e armazenados a -20 °C para posterior análise de Cu e Zn.

Amostras de forragem foram coletadas utilizando a técnica de amostragem manual realizada em 3 momentos (d -11, 30, 120). Em seguida, as amostras foram secas em estufa de ventilação a 60 °C por 5 dias, trituradas a 1 mm e combinadas em uma única amostra composta para posterior análise da composição química.

2.2 Análise laboratorial

Amostras de forragem (Exp. 1 e 2) foram analisadas de acordo com (AOAC., 2000): matéria seca (MS), método 930.15; proteína bruta (PB), método 976,05; extrato etéreo (EE), método 920.39 e cinzas, método 942.05. As concentrações de lignina, fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) foram analisadas conforme descrito por Van Soest et al (1991). As concentrações de nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculadas conforme descrito por Weiss et al (1992), e a energia líquida para manutenção (NEm) e ganho (NEg) pelas equações propostas pelo NASEM (2016). A concentração de minerais na forragem foi analisada pelo laboratório de pesquisa da Fundação ABC (Fundação ABC, Castro, PR, Brasil).

As concentrações plasmáticas de progesterona foram determinadas usando um ensaio imunoenzimático quimioluminescente competitivo de fase sólida (IMMULITE 1000, Diagnostics Products Corp.) previamente validado para amostras de bovinos (Martin et al., 2007). A faixa detectável e o CV intra-ensaio para as concentrações plasmáticas de progesterona foram de 3,15 a 9,90 ng/mL e 1,32%, respectivamente. As concentrações séricas de e Zn foram analisadas por um laboratório comercial (Axys Análises, Porto Alegre, RS, Brasil). As concentrações plasmáticas de haptoglobina foram analisadas conforme descrito por Cooke e Arthington (2013) e de ceruloplasmina conforme descrito por Demetriou et al (1974). Os CV inter e intra-ensaio foram 3,9% e 9,4% para haptoglobina e 2,0% e 4,3% para ceruloplasmina, respectivamente. As amostras foram analisadas para cortisol (Immulite 1000; Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, CA, EUA) conforme descrito anteriormente (Cooke et al., 2017) devido à reatividade cruzada de 100% entre cortisol bovino e humano, e realizado dentro de um único ensaio com um CV intraensaio de 8,52%.

2.3 Análise estatística

Para todas as análises, o animal foi considerado a unidade experimental. No Exp. 1, a mudança de PC e ECC, as variáveis ovarianas, o tamanho do concepto e as variáveis plasmáticas e séricas foram testadas usando o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC; versão 9.4) com aproximação de Satterthwaite para determinar os graus de liberdade do denominador para o teste de efeitos fixos. Dados de alteração da ECC, variáveis ovarianas, progesterona plasmática e tamanho do concepto foram testados para efeito fixo do tratamento, usando animal (tratamento) como efeito aleatório e ECC obtidos em d -11 como covariável. Dados de ECC, concentrações séricas de Cu e Zn, e cortisol e concentrações plasmáticas de haptoglobina e ceruloplasmina foram analisados como medidas repetidas e testados para efeitos fixos de tratamento, dia e interação resultante, usando animal (tratamento) como variável aleatória e sujeito, e ECC obtidos em d -11 como covariável. Os resultados de d-11 de cada respectiva variável também foram incluídos como covariáveis, mas retirados do modelo quando $P > 0,10$. As estruturas de covariância foram selecionadas de acordo com os menores valores da tabela de informações de Akaike. As taxas de prenhez foram analisadas pelo procedimento GLIMMIX da SAS com opção de distribuição binomial e aproximação de Satterthwaite para determinar os graus de liberdade do denominador para testes de efeitos fixos.

As matrizes bovinas foram classificadas em dois grupos (alto e baixo ECC) de acordo com a mediana do ECC obtido nos d 30, 70 e 120. O modelo foi testado para o efeito fixo do

tratamento, utilizando vaca (tratamento) como efeito aleatório e ECC obtida em d-11 como covariável. Significância foi definida quando $P \leq 0,05$ e tendência quando $0,05 < P \leq 0,10$.

3. Resultados

3.1. Experimento 1

As vacas tratadas com TMVI vs. Salina tenderam a ter maior ($P = 0,10$) concentração plasmática de progesterona em d 14, mas não em d 7 ($P = 0,63$), e tiveram maior ($P = 0,05$) taxa de prenhez em d 37 (Tabela 2). Não foram detectados efeitos do tratamento ($P = 0,21$) ou do tratamento \times dia ($P = 0,20$) para a ECC, nem ($P \geq 0,18$) para a alteração da ECC, diâmetro do folículo dominante, tamanho do CL e, tamanho do concepto (Tabela 2).

As vacas tratadas com TMVI tenderam a ter efeito de interação (tratamento \times dia; $P = 0,09$) com menor concentração plasmática de haptoglobina em d 37 (Figura 2), e teve (efeitos do tratamento; $P = 0,05$) menor concentração sérica de cortisol ao longo do experimento (Tabela 3). Sem efeitos do tratamento ou tratamento \times dia ($P \geq 0,30$) foram detectadas para concentração sérica de Cu e Zn, e concentração plasmática de ceruloplasmina (Tabela 3).

3.2. Experimento 2

Nenhum efeito do tratamento ou tratamento \times dia ($P \geq 0,73$) foram detectados para a concentração sérica de Zn (Tabela 3), no entanto, vacas tratadas com TMVI vs. soro fisiológico tenderam a ter maior (efeito do tratamento \times dia; $= 0,10$) concentração sérica de em d 0 (Figura 3), 11 dias após a administração do tratamento.

As novilhas tratadas com TMVI vs. Salina tenderam a ter ($P = 0,08$) maior variação do PC de d -11 para d 120 e maior ($P = 0,10$) mudança da ECC de d 30 para d 70 (Tabela 4).

No d 30, a taxa geral de prenhez tendeu a ser maior ($P = 0,10$) para novilhas tratadas com TMVI vs. Salina. Curiosamente, a administração do TMVI melhorou ($P = 0,05$) a taxa de prenhez em d 30 de novilhas com baixa ECC, mas não naquelas com alta ECC ($P = 0,85$; Tabela 4). Além disso, no d 120, as novilhas tratadas com TMVI vs. Salina tenderam a ter uma maior taxa de prenhez ($P = 0,10$; prenhes por IATF + touros) independentemente da ECC (Tabela 4). Não foram detectados efeitos do tratamento ($P \geq 0,15$) para perda gestacional (Tabela 4).

