

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

**MICROMINERAIS INJETÁVEIS NA REPRODUÇÃO DE  
VACAS DE CORTE**

**Raizza Fátima Abadia Tulux Rocha**

**CAMPO GRANDE, MS  
2022**

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

**MICROMINERÁIS INJETÁVEIS NA REPRODUÇÃO DE  
VACAS DE CORTE**

*Injectable trace minerals on beef cattle reproduction*

**Raizza Fátima Abadia Tulux Rocha**

**Orientador: Prof. Dr. Gumercindo Loriano Franco**

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

Área de concentração: Produção Animal.

**CAMPO GRANDE, MS  
2022**

Dedico a minha amada família, minha  
maior referência!

## **AGRADECIMENTOS**

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

Ao Prof. Dr. Gumercindo Lorian Franco pelo exemplo de conduta profissional, pela orientação inestimável, por todos os conhecimentos transmitidos e convivência agradável, pela dedicação e amizade, minha profunda gratidão;

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

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

Ao consultor Dr. Ricardo Garcia de Almeida pela contribuição na coleta de dados e disponibilidade em nos ajudar;

Aos professores Dr. Fabio José Carvalho Faria, Dr. Henrique Jorge Fernandes, Dra. Maria Inês Lenz Souza e aos colegas Dr. Marcelo Vedovatto e Dra. Marcella Cândia D'Oliveira, pelas inúmeras e valiosas contribuições, pela disponibilidade e prontidão em ajudar, sendo de fundamental importância para a qualidade desse trabalho;

A todos os professores da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, pela dedicação e por todos os ensinamentos;

Aos Funcionários da Fazenda Escola da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pela convivência, amizade e auxílio nos trabalhos de campo;

Aos secretários da Pós-graduação Fernando Diogo Patez e Ricardo Oliveira Santos, pela amizade e prontidão em ajudar;

Aos meus colegas de pós-graduação Eduardo de Assis Lima, Rafaela Nunes Coelho e Uriel de Almeida Curcio, pela ajuda na condução do experimento, pelas discussões que contribuíram para o enriquecimento da minha formação e pela amizade, meus sinceros agradecimentos;

Aos estagiários pela amizade, auxílio prestado, proatividade e comprometimento, fundamentais para a execução das diferentes etapas desse experimento;

À minha família pelos ensinamentos, por priorizarem minha educação e compreensão pelos dias ausentes;

Aos meus pais Lélia Tulux e Claudio Antônio Rocha pelo incentivo em ingressar na graduação em Zootecnia e na Pós-Graduação em Ciência Animal, pelo apoio incondicional ao longo desse processo e por todo amor;

Ao meu marido Anderson Luiz de Lucca Bento, por estar sempre ao meu lado, pelo maravilhoso convívio, pelo apoio total, auxílio nas atividades acadêmicas e na vida, pela paciência nos momentos difíceis e por me proporcionar muitas alegrias;

Às minhas irmãs Claire Martha Ellen Tulux Rocha, Íris Bárbara Laudicena Tulux Rocha e Suelen Katarine Tulux Rocha, pelo exemplo de mulheres maravilhosas e amor incondicional;

Aos meus sogros Lizabete Coutinho de Lucca, Antonio Siverino Bento e Rosemary Assunção, aos meus cunhados Andressa de Lucca Bento, Andrey de Lucca Bento, Daniel Alves Conque, Flavia Dias, Gildo Andrade e William Cavalcante Godoy, e especialmente aos meus sobrinhos Davi Rocha Godoy, Helena Tulux Rocha Alves Conque, Ivan Rocha Godoy, Julia Tulux Rocha Alves Conque e Laís Neuzete Rocha Godoy, pela amizade, pelos momentos de descontração e pela ajuda em todos os momentos;

Aos amigos de longa data Alberto de Oliveira Gaspar, Aldo Felipe Fava, Bruno Ruiz Vida, Caroline Bertoline Ribeiro, Érico Carneiro, Henrique Barbosa de Freitas, Jonathan Coimbra Carvalho, Luiza Dalpiaz, Luanna Lopes Paiva, Mayara Mitiko Yoshihara Carneiro, Sílvia Nélide Conceição Lima, Stephan Alexander da Silva Alencar e Waldinei Caballero pelo companheirismo e amizade sincera;

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

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

À Empresa Axiota® Animal Health (MULTIMIN® 90, USA) pela doação do produto e por nos incentivar a conduzir os experimentos com reprodução;

A todos não mencionados diretamente nessa seção e que fizeram parte dessa etapa da minha caminhada, muito obrigado!