Não foram observados efeitos do tratamento, do dia ou da interação sobre o PC e ECC e essas variáveis se alteram em vacas primíparas ($P \geq 0,52$).

As vacas primíparas tratadas com TMVI vs. Salina tenderam a ter ($P = 0,09$) maior taxa de prenhez em d 30 em vacas com baixo ECC (< 5), mas não naquelas ($P = 0,83$) com ECC alto (≥ 5 ; Tabela 5).

Não foram observados efeitos do tratamento, dia ou interação ($P \geq 0,11$) para a mudança do PC e da ECC, taxa de prenhez e perda de prenhez em vacas múltíparas (Tabela 6).

4. Discussão

Os MM e as vitaminas são imprescindíveis para o crescimento adequado dos animais e as deficiências estão associadas a menores taxas de crescimento (NASEN, 2016). No presente experimento, a administração de TMVI aumentou o PC e a ECC apenas em novilhas, mas não em vacas primíparas e múltíparas. Outros estudos relataram melhora no PC por injeção de MT em novilhas (Arthington et al., 2014) e menor efeito (Vedovatto et al., 2019a) ou nenhum efeito (Vedovatto et al., 2019b) sobre o PC ou ECC em vacas múltíparas injetadas com MM. A ausência de efeitos do TMVI em primíparas e múltíparas pode estar associada ao peso maduro, visto que múltíparas já atingiram o peso maduro e primíparas estavam próximas de atingi-lo em relação às novilhas que estavam em fase de crescimento. Embora o consumo de forragem não tenha sido mensurado no presente estudo, uma explicação plausível para o maior crescimento de novilhas tratadas com TMVI pode estar associada ao maior consumo de forragem, conforme sugerido por Hartman et al. (2018), onde novilhas que receberam injeção de MM tenderam a aumentar o consumo de matéria seca de forma voluntária. No entanto, no presente estudo, a oferta de forragem foi semelhante entre as pastagens/grupos e os resultados observados sobre o crescimento dos bovinos são provavelmente devidos à administração do tratamento.

O TMVI não afetou as variáveis ovarianas e o tamanho do concepto. Em outros estudos, não houve efeitos da injeção de MM na morfologia ovariana, população de folículos e desenvolvimento folicular em vacas e novilhas de corte (Maldonado et al., 2017; Stokes et al., 2018; Vedovatto et al., 2019b) ou injeção de MM reduziu o tamanho da CL sem afetar a produção de progesterona (Vedovatto et al., 2019a). Embora seja bem aceito que o tamanho da CL esteja positivamente correlacionado com a concentração plasmática de progesterona (Kastelic et al., 1990), no presente estudo, a administração de TMVI aumentou a progesterona plasmática sem afetar o tamanho da CL. Algumas explicações para esses resultados podem estar relacionadas à maior produção de enzimas antioxidantes em vacas tratadas com TMVI, o que foi previamente observado por nosso grupo em estudos com delineamento semelhante. Em dois estudos realizados pelo nosso grupo no mesmo local, a injeção de MM aumentou a concentração plasmática de superóxido dismutase e glutatona peroxidase em vacas (Vedovatto

et al., 2019a,b). Uma maior concentração de enzimas antioxidantes poderia reduzir a concentração de espécies reativas de oxigênio (ROS), que funcionam como reguladores intracelulares da esteroidogênese e liberação de progesterona a partir do CL (Fujii et al., 2005).

O TMVI reduziu a concentração plasmática de haptoglobina e a concentração sérica de cortisol e não afetou a concentração plasmática de ceruloplasmina. Embora haptoglobina e cortisol teoricamente não se correlacionem com Cu, Zn, Mn e Se, em um estudo realizado por Arthington et al (2014) a injeção de MM aumentou as concentrações plasmáticas de haptoglobina em 6–10 d após a injeção (1 mL/45kg de PC) em novilhas mestiças Brangus, indicando uma possível reação inflamatória. Com base nesse estudo, Caramalac et al. (2021) avaliaram uma injeção de MM (1 mL/92kg de PC) ao desmame em novilhas Angus sobre reações inflamatórias, e não foram detectados efeitos sobre haptoglobina ou ceruloplasmina. Semelhante a isso, em dois estudos conduzidos pelo nosso grupo (Vedovatto et al., 2019a,b), a injeção de MM (~1mL/66 kg de PC) antes do protocolo de IATF em vacas de corte Nelore, também não afetou a concentração plasmática de ceruloplasmina e haptoglobina. No presente estudo, a dosagem utilizada (1 mL/89,6 kg de PC no Exp. 1) foi 2 × menor do que a utilizada por Arthington et al (2014) e poderia explicar a razão pela qual esse experimento provocou reações inflamatórias e não em nosso ou em outros estudos. No presente estudo, a redução da concentração de haptoglobina e cortisol em vacas tratadas com TMVI foi inesperada, e não encontramos fundamento na literatura para explicar esses resultados.

O presente estudo avaliou a concentração sérica de Cu e Zn, mas não de Mn e Se. A razão para avaliar e Zn, e não a concentração de Mn e Se no sangue, justifica-se pela abundância desses minerais na forragem do presente estudo. Cu e Zn foram deficientes, enquanto Mn e Se foram considerados adequados quando considerados os requisitos de NASEM (2016). Em relação a concentração de Cu e Zn, segundo Herdt and Hoff (2011) a concentração sérica normal de Cu em vacas, variou de 60 a 110 µg/dL. Em nosso estudo, no Exp. 1, a concentração sérica de variou de 33,7 a 69,9 µg/dL (média = $49,5 \pm 4,38$ µg/dL), e no Exp.2, variou de 30,5 a 91,6 µg/dL (média = $49,1 \pm 5,54$ µg/dL) em d -11. Assim, no presente estudo, as vacas apresentaram baixo nível sérico de Cu e várias foram deficientes neste mineral. Em relação à concentração de um Zn, segundo Herdt and Hoff (2011) a concentração normal variou de 60 a 190 µg/dL. No presente estudo, no Exp. 1, a concentração sérica de Zn variou de 14,3 a 107 µg/dL (média = $42,0 \pm 7,60$ µg/dL) e no Exp.2, variou de 33,6 a 126 µg/dL (média = $62,9 \pm 7,88$ µg/dL) no d-11. Então, nossas vacas tinham um baixo nível sérico de Zn e várias eram deficientes nesse mineral também. Comparando o nível sérico Cu vs. Zn, as vacas

apresentaram melhor nível sérico de Zn, o que é consistente com a concentração desses dois em nossas pastagens.

As concentrações séricas de Cu e Zn não foram afetadas pelo TMVI no Exp 1, mas no Exp. 2, as vacas tratadas com TMVI apresentaram maior concentração de Cu no d 0. O menor efeito do TMVI em aumentar a concentração sérica de Cu e Zn não significa que a injeção não foi eficiente para aumentar o nível sérico TM. Em um experimento conduzido por Pogge et al (2012), o plasma foi coletado antes da injeção de MM (tempo 0), e em 8 e 10 h pós-injeção, e em d 15, e a injeção de MM não afetou a concentração plasmática de em nenhum momento, e aumentou a concentração de Zn apenas até 10 h após a injeção, retornando à concentração basal após isso. Nossa primeira avaliação do nível sérico TM foi 11 dias após o TMVI, portanto, provavelmente o pico de concentração ocorreu antes disso, reduzindo assim a chance de detectar um efeito mais proeminente. O fígado armazena MM por mais tempo e é um tecido mais confiável para avaliar o nível sérico da MM do que o sangue (Pogge et al., 2012). No entanto, em nosso estudo, optamos por não coletar amostras de fígado para evitar qualquer reação inflamatória causada pela biópsia, pois é bem sabido que a inflamação causa prejuízo na reprodução (Ferreira et al., 2016).

O TMVI aumentou a taxa de prenhez em novilhas e primíparas no Exp. 2 e em multíparas no Exp. 1, e essa melhora foi detectada principalmente em fêmeas com baixo ECC. Em outros estudos, a injeção de TM também melhorou a taxa de prenhez apenas em vacas com $ECC \leq 5,0$ (Vedovatto et al., 2019a,b). No presente estudo, a maior taxa de prenhez em novilhas tratadas com TMVI pode ser atribuída à melhora do PC e do ECC em comparação com novilhas tratadas com soro fisiológico. O ECC é um indicador das reservas energéticas do animal, sendo que fêmeas com maior ECC apresentam maiores concentrações circulantes de alguns hormônios, como o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-I) e a leptina. As concentrações desses hormônios têm sido associadas à melhora do desempenho reprodutivo (Meikle et al., 2004). Outro fator que pode ter contribuído para o aumento da taxa de prenhez de novilhas tratadas com TMVI e provavelmente foi o principal fator em vacas primíparas e multíparas tratadas foi o aumento das concentrações plasmáticas das enzimas antioxidantes. A injeção de TM aumentou a concentração plasmática de superóxido dismutase e glutathione peroxidase em vacas de corte (Vedovatto et al., 2019a,b) e um TMVI em bezerros leiteiros diminuiu a lipoperoxidação plasmática e a concentração de ROS e aumentou a capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (Bordignon et al., 2019). Conforme descrito por Agarwal et al. (2012), as ROS afetam múltiplos processos fisiológicos, desde a maturação dos

ovócitos até a fecundação, sobrevivência e desenvolvimento embrionário e manutenção da gravidez.

As perdas gestacionais após d 30 não foram afetadas pela administração do TMVI no presente estudo. Não temos conhecimento de outros estudos que tenham avaliado os efeitos do TMVI na taxa de prenhez e nas perdas gestacionais durante toda a estação reprodutiva. As perdas gestacionais podem estar relacionadas ao estresse oxidativo (Agarwal et al., 2012), no entanto, as enzimas antioxidantes normalmente atingem o pico em uma a duas semanas após a injeção de TM ou suplementações de TMVI, e normalmente retornam à concentração basal antes de 30 d após a injeção (Bordignon et al., 2019; Vedovatto et al., 2019a,b). Assim, com base nisso, provavelmente nossas vacas tratadas com TMVI não tiveram melhora do sistema antioxidante para afetar as perdas de prenhez após d 30.

5. Conclusão

A administração do TMVI não afetou as variáveis ovarianas, mas tendeu a aumentar a concentração plasmática de progesterona. A taxa de prenhez foi melhorada pela administração de TMVI em novilhas, primíparas e múltiparas, mas esse aumento foi observado principalmente em fêmeas com baixa ECC (< 5). O TMVI não causou reações inflamatórias e a concentração plasmática de haptoglobina e cortisol sérico diminuiu durante o estudo. Assim, a administração do TMVI foi eficiente para melhorar a reprodução de fêmeas com baixa ECC, sem causar reações inflamatórias.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

- Agarwal, A., Aponte-Mellado, A., Premkumar, B.J., Xamã, A., Gupta, S., 2012. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 29, 10–49. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-49>.
- AOAC, 2000. *Official methods of analysis*. Association of Official Analytical Chemists, 17th ed. Gaithersburg, MD.
- Arthington, J.D., Moriel, P., Martins, P.G.M.A., Lamb, G.C., Havenga, L.J., 2014. Effects of trace mineral injections on measures of performance and trace minerals status of pre- and postweaned beef calves. *J. Anim. Sci.* 92, 2630–2640. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7164>.

- Bordignon, R., Volpato, A., Glombowsky, P., Souza, C.F., Baldissera, M.D., Secco, R., Pereira, W.A.B., Leal M.L.R., Vedovatto, M., Da Silva, A.S., 2019. Nutraceutical effect of vitamins and minerals on performance and immune and antioxidant systems in dairy calves during the nutritional transition period in summer. *J. Therm. Biol.* 84, 451-459. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.07.034>.
- Caramalac, L.S., Moriel, P., Ranches, J., Silva, G.M., Arthington, J.D., 2021. Comparison of injectable trace minerals vs. adjuvant on measures of innate and humoral immune responses of beef heifers. *Livest. Sci.* 251, 104665. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104665>.
- Cooke, R.F., Arthington, J.D., 2013. Concentrações de haptoglobina no plasma bovino determinadas por ELISA ou um método colorimétrico baseado na atividade da peroxidase. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 97, 531-536. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01298.x>.
- Cooke, R.F., Arthington, J.D., 2013. Concentrations of haptoglobin in bovine plasma determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 97, 531-536. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01298.x>.
- Cooke, R.F., Schubach, K.M., Marques, R.S., Peres, R.G., Silva, L.G.T., Carvalho, R.S., Cipriano, R.S., Bohnert, D.W., Pires, A.V., Vasconcelos, J.L.M., 2017. Effects of temperament on physiological, productive, and reproductive responses in *Bos indicus* beef cows. *J. Anim. Sci.* 95, 1–8. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.1098>.
- Demetriou, J.A., Drewes, P.A., Gin, J.B., 1974. Ceruloplasmin, in: Cannon D.C., Winkelman, J.W. (Eds), *Clinical chemistry*. Harper and Row, Hagerstown, MD. pp. 857–864.
- Ferreira, L.C., Cooke, R.F., Marques, R.S., Fernandes, H.J., Fernandes, C.E., Stelato, R., Franco, G.L., Lemos, R.A., 2016. Effects of vaccination against foot-and-mouth disease virus on reproductive performance of beef cows. *J. Anim. Sci.* 94, 401-405. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9537>.
- Fujii, J., Yoshihito, I., Okada, F., 2005. Papéis fundamentais das espécies reativas de oxigênio e mecanismos protetores no sistema reprodutor feminino. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 3, 43. <https://dx.doi.org/10.1186%2F1477-7827-3-43>.
- Fujii, J., Yoshihito, I., Okada, F., 2005. Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in the female reproductive system. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 3, 43. <https://dx.doi.org/10.1186%2F1477-7827-3-43>.