## RESUMO

ROCHA, R, F, A. T. Microminerais injetáveis na reprodução de vacas de corte. 2022. 77f. Tese - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2022.

Objetivou-se com esse trabalho avaliar os efeitos da aplicação de uma mistura de microminerais (Zn, Cu, Mn e Se), no momento da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), sobre a taxa de prenhez, dinâmica das estruturas ovarianas, medida do conceito, peso e escore de condição corporal de vacas de corte. No primeiro capítulo foi realizada uma revisão de literatura abordando os aspectos gerais da fisiologia reprodutiva, ressaltando a importância dos microminerais no organismo animal, os resultados descritos e o potencial de uso de misturas de microminerais injetáveis sobre as características e desempenho reprodutivo de vacas de corte. No capítulo 2 foram realizados dois experimentos (Exp. 1 e Exp. 2) para avaliar os efeitos da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) em dose única (6 mL/animal) no momento da inseminação artificial (IA) sobre a taxa de prenhez, temperatura retal (T°C), dinâmica das estruturas ovarianas, medidas do conceito, peso corporal (PC) e escore de condição corporal (ECC) de vacas de corte mantidas em pastagens de clima tropical. O Exp. 1 foi conduzido em três fazendas comerciais, onde foram avaliadas 445 vacas com aproximadamente 400 kg de PC e ECC de 3,0 a 6,0 (escala de 1 a 9), mantidas em pastagem e recebendo suplemento mineral em pó *ad libitum*. Estas foram sincronizadas em um protocolo de inseminação em tempo fixo (IATF) de 11 dias (d; d -11 a d 0), divididas aleatoriamente em dois tratamentos recebendo uma única injeção de solução salina (Salina; 6 mL/animal) ou de MMI (6 mL/animal), aplicados no d 0. O diagnóstico de gestação foi realizado no d 30, sendo a taxa de prenhez a única variável avaliada neste experimento. No Exp. 2 foram utilizadas 20 vacas multíparas com ECC (1-9) =  $4,8 \pm 0,41$  e PC =  $414,7 \pm 43,8$  kg, mantidas em pastagem, recebendo suplemento mineral em pó *ad libitum*. O estudo teve duração de 71 d e compreendeu o período de 11 d anterior (d -11) à IA (d 0) até 60 d após (d 60). Os animais foram divididos pelo ECC e PC em dois tratamentos recebendo injeção de solução salina (Salina; 6 mL/animal) ou de MMI (6 mL/animal), ambos aplicados no d 0. Todas as vacas foram sincronizadas por um protocolo de IATF como descrito no exp 1, inseminadas no d 0, e o diagnóstico de gestação foi realizado no d 30. As estruturas ovarianas foram avaliadas no d 0 (diâmetro do folículo dominante) e no d 7, 14 e 21 (diâmetro do corpo lúteo) e colheitas de sangue foram realizadas nos d 1, 3, 7, 14, 21 e 30 para análise das concentrações de progesterona (P4). No Exp. 1, a aplicação de MMI apresentou a tendência de redução da taxa de prenhez (P=0,07) em vacas com melhor ECC, sem efeitos significativos na taxa de prenhez geral ou das vacas com menor ECC (P>0,05). No Exp. 2 a aplicação de MMI não alterou (P>0,05) as medidas por ultrassom do diâmetro do folículo dominante, medidas do corpo lúteo e medidas do conceito, bem como não apresentou efeito (P>0,05) sobre as variáveis PC, variação de PC, ECC, variação de ECC e taxa de prenhez, contudo, a aplicação de MMI aumentou (P<0,05) a T°C retal em animais suplementados. Assim, a aplicação de MMI não alterou as medidas de ultrassonografia, ECC e PC, porém, aumentou a T°C retal e tendeu a reduzir a taxa de prenhez em animais suplementados.