- Hartman, S.J., Genther-Schroeder, O.N., Hansen, S.L., 2018. Comparison of trace mineral repletion strategies in feedlot steers to overcome diets containing high concentrations of sulfur and molybdenum. *J. Anim. Sci.* 96, 2504–2515. <https://doi.org/10.1093/jas/sky088>.
- Herd, D., Sprott, L.S., 1986. Body condition, nutrition, and reproduction of beef cows. Texas A&M Univ. Ext. Bull. 1526. Texas A&M AgriLife Extension Service, College Station, TX.
- Herd TH, Hoff B. The Use of Blood Analysis to Evaluate Trace Mineral Status in Ruminant Livestock. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2011;27:255–83. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2011.02.004>.
- Kastelic, J.P., Bergfelt, D.R., Ginther, O.J., 1990. Relação entre a avaliação ultra-sônica do corpo lúteo e a concentração plasmática de progesterona em novilhas. *Theriogenology* 33, 1268–1278. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(90\)90045-U](https://doi.org/10.1016/0093-691X(90)90045-U).
- Maldonado, J.G., Santos, R.R., de Lara, R.R., Pena, O.G., 2017. Effect of an injectable TM complex supplementation on development of ovarian structures and serum copper and zinc concentration in over-conditioned Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.* 181, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.03.015>.
- Martin, J. L., Vonnahme, K.A., Adams, D.C., Lardy, G.P., Funston, R.N., 2007. Effects of dam nutrition on growth and reproductive performance of heifer calves. *J. Anim. Sci.* 85, 841-847. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-337>
- Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D, et al. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction* 2004;127:727–37. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00080>.
- NASEM, 2016. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. Nutrient Requirements of Beef Cattle Model. 8th Rev, ed. National Academic Press, Washington, DC.
- Pavlata, L., Podhorsky, A., Pechova, A., Chomat, P., 2005. Differences in the occurrence of selenium, copper and zinc deficiencies in dairy cows, calves, heifers and bulls. *Veterinarni Medicina – Czech* 50, 390–400. DOI: 10.17221/5638-VETMED.
- Pogge, D.J., Richter, E.L., Drewnoski, M.E., Hansen, S.L., 2012. Mineral concentrations of plasma and liver after injection with a trace mineral complex differ among Angus and Simmental cattle. *J. Anim. Sci.* 90, 2692–2698. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-4482>.
- Ranches, J., De Oliveira, R.A., Vedovatto, M., Palmer, E.A., Moriel, P., Arthington, J.D.. 2021. Use of radio-frequency identification technology to assess the frequency of cattle visits to

- mineral feeders. *Trop. Anim. Health. Prod.* 53, 341. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02784-2>.
- Stokes, R.S., Volk, M.J., Ireland, F.A., Gunn, P.J., Shike, D.W., 2018. Effect of repeated trace mineral injections on beef heifer development and reproductive performance. *J. Anim. Sci.* 96, 3943–3954. <https://doi.org/10.1093/jas/sky253>.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).
- Vedovatto, M., Moriel, P., Cooke, R. F., Costa, D. S., Faria, F. J. C., Cortada Neto, I. M., Bento, A. L. L., Rocha, R. F. A. T., Ferreira, L. C. L., Almeida, R. G., Santos, S. A., Franco, G. L., 2019a. Effects of a single trace mineral injection at beginning of fixed-time AI treatment regimen on reproductive function and antioxidant response of grazing Nellore cows. *Anim. Reprod. Sci.* 211, 106234. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106234>
- Vedovatto, M., Moriel, P., Cooke, R. F., Costa, D. S., Faria, F. J. C., Cortada Neto, I. M., Pereira, C. da S., Bento, A. L. D. L., de Almeida, R. G., Santos, S. A., Franco, G. L., 2019b. Effects of a single trace mineral injection on body parameters, ovarian structures, pregnancy rate and components of the innate immune system of grazing Nellore cows synchronized to a fixed-time AI protocol. *Livest. Sci.* 225, 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.05.011>
- Weiss, W.P., Conrad, P.H.R., St. Pierre, N.R., 1992. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 39, 95–110. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(92\)90034-4](https://doi.org/10.1016/0377-8401(92)90034-4).

Tabela 1. Composição química das forrageiras e garantia de níveis de suplementação de minerais e vitaminas de livre escolha (Exp. 1 e 2).

Itens	1 (Escola agrícola)	Exp. 2 (Operação comercial)	Requerimentos (NASEN, 2016) ^{1º}
<i>Pasto</i>			
g/kg de MS			
Proteína bruta	91.8	75.2	
Fibra em detergente neutro	643	716	
Fibra em detergente ácido	349	393	
Lignina	57.2	70.0	
Extrato etéreo	14.4	12.5	
Cinza	102	86.3	
Cálcio	1.98	1.77	
Fósforo	1.93	1.78	
Sódio	0.37	0.77	1.0
Potássio	25.9	22.5	7.0
Magnésio	2.28	2.02	2.0
Enxofre	0.9	1.00	1.5
NDT ²	572	546	
Mcal/kg de MS			
ELm ³	1.21	1.13	
ELg ³	0.65	0.57	
mg/kg de MS			
Ferro	431	109	50.0
Manganésio	158	91.8	40.0
Selênio	0.11	0.12	0.10
Zinco	26.9	20.7	30.0
Cobre	4.86	4.16	10.0
<i>Suplemento mineral livre escolha⁴</i>			
g/kg de MS			
Cálcio	196	140 – 190	
Fósforo	90	80	
Sódio	99	110	
Magnésio	20	10	
Enxofre	20	16	
mg/kg de MS			
Flúor	900	880	
Cobalto	200	61	
Iodo	180	55	
Ferro	2400	-	
Manganésio	1670	4682	
Selênio	40	11.8	
Zinco	3000	3273	
Cobre	1200	1091	
IU/kg			
Vitamina A	150000		
Vitamina D3	30000		
Vitamina E	1500		
Ingestão alvo, g/d	100	200	

¹Requisitos para vacas no início da lactação estabelecidos pela NASEN (2016).

²Calculado conforme descrito por Weiss et al (1992).

³Calculado utilizando as equações propostas pelo NASEM (2016).

⁴No Exp. 1 o suplemento mineral foi Mega Fós 90 Milk (AgroMega Indústria de Alimentos Animal), Tamboara, PR, Brasil) e no Exp. 2, foi Probeef 800 (Nutron Nutrição Animal, Itapira, SP, Brasil);

Tabela 2. Variáveis corporais e reprodutivas de vacas multíparas que receberam injeção de solução salina (solução salina) ou injeção de minerais e vitaminas (TMVI) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d-11; Experimento 1).

Itens	Tratamentos ¹			Valor de p	
	Salino	TMVI	MEV	Tratamento	Tratamento
				o	× dia
Número de multíparas	35	33			
<i>Parâmetros corporais</i>					
Escore de condição corporal (ECC), 1 - 9				0.21	0.20
D -11	4.25	4.28	0.15		
d 30	4.58	4.16	0.17		
Mudança de ECC, 1 – 9	0.37	-0.14	0.26	0.18	
<i>Variáveis ovarianas</i>					
Diâmetro do folículo dominante (d 0), mm	12.9	13.3	0.66	0.75	
Diâmetro do corpo lúteo, mm					
d 7	19.1	18.72	0.48	0.59	
d 14	18.9	18.42	0.47	0.45	
Volume do corpo lúteo, cm ³					
d 7	3.88	3.56	0.28	0.40	
d 14	3.76	3.35	0.27	0.29	
Progesterona plasmática, ng/mL					
d 7	5.09	5.69	0.89	0.63	
d 14	5.27	7.25	0.73	0.10	
Taxa de Prenhez (d 37), %	36.4	61.3	8.56	0.05	
<i>Tamanho do conceito</i>					
Coroa garupa (d 37), mm	10.2	10.2	0.42	0.94	
Torácica (d 37), mm	4.73	4.51	0.25	0.49	

¹ As vacas alocadas com solução salina receberam uma injeção (5 mL/vaca) de 0,9% de NaCl, e as vacas alocadas para TMVI receberam uma injeção (5 mL/vaca) de solução mineral traço [Adaptador Min, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil; 10, 40, 10 e 5 mg/mL de (como edetato de), Zn (como edetato de Zn), Mn (como edetato de Mn) e Se (como selenito de sódio), respectivamente] e outra injeção (5 mL/vaca) de solução vitamínica [Adaptador Vit, Biogénesis Bagó; 59500 e 50 UI/mL de vitamina A (como palmitato) e vitamina E (como acetato), respectivamente]. Todas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no lado direito de cada animal.

Tabela 3. Variáveis séricas de vacas multíparas que receberam injeção de solução salina (solução salina) ou injeção de minerais e vitaminas (TMVI) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -11; Experimentos 1 e 2).

Itens	Tratamentos ¹			Valores de p	
	Salino	TMVI	MEV	Tratamento	Tratamento × dia
<i>Exp. 1</i>					
Número de multíparas	12	12			
sérico, µg/dL	44.9	47.8	3.05	0.53	0.30
Zn sérico, µg/dL	41.4	38.8	4.27	0.68	0.85
Haptoglobina plasmática (mg/mL)	0.35	0.33	0.04	0.19	0.09
Ceruloplasmina plasmática (mg/mL)	8.40	8.82	0.36	0.45	0.40
Cortisol sérico (µg/dL)	2.96	2.42	0.18	0.05	0.45
<i>Exp. 2</i>					
Número de multíparas	12	12			
Cu sérico, µg/dL	45.1	50.8	7.76	0.30	0.10
Zn sérico, µg/dL	47.4	49.8	7.90	0.73	0.89

¹ As vacas alocadas com solução salina receberam uma injeção (5 mL/vaca) de 0,9% de NaCl, e as vacas para TMVI receberam uma injeção (5 mL/vaca) de solução mineral traço [Adaptador Min, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil; 10, 40, 10 e 5 mg/mL de (como edetate), Zn (como Zn edetate), Mn (como Mn edetate) e Se (como selenito de sódio), respectivamente] e outra injeção (5 mL/vaca) de solução vitamínica [Adaptador Vit, Biogénesis Bagó; 59500 e 50 UI/mL de vitamina A (palmitato) e vitamina E (acetato), respectivamente]. Todas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no lado direito de cada animal.

Tabela 4. Variáveis corporais e reprodutivas de novilhas que receberam injeção de solução salina (solução salina) ou injeção de minerais e vitaminas (TMVI) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -11; Experimento 2).

Itens ¹	Tratamentos ²		MEV	Valor de p	
	Salino	TMV I		Tratamento	Tratamento × dia
Número de novilhas	130	133			
<i>Parâmetros corporais</i>					
Peso corporal (PC), kg				0.05	0.10
D -11	299	299	4.68		
d 30	325	326	4.68		
d 70	342	343	4.97		
d 120	383 ^b	390 ^A	4.74		
Mudança de peso corporal, kg					
d -11 até 30	22.5	23.9	5.51	0.21	
d 30 até 70	13.7	15.6	3.61	0.24	
d 70 até 120	48.2	51.7	21.4	0.53	
d -11 até 120	72.4	79.2	18.7	0.08	
Escore de condição corporal (ECC), 1 - 9				0.51	0.52
D -11	5.51	5.49	0.11		
d 30	5.87	5.85	0.11		
d 70	5.74	5.78	0.11		
d 120	6.19	6.26	0.11		
Mudança ECC, 1 - 9					
d -11 até 30	0.36	0.32	0.11	0.58	
d 30 até 70	-0.25	-0.13	0.05	0.10	
d 70 até 120	0.07	0.02	0.09	0.59	
d -11 até 120	0.67	0.76	0.20	0.34	
Taxa de prenhez, % ³					
d 30 (1 ^a IATF)					
ECC baixo	48.2	63.1	5.61	0.05	
ECC alto	47.7	49.5	6.86	0.85	
Geral	48.6	57.1	4.38	0.10	
d 70 (2 ^a IATF)					
ECC baixo	38.2	46.7	9.51	0.50	
ECC alto	33.9	45.2	10.2	0.41	
Geral	35.9	46.2	7.24	0.26	
D 120 (Touro)					
ECC baixo	13.1	11.7	3.88	0.80	
ECC alto	14.6	10.9	5.52	0.59	
Geral	13.8	11.6	3.31	0.60	
d 120 (IATF + touro)					
ECC baixo	83.6	88.9	4.07	0.36	
ECC alto	79.3	87.1	5.48	0.30	
Geral	81.6	88.3	3.21	0.10	
Perda Gestacional, % ³					
d 30 até 120					
ECC baixo	0.20	6.13	3.06	0.15	

ECC alto	3.91	3.11	4.67	0.89
Geral	1.51	5.39	2.17	0.22
d 70 até 120				
ECC baixo	6.54	0.04	5.39	0.38
ECC alto	-	-	-	-
Geral	4.08	0.05	0.03	0.33

¹Novilhas com ECC < 5 no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foram classificadas como "ECC Baixa" e ECC ≥ 5 como "ECC Alta".