**Palavras-Chave:** Estresse oxidativo. Progesterona. Reprodução. *Status* de microminerais.

## ABSTRACT

ROCHA, R, F, A. T. Microminerais injetáveis na reprodução de vacas de corte. 2022. 77f. Tese - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2022.

The objective with this study was to evaluate the application effects of a trace mineral mixture (Zn, Cu, Mn e Se), at the moment of fixed-time artificial insemination (FTAI), on pregnancy rates, body temperature, ovarian structures dynamics, and conceptus measurements variations and changes on body weight and body condition score in beef cows. In the first chapter a literature review was carried out addressing general features of reproductive physiology, emphasizing trace minerals importance on animal organism, the described results and the use potential of injectable trace mineral mixtures over reproductive and performance characteristics of beef cows. In the second chapter, two experiments were carried (Exp. 1 and Exp. 2) out to evaluated the effects of a single injectable trace minerals (ITM) dose (6mL/animal) at the time of insemination (AI) on pregnancy rates, body temperature (T°C), dynamics of ovarian structures, conceptus measurements changes, body weight (BW) and BCS of beef cows handled on tropical pastures. The Exp. 1, was conducted on three commercial farms, where were evaluated 445 cows with approximately 400 kg BW and BCS between 3 and 6 (1-9 scale), kept on pastures and receiving *ad libitum* powdered mineral mixture. They were synchronized in a fixed time artificial insemination (FTAI) protocol of 11 days (d; d -11 to d 0), randomly divided within two treatments of a single injection of a saline solution (Salina; 6 mL/animal) or ITM (6 mL/animal) both applied on d 0. The pregnancy diagnoses were performed on d 30, being pregnancy rate the only variable evaluated in this study. In Exp. 2, 20 multiparous cows, BCS (1-9) =  $4.8 \pm 0.41$  and BW =  $414.7 \pm 43.8$  kg, managed in pastures and receiving *ad libitum* powder mineral mixtures were used. The study lasted 71d and comprised the period from 11 d before AI (d -11) to AI (d 0) until 60 d after (d 60). Animals were divided based on BCC and BW into two treatments: 1) injection of a saline solution (Salina; 6 mL/animal) or MMI (6 mL/animal), both applied on d0. Cows were synchronized by an FTAI protocol as described in exp. 1, inseminated on d0 and the pregnancy diagnosis was performed on d 30. Ovarian structures were evaluated on d 0 (dominant follicle diameter) and on d 7, 14 and 21 (corpus luteum diameter), and blood samples were taken on d 1, 3, 7, 14, 21 and 30 for progesterone (P4) evaluation. In Exp. 1, MMI application exhibited the trend to reducing pregnancy rates (P=0.07) in cows with a better BCS, with no significant effects on overall pregnancy rate or on cows with lower BCS (P>0.05). In Exp. 2, MMI did not change (P>0.05) ultrasound measurements of dominant follicle diameter, corpus luteum and conceptus measurements, as well as presented no effect (P>0.05) on BW, BW variation, BCS and BCS variation and pregnancy rate, however, MMI showed an increase (P<0.05) in rectal T°C in supplemented animals. Thus, MMI application did not change ultrasound, BCS and BW measurements, however, increased rectal T°C and tended to reduce pregnancy rate in supplemented animals.

**Key words:** Oxidative stress. Progesterone. Reproduction. Trace mineral status.

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO 2 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS NO MOMENTO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) SOBRE A TAXA DE PREENHEZ, DINÂMICA DAS ESTRUTURAS OVARIANAS E MEDIDAS DO CONCEPTO DE VACAS DE CORTE**