² As novilhas designadas para Salina receberam uma injeção (5 mL/vaca) de 0,9% de NaCl, e as novilhas atribuídas a TMVI receberam uma injeção (5 mL/vaca) de solução mineral traço [Adaptador Min, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil; 10, 40, 10 e 5 mg/mL de (como edetate), Zn (como n edetate), Mn (como Mn edetate) e Se (como selenito de sódio) respectivamente] e outra injeção (5 mL/vaca) de solução vitamínica [Adaptador Vit, Biogénesis Bagó; 59500 e 50 UI/mL de vitamina A (como palmitato) e vitamina E (como acetato), respectivamente]. Todas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no lado direito de cada animal.

^{a-b}Dentro de uma linha, as médias sem um sobrescrito comum tendem a diferir ($P \leq 0,10$).

Tabela 5. Variáveis corporais e reprodutivas de vacas primíparas que receberam injeção de solução salina (solução salina) ou injeção de minerais e vitaminas (TMVI) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -11; Experimento 2).

Itens1	Tratamentos ²		MEV	Valor de p	
	Salino	TMV I		Tratamento	Tratamento × dia
Número de primíparas	170	171			
<i>Parâmetros corporais</i>					
Peso corporal (PC), kg				0.85	0.96
D -11	414	414	8.45		
d 30	410	408	8.46		
d 70	419	420	9.19		
d 120	392	392	8.53		
Mudança de peso corporal, kg					
d -11 até 30	1.79	-0.85	7.73	0.28	
d 30 até 70	3.35	1.12	10.5	0.19	
d 70 até 120	-20.1	-18.5	25.1	0.81	
d -11 até 120	-10.9	-15.4	22.5	0.33	
Escore de condição corporal (ECC), 1 - 9				0.24	0.52
D -11	5.04	5.06	0.07		
d 30	5.42	5.40	0.07		
d 70	5.31	5.20	0.07		
d 120	5.53	5.44	0.07		
Mudança ECC, 1 - 9					
d -11 até 30	0.36	0.34	0.14	0.85	
d 30 até 70	-0.07	-0.18	0.05	0.15	
d 70 até 120	0.16	0.25	0.09	0.32	
d -11 até 120	0.43	0.34	0.09	0.16	
Taxa de Prenhez, % ³					
d 30 (1ª IATF)					
ECC baixo	54.1	67.8	5.19	0.09	
ECC alto	55.3	56.8	5.00	0.83	
Geral	55.2	61.1	3.79	0.27	
d 70 (2ª IATF)					
ECC baixo	58.8	50.7	12.0	0.61	
ECC alto	40.8	58.7	6.97	0.11	
Geral	47.4	56.2	6.21	0.30	
D 120 (B)					
ECC baixo	3.92	2.04	2.48	0.52	
ECC alto	5.48	2.75	2.80	0.37	
Geral	5.09	2.50	2.12	0.25	
d 120 (IATF + touro)					
ECC baixo	69.2	72.2	6.04	0.72	
ECC alto	70.9	77.8	6.28	0.11	
Geral	72.4	76.7	5.51	0.34	
Perda Gestacional, % ³					
d 30 até 120					
ECC baixo	19.3	17.12	6.10	0.82	

ECC alto	6.00	6.71	3.17	0.87
Geral	11.1	11.2	3.32	0.97
d 70 até 120				
ECC baixo	9.06	4.78	7.12	0.62
ECC alto	0.19	1.96	1.49	0.40
Geral	3.33	2.77	2.88	0.86

¹Vacas com ECC < 5 no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foram classificadas como "ECC Baixa" e ECC ≥ 5 como "ECC Alta".

²As vacas alocadas com solução salina receberam uma injeção (5 mL/vaca) de 0,9% de NaCl, e as vacas atribuídas a TMVI receberam uma injeção (5 mL/vaca) de solução mineral traço [Adaptador Min, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil; 10, 40, 10 e 5 mg/mL de (como edetate), Zn (como Zn edetate), Mn (como Mn edetate) e Se (como selenito de sódio), respectivamente] e outra injeção (5 mL/vaca) de solução vitamínica [Adaptador Vit, Biogénesis Bagó; 59500 e 50 UI/mL de vitamina A (palmitato) e vitamina E (acetato), respectivamente]. Todas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no lado direito de cada animal.

Tabela 6. Variáveis corporais e reprodutivas de vacas multíparas que receberam injeção de solução salina (solução salina) ou injeção de minerais e vitaminas (TMVI) no início da inseminação artificial em tempo fixo (d -11; Experimento 2).

Itens ¹	Tratamentos ²		MEV	Valor de p	
	Salina	TMVI		Tratamento	Tratamento × dia
Número de multíparas	435	431			
<i>Parâmetros corporais</i>					
Peso corporal (PC), kg				0.87	0.84
D -11	441	441	3.63		
d 30	450	450	3.63		
d 70	457	455	4.15		
d 120	468	471	3.63		
Mudança de peso corporal, kg					
d -11 até 30	7.10	7.56	3.67	0.69	
d 30 até 70	10.8	12.0	6.33	0.40	
d 70 até 120	12.5	8.53	15.9	0.36	
d -11 até 120	23.0	24.9	11.3	0.61	
Escore de condição corporal (ECC), 1 - 9				0.70	0.55
D -11	4.82	4.80	0.07		
d 30	5.09	5.06	0.07		
d 70	5.07	5.04	0.07		
d 120	5.44	5.45	0.07		
Mudança ECC, 1 - 9					
d -11 até 30	0.32	0.29	0.11	0.45	
d 30 até 70	-0.05	-0.02	0.04	0.38	
d 70 até 120	0.29	0.36	0.11	0.28	
d -11 até 120	0.65	0.67	0.11	0.49	
Taxa de prenhez % ³					
d 30 (1ª IATF)					
ECC baixo	61.9	62.6	4.14	0.89	
ECC alto	64.6	64.9	3.94	0.96	
Geral	63.1	63.9	3.15	0.81	
d 70 (2ª IATF)					
ECC baixo	52.5	57.8	5.46	0.47	
ECC alto	59.5	55.7	6.94	0.66	
Geral	54.7	56.3	4.35	0.78	
D 120 (Touro)					
ECC baixo	8.90	7.35	2.02	0.55	
ECC alto	6.19	8.85	2.45	0.30	
Geral	7.00	7.47	1.87	0.79	
d 120 (IATF + touro)					
ECC baixo	84.5	84.4	2.95	0.98	
ECC alto	85.7	87.6	3.06	0.58	
Geral	85.1	86.4	2.38	0.59	
Perda gestacional, % ³					
d 30 até 120					
ECC baixo	8.35	7.50	2.79	0.76	

ECC alto	8.86	6.19	2.37	0.42
Geral	7.93	6.32	1.80	0.46
d 70 até 120				
ECC baixo	5.16	5.18	2.98	0.99
ECC alto	0.10	7.36	4.79	0.11
Geral	3.03	5.84	2.00	0.16

¹Vacas com ECC < 5 no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foram classificadas como "ECC Baixa" e ECC ≥ 5 como "ECC Alta".

²As vacas alocadas com solução salina receberam uma injeção (5 mL/vaca) de 0,9% de NaCl, e as vacas atribuídas a TMVI receberam uma injeção (5 mL/vaca) de solução mineral traço [Adaptador Min, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil; 10, 40, 10 e 5 mg/mL de (como edetate), Zn (como Zn edetate), Mn (como Mn edetate) e Se (como selenito de sódio), respectivamente] e outra injeção (5 mL/vaca) de solução vitamínica [Adaptador Vit, Biogénesis Bagó; 59500 e 50 UI/mL de vitamina A (palmitato) e itamina E (acetato), respectivamente]. Todas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no lado direito de cada animal.

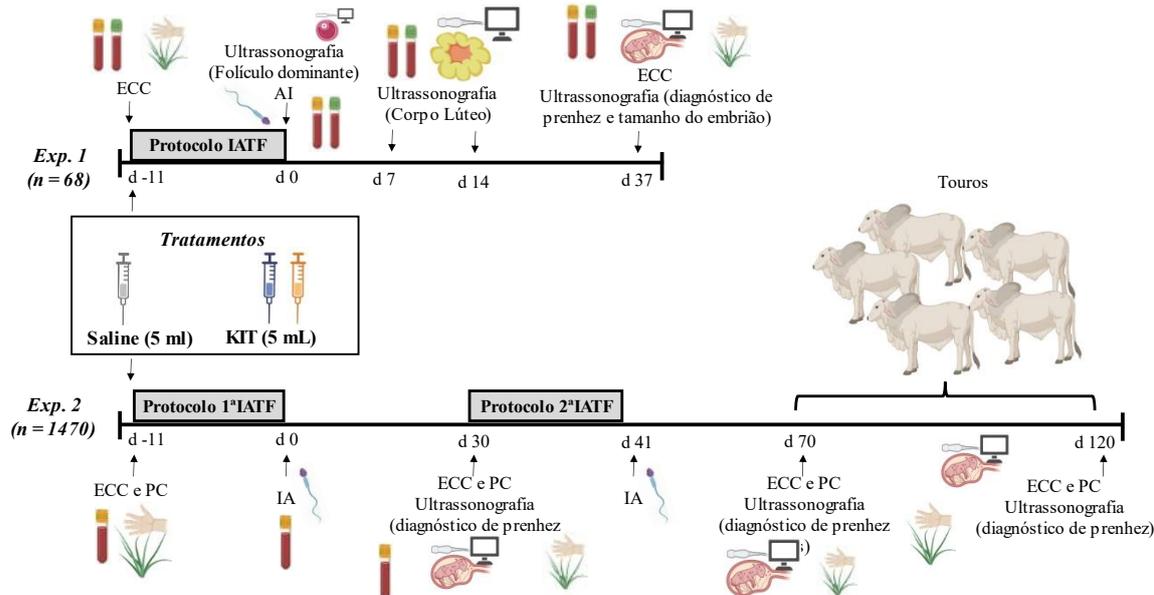


Figura 1. Esquema das principais atividades realizadas nos experimentos 1 e 2. As fêmeas designadas para o tratamento com solução salina receberam uma injeção (5 mL/vaca) de 0,9% de NaCl, e as fêmeas designadas para injeção de minerais injetáveis e vitaminas (TMVI), receberam uma injeção (5 mL/vaca) de solução mineral traço [Adaptador Min, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil; 10, 40, 10 e 5 mg/mL de (como edetato de), Zn (como edetato de Zn), Mn (como edetato de Mn) e Se (como selenito de sódio) respectivamente] e outra injeção (5 mL/vaca) de solução vitamínica [Adaptador Vit, Biogénesis Bagó; 59500 e 50 UI/mL de vitamina A (como palmitato) e vitamina E (como acetato), respectivamente]. Todas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF; d-11 a d 0; inseminado em d 0) no lado direito de cada animal. Abreviações não definidas na figura: escore de condição corporal (ECC), inseminação artificial (IA) e peso corporal (PC). Imagens não definidas no esquema: coletas de sangue e amostras manuais de forragem. Figura criada usando biorender.com.