Tabela 1. Composição química das forrageiras das fazendas (Faz) onde foram feitos os experimentos.....	71
Tabela 2. Níveis de garantia dos suplementos minerais em pó utilizado nas diferentes fazendas (Faz).....	72
Tabela 3. Taxa de prenhez por inseminação artificial de vacas recebendo uma aplicação única (6 mL/animal) de solução salina ou microminerais injetáveis no dia da inseminação artificial (d 0; Exp. 1).....	73
Tabela 4. Temperatura retal, peso corporal e escore de condição corporal (ECC) de vacas recebendo uma única injeção (6 mL/animal) de solução salina ou microminerais injetáveis no dia da inseminação artificial (d 0; Exp. 2).....	74
Tabela 5. Estruturas ovarianas, medidas do conceito, concentração de progesterona e taxa de prenhez de vacas recebendo uma única injeção (6 mL/animal) de solução salina ou microminerais injetáveis no dia da inseminação artificial (d 0; Exp. 2).....	75

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BEN	Balanço energético negativo	Mn	Manganês
CL	Corpo lúteo	Mo	Molibidênio
Ca	Cálcio	MS	Materia seca
CNF	Carboidratos não fibrosos	Na	Sódio
Co	Cobalto	NRBC	Nutrient Requirements of Beef Cattle
Cr	Cromo	Ni	Níquel
Cu	Cobre	NO	Óxido nítrico
DNA	Ácido desoxirribonucleico	NRC	National Research Council
ECC	Escore de condição corporal	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Superóxido
eCG	Gonadotrofina coriônica equina	OH <sup>-</sup>	Hidroxila
EE	Extrato etéreo	P	Fósforo
Fe	Ferro	P4	Progesterona
FSH	Hormônio Folículo estimulante	PB	Proteína bruta
FDN	Fibra em detergente neutro	PC	Peso corporal
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas	PGF <sub>2α</sub>	Prostaglandina F <sub>2α</sub>
GSH-Px	Glutationa peroxidase	ppm	Partes por milhão
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio	RNA	Ácido ribonucleico
I	Iodo	ROS	Espécies reativas ao oxigênio
IA	Inseminação artificial	Se	Selenio
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo	SOD	Superóxido dismutase
IGF-I	Fator de crescimento semelhante a insulina	T °C	Temperatura (°C)
IL-6	Interleucina 6	T <sub>3</sub>	Triiodotironina
K	Potássio	T <sub>4</sub>	Tiroxina
LH	Hormônio luteinizante	TNF- α	Fator de necrose tumoral
Mg	Magnésio	Zn	Zinco
MM	Materia mineral		
MMI	Microminerais injetáveis		

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
REFERÊNCIAS.....	13
<b>CAPÍTULO 1 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS NA REPRODUÇÃO DE VACAS:UMA REVISÃO</b> .....	16
Resumo .....	18
Abstract.....	19
Introdução .....	20
Fisiologia reprodutiva da fêmea bovina.....	21
Importância dos microminerais no organismo animal e sua relação com a reprodução....	28
Implicação do estresse oxidativo na reprodução .....	31
Efeito da aplicação de microminerais injetáveis em vacas.....	34
Conclusões.....	36
Referências.....	37
<b>CAPÍTULO 2 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS NO MOMENTO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) SOBRE A TAXA DE PREENHEZ, DINÂMICA DAS ESTRUTURAS OVARIANAS E ALTERAÇÕES NAS MEDIDAS DO CONCEPTO DE VACAS DE CORTE</b> .....	47
RESUMO.....	49
INTRODUÇÃO .....	51
MATERIAL E MÉTODOS .....	52
Animais, tratamentos e colheitas de amostras.....	52
Análises laboratoriais .....	55
Análises estatísticas.....	56
RESULTADOS .....	57
DISCUSSÃO .....	57
CONFLITO DE INTERESSE .....	64
AGRADECIMENTOS .....	64
LITERATURA CITADA .....	65
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE</b> .....	76

## 1 INTRODUÇÃO

2  
3  
4 Os sistemas de produção de bovinos de corte são caracterizados pela existência de muitos  
5 contrastes, sendo realizados de forma extensiva em grande parte do Brasil, estando sujeitos a  
6 influência de uma série de fatores, que poderão interferir diretamente sobre o desempenho  
7 produtivo e econômico do rebanho.

8 Nos sistemas dedicados a fase de cria, cujo principal objetivo é a produção de bezerros  
9 desmamados, as características de maior influência são relacionadas ao crescimento e a  
10 reprodução (BUTLER et al., 2019; D'OCCHIO et al., 2019). Assim, índices zootécnicos como  
11 a idade das vacas ao primeiro parto, a taxa de prenhez, o intervalo entre partos são, dentre  
12 outros, determinantes para a lucratividade da atividade.

13 O sucesso na reprodução dos rebanhos de corte depende das condições fisiológicas,  
14 patológicas, de manejo e, principalmente, nutricionais. Desta forma, estratégias que visem a  
15 melhoria nas condições de manejo, sanidade e nutrição tem importante papel no aumento do  
16 desempenho e conseqüentemente nos índices reprodutivos do rebanho (FRANCO et al., 2016).

17 Nas últimas décadas, houve avanço no entendimento da influência dos nutrientes  
18 (energia, proteína e macrominerais) sobre a eficiência reprodutiva de bovinos. Contudo, ainda  
19 pouco se sabe sobre os efeitos da suplementação de microminerais sobre o processo reprodutivo  
20 da vaca.

21 Embora sejam necessários em pequenas quantidades, menores que 100 ppm, os  
22 microminerais são fundamentais para a manutenção da saúde e imunidade dos animais, sendo  
23 importantes para a função de diversas enzimas e proteínas, que atuam em processos digestivos,  
24 fisiológicos e biossintéticos no corpo, tendo assim papel vital no crescimento, produção e  
25 reprodução (YATOO et al., 2013).

26 O funcionamento normal de todos os processos metabólicos em ruminantes depende da  
27 disponibilidade dos microminerais no organismo dos animais. Assim, a exigência desses  
28 elementos no organismo pode variar em função da taxa de crescimento do animal ou da etapa  
29 do ciclo de produção em que se encontra, sendo sua demanda comumente elevada em períodos  
30 de maior estresse como próximo ao parto, início da lactação e durante o período reprodutivo  
31 (LÓPEZ-ALONSO, 2012).

32 Os microminerais quando mantidos em faixas adequadas de concentração no corpo,  
33 evitam possíveis deficiências, toxicidade ou desequilíbrios, que podem desencadear distúrbios

34 com consequente necessidade de ajustes metabólicos, redução do desempenho animal e perdas  
35 econômicas (SUTTLE, 2010; SPEARS e WEISS, 2014).

36 Em vacas de corte o *status* inadequado de microminerais pode ocasionar redução na taxa  
37 de concepção, maiores taxas de reabsorção fetal, abortos, partos prematuros, retenção de  
38 placenta, ovários císticos, aumento nos casos de metrite e no período de anestro (BINDARI et  
39 al., 2013).

40 Em muitos casos a dieta oferecida não supre todas as exigências de minerais  
41 (ARTHINGTON et al., 2014), sendo que, ruminantes em pastejo estão frequentemente sujeitos  
42 a ocorrência de deficiências e desequilíbrios nutricionais, que são em geral, corrigidas com  
43 programas de suplementação.

44 A suplementação de minerais pode ocorrer por vários meios, como misturados a  
45 concentrados, mistura em pó de minerais e vitaminas, blocos nutricionais, bolus intraruminais  
46 contendo microminerais de liberação lenta (UNDERWOOD & SUTTLE, 1999) ou  
47 microminerais injetáveis (ARTHINGTON et al., 2014). Entretanto, o oferecimento de  
48 microminerais na dieta não assegura seu consumo e absorção, sendo comum a ocorrência de  
49 flutuações no consumo voluntário de bovinos (ARTHINGTON et al., 2014), além da presença  
50 de elementos antagonistas na forragem e água de bebida, dificultando o atendimento das  
51 exigências nutricionais desses minerais (MACHADO et al., 2013).

52 Deficiências subclínicas de microminerais podem ocorrer de forma frequente, gerando  
53 perdas difíceis de quantificar, devido a não ocorrência de sintomas específicos, proporcionando  
54 taxas de crescimento e reprodutivas reduzidas e sistema imune deprimido, o que pode se tornar  
55 um problema maior do que as deficiências minerais agudas (SUTTLE, 2010).