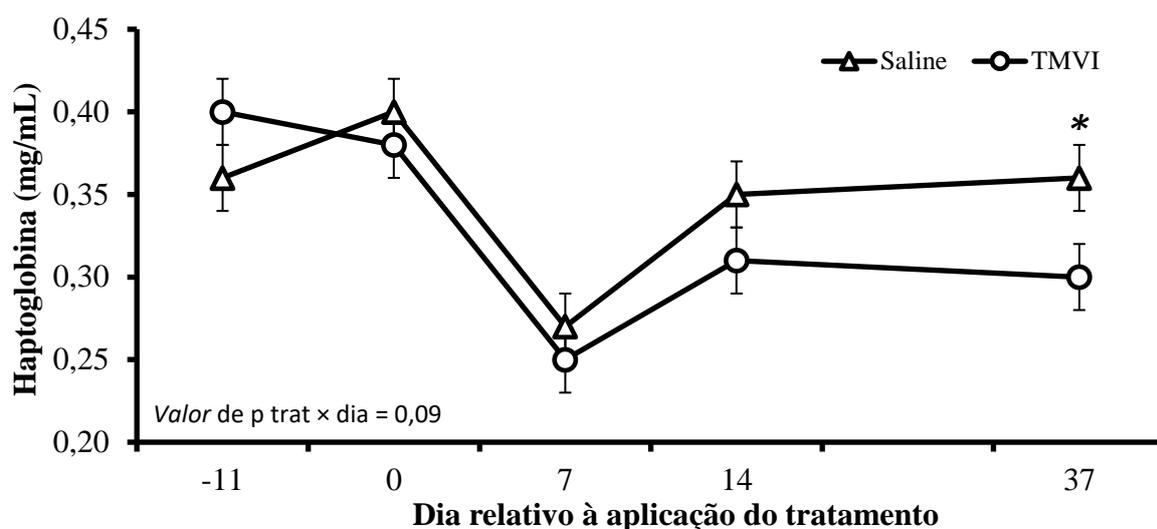


Figura 2. Concentração plasmática de haptoglobina de vacas múltíparas no Exp. 1. As fêmeas designadas para o tratamento com solução salina receberam uma injeção (5 mL/vaca) de 0,9% de NaCl, e as fêmeas designadas para injeção de minerais injetáveis e vitaminas (TMVI), receberam uma injeção (5 mL/vaca) de solução mineral traço [Adaptador Min, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil; 10, 40, 10 e 5 mg/mL de (como edetato de), Zn (como edetato de Zn), Mn (como edetato de Mn) e Se (como selenito de sódio) respectivamente] e outra injeção (5 mL/vaca) de solução vitamínica [Adaptador Vit, Biogénesis Bagó; 59500 e 50 UI/mL de vitamina A (como palmitato) e vitamina E (como acetato), respectivamente]. Todas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF; d-11 a d 0; inseminado em d 0) no lado direito de cada animal. *Representa uma tendência ($P \leq 0,10$) para diferir a cada dia.

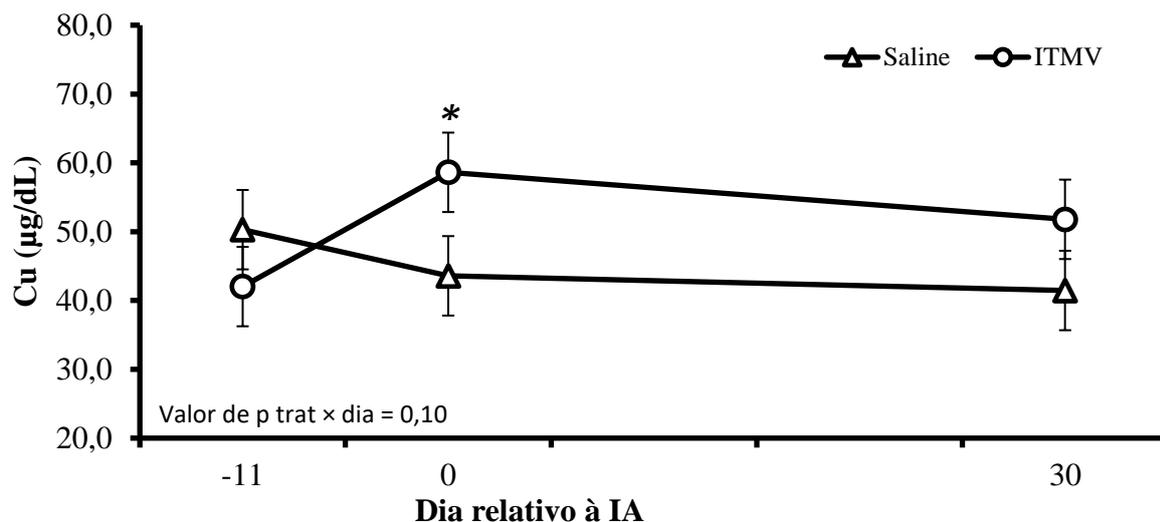


Figura 3. Concentração sérica de de vacas múltiparas no Exp. 2. As fêmeas designadas para o tratamento com solução salina receberam uma injeção (5 mL/vaca) de 0,9% de NaCl, e as fêmeas designadas para injeção de minerais injetáveis e vitaminas (TMVI), receberam uma injeção (5 mL/vaca) de solução mineral traço [Adaptador Min, Biogénesis Bagó, Curitiba, PR, Brasil; 10, 40, 10 e 5 mg/mL de (como edetato de), Zn (como edetato de Zn), Mn (como edetato de Mn) e Se (como selenito de sódio) respectivamente] e outra injeção (5 mL/vaca) de solução vitamínica [Adaptador Vit, Biogénesis Bagó; 59500 e 50 UI/mL de vitamina A (como palmitato) e vitamina E (como acetato), respectivamente]. Todas as soluções foram aplicadas por via subcutânea no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF; d-11 a d 0; inseminado em d 0) no lado direito de cada animal. *Representa uma tendência ($P \leq 0,10$) para diferir a cada dia.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os minerais e vitaminas injetáveis são uma alternativa para melhorar o sistema imunológico, ganho de peso, desempenho reprodutivo e reduzir perdas gestacionais em bovinos de corte.

As novilhas é a categoria que responde no ganho de peso, isso porque provavelmente ainda estão em crescimento corporal. A aplicação injetável de Cu e Zn no início do protocolo de IATF em novilhas melhorou o ganho de peso e tendeu a melhor desempenho reprodutivo em relação a escore de estro, maior taxa de expressão de cio no d 0 para as classificadas como de baixo ECC, maior taxa de expressão de cio geral no d 0 e maior taxa de prenhez d 30 (1ª IATF) para as classificadas de baixo ECC. As novilhas que recebem aplicação injetável de Cu e Zn apresentaram maior tamanho de CL no d 14 e maiores concentrações de Cu no d 30.

A administração do TMVI não afetou as variáveis ovarianas, mas tendeu a aumentar a concentração plasmática de progesterona. A taxa de prenhez foi melhorada pela administração de TMVI em novilhas e primíparas, mas esse aumento foi observado principalmente em fêmeas com baixa ECC (< 5). O TMVI não causou reações inflamatórias e a concentração plasmática de haptoglobina e cortisol sérico diminuiu durante o estudo.

A aplicação tanto do CuZn ou o TMVI foi eficiente nos parâmetros reprodutivos de bovinos de corte *Bos indicus*, principalmente em fêmeas classificadas como baixo ECC e sem causar reações inflamatórias. Assim, nas categorias de novilhas e primíparas com desafio sanitário e nutricional maior sugerimos o uso de TMVI e quando não se tem esse desafio a recomendação é do uso de CuZn, principalmente nas regiões de maiores deficiência de Cu e Zn.