56 Foram demonstrados diversos efeitos positivos do fornecimento e melhoria do *status* de  
57 microminerais sobre a saúde e produção animal, evidenciando reduções de morbidade,  
58 diminuição de custos com tratamentos e melhoria no desempenho produtivo (BITTAR et al.,  
59 2020; MACHADO et al., 2013; TEIXEIRA et al., 2014; YATOO et al., 2013). Assim,  
60 alternativas que possam servir como complemento a suplementação mineral via oral durante  
61 períodos críticos do sistema de produção podem ser utilizadas para fornecer microminerais  
62 chave, visando efeitos positivos sobre a saúde e produtividade do rebanho.

63 A aplicação via parenteral de microminerais têm sido amplamente pesquisada  
64 recentemente. Estudos avaliando a aplicação de suplementos contendo Zn, Cu, Mn e Se têm  
65 reportado efeitos positivos sobre a saúde, resposta imune, eficiência alimentar e desempenho  
66 de bovinos, com tendência para aumento na taxa de crescimento e na taxa de prenhez em vacas  
67 (ARTHINGTON & HAVENGA, 2012; ARTHINGTON et al., 2014; CLARK et al., 2006;

68 CAZAROTTO et al., 2018; MUNDELL et al., 2012; RICHESON & KEGLEY, 2011; SALES  
69 et al., 2011; TOMASI et al., 2018; VEDOVATTO et al., 2019).

70 Desse modo, objetivou-se com esse trabalho: Capítulo 1 – realizar uma revisão de  
71 literatura abordando os aspectos da fisiologia reprodutiva, ressaltando a importância dos  
72 microminerais no organismo animal, os resultados descritos e o potencial de uso de misturas de  
73 microminerais injetáveis sobre as características reprodutivas de vacas de corte; Capítulo 2 –  
74 avaliar os efeitos da aplicação de microminerais injetáveis (MMI) em dose única no momento  
75 da inseminação sobre a temperatura retal, peso (PC) e escore de condição corporal (ECC),  
76 dinâmica das estruturas ovarianas, medidas do conceito e taxa de prenhez de vacas de corte  
77 mantidas em pastagens de clima tropical.

## REFERÊNCIAS

78

79

80

81 ARTHINGTON, J. D.; HAVENGA, L. J. Effect of injectable trace minerals on the humoral  
82 immune response to multivalent vaccine administration in beef calves. **Journal of Animal  
83 Science**, v. 90, p. 1966–1971, 2012.

84

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

88

89 BINDARI, Y. R.; SHRESTHA, S.; SHRESTHA, N.; GAIRE, T. N. Effects of nutrition on  
90 reproduction-a review. **Advances in Applied Science Research**, v. 4, p. 421-429, 2013.

91

92 BITTAR, J. H. J.; PALOMARES, R. A.; HURLEY, D. J.; HOYOS-JARAMILLO, A.;  
93 RODRIGUEZ, A.; STOSKUTE, A.; HAMRICK, B.; NORTON, N.; ADKINS, M.; SALIKI, J.  
94 T.; SANCHEZ, S.; LAUBER, K. Immune response and onset of protection from Bovine viral  
95 diarrhea virus 2 infection induced by modified-live virus vaccination concurrent with injectable  
96 trace minerals administration in newly received beef calves. **Veterinary Immunology and  
97 Immunopathology**, v. 225, 2020.

98

99 BUTLER, M. L.; BORMANN, J. M.; WEABER, R. L.; GRIEGER, D. M.; ROLF, M. M.  
100 Selection for bull fertility: a review. *Translation Animal Science*. v. 2, n. 4, p. 423-441, 2019.

101

102 CLARK, J. H.; OLSON, K. C.; SCHMIDT, T. B.; LARSON, R. L.; ELLERSIECK, M. R.;  
103 ALKIRE, D. O.; MEYER, D. L.; RENTFROW, G. K.; CARR, C. C. Effects of respiratory  
104 disease risk and a bolus injection of trace minerals at receiving on growing and finishing  
105 performance by beef steers. **The Professional Animal Scientist**, v. 22, p. 1–7, 2006.

106

107 CAZAROTTO, C. J., BOITO, J. P., GEBERT, R. R., REIS, J. H., MACHADO, G., BOTTARI,  
108 N. B., MORSCH, V. M., SCHETINGER, M. R. C., DOLESKI, P. H., LEAL, M. L. R.,  
109 BALDISSERA, M. D. DA SILVA, A. S. Metaphylactic effect of minerals on immunological  
110 and antioxidant responses, weight gain and minimization of coccidiosis of newborn lambs.  
111 **Research in Veterinary Science**. v. 121, p. 46-52, 2018.

- 112 D'OCCHIO, M. J.; BARUSELLI, P. S.; CAMPANILE, G. Influence of nutrition, body  
113 condition, and metabolic status on reproduction in female beef cattle: a review.  
114 **Theriogenology**, v. 125, p. 277-284, 2019.
- 115
- 116 FRANCO, G. L.; FARIA, F. J. C.; D'OLIVEIRA, M. C. Interação entre nutrição e reprodução  
117 em vacas de corte. **Informe Agropecuário**, v. 37, n. 292, p. 36-53, 2016.
- 118
- 119 LÓPEZ-ALONSO, M. Trace minerals and livestock: not too much not too little. **ISRN**  
120 **Veterinary Science**, 2012.
- 121
- 122 MACHADO, V. S.; BICALHO, M. L. S.; PEREIRA, R. V.; CAIXETA, L. S.; KNAUER, W.  
123 A.; OIKONOMOU, G.; GILBERT, R. O.; BICALHO, R. C. Effect of an injectable trace  
124 mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and,  
125 production of lactating Holstein cows. **The Veterinary Journal**, v. 197, p. 451-456, 2013.
- 126
- 127 MUNDELL, L. R.; JAEGER, J. R.; WAGGONER, J. W.; STEVENSON, J. S.; GRIEGER, D.  
128 M.; PACHECO, L. A.; BOLTE, J. W.; AUBEL, N. A.; ECKERLE, G. J.; MACEK, M. J.;  
129 ENSLEY, S. M.; HAVENGA, L. J.; OLSON, K. C. Effects of prepartum and postpartum bolus  
130 injections of trace minerals on performance of beef cows and calves grazing native range. **The**  
131 **Professional Animal Scientist**, v. 28, p. 82-88, 2012.
- 132
- 133 RICHESON, J. T.; KEGLEY, E. B. Effect of Supplemental trace minerals from injection on  
134 health and performance of highly stressed, newly received beef heifers. **The Professional**  
135 **Animal Scientist**, v. 27, p. 461-466, 2011.
- 136
- 137 SALES, J. N. S.; PEREIRA, R. V. V.; BICALHO, R. C.; BARUSELLI, P. S. Effect of  
138 injectable copper, selenium, zinc and manganese on the pregnancy rate of crossbred heifers  
139 (Bos indicus×Bos taurus) synchronized for timed embryo transfer. **Livestock Science**, v. 142,  
140 p. 59-62, 2011.
- 141
- 142 SPEARS, J. W.; WEISS, W. P. Invited review: mineral and vitamin nutrition in ruminants. **The**  
143 **Professional Animal Scientist**, v. 30, p. 180-191, 2014.
- 144
- 145 SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 4rd edition. CABI, 2010. 579 p.

- 146 TEIXEIRA, A.G.V.; LIMA, F.S.; BICALHO, M.L.S.; KUSSLER, A.; LIMA, S.F.; FELIPPE,  
147 M.J.; BICALHO, R.C. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium,  
148 copper, zinc, and manganese on immunity, health, and growth of dairy calves. **Journal of Dairy**  
149 **Science**, v.97, p.4216–4226, 2014.
- 150
- 151 TOMASI, T.; VOLPATO, A.; PEREIRA, W.A.B.; DEBASTIANI, L.H.; BOTTARI, N.B.;  
152 MORSCH, V.M.; SCHETINGER, M.R.C.; LEAL, M.L.R.; MACHADO, G.; DA SILVA, A.S.  
153 Metaphylactic effect of minerals on the immune response, biochemical variables and  
154 antioxidant status of newborn calves. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**,  
155 p.1-6, 2018.
- 156
- 157 UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. The mineral nutrition of livestock. 3rd rev. ed. CABI  
158 Publishing, New York, 1999. 614p.
- 159
- 160 VEDOVATTO, M. V.; MORIEL, P.; COOKE, R. F.; COSTA, D. S.; FARIA, F. J. C.;  
161 CORTADA NETO, H. M.; PEREIRA, C. S.; BENTO, A. L. L.; ALMEIDA, R. G.; SANTOS,  
162 S. A.; FRANCO, G. L. Effects of a single trace mineral injection on body parameters, ovarian  
163 structures, pregnancy rate and components of the innate immune system of grazing Nellore  
164 cows synchronized to a fixed-time AI protocol. **Livestock Science**, v. 225, p. 123-128, 2019.
- 165
- 166 YATOO, M. I.; SAXENA, A.; DEEPA, P. M.; HABEAB, B. P; DEVI, S.; JATAV, R. S.;  
167 DIMRI, U. Role of trace elements in animals: a review. **Veterinary World**, v. 6, n. 12, p. 963-  
168 967, 2013.

- 169 **CAPÍTULO 1 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS NA REPRODUÇÃO DE VACAS:**  
170 **UMA REVISÃO**

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

171 **MICROMINERAIS INJETÁVEIS NA REPRODUÇÃO DE VACAS: UMA REVISÃO**

172

173 ROCHA, Raizza Fátima Abadia Tulux<sup>1</sup>; FRANCO, Gumercindo Lorian<sup>1\*</sup>

174

175 <sup>1</sup>Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Faculdade de Medicina Veterinária e

176 Zootecnia, Av. Senador Filinto Muller, 2443, Vila Ipiranga, CEP 79070-900, Campo

177

Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

178

\*Endereço para correspondência: [gumercindo.franco@ufms.br](mailto:gumercindo.franco@ufms.br)

179

180 **MICROMINERAIS INJETÁVEIS NA REPRODUÇÃO DE VACAS: REVISÃO DE**  
181 **LITERATURA**

182

183 **RESUMO**

184 Nessa revisão foram abordadas as principais informações existentes na literatura a respeito da  
185 importância e função dos microminerais zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn) e selênio (Se), e  
186 o efeito da utilização de uma mistura de microminerais injetáveis (MMI) sobre a saúde e  
187 desempenho de vacas de corte na fase reprodutiva. Existe um entendimento crescente sobre como  
188 os condições nutricionais podem influenciar o desempenho reprodutivo de vacas. Os primeiros  
189 estudos demonstraram a importância do escore de condição corporal (ECC) ao parto e do balanço  
190 energético, e estudos subsequentes demonstraram como outros aspectos podem influenciar a  
191 concentração e equilíbrio dos hormônios que regulam o ciclo estral sendo determinantes para a  
192 obtenção de bons índices reprodutivos. Nesse contexto, a qualidade e a viabilidade dos folículos,  
193 oócitos e embriões será influenciada pelo balanço hormonal, bem como pela quantidade de  
194 substratos atuante diretamente sobre estes. Assim, um ambiente metabólico desfavorável  
195 apresentará influência negativa sobre o desenvolvimento dos folículos ovarianos, maturação dos  
196 oócitos e subsequentemente desenvolvimento embrionário. Estudos avaliando a utilização de  
197 microminerais injetáveis (MMI) contendo fontes Zn, Cu, Mn e Se demonstraram a capacidade de  
198 aumentar a concentração plasmática destes minerais, com aumento na concentração de enzimas  
199 antioxidantes, melhora em marcadores de resposta imune e respostas positivas sobre o  
200 desempenho reprodutivo. Os resultados obtidos até o momento evidenciam efeitos positivos da  
201 utilização de MMI associados a protocolos reprodutivos em fêmeas bovinas, sendo necessárias  
202 ainda avaliações visando aprofundar os conhecimentos sobre os mecanismos associados aos seus  
203 efeitos, bem como sobre os fatores que podem apresentar influência positiva ou negativa sobre  
204 os resultados obtidos.

205

206 **Palavras-chaves:** estresse oxidativo, imunidade, minerais traço, vacas de corte

## 207 INJECTABLE TRACE MINERALS ON BEEF COWS REPRODUCTION: A REVIEW

208

### 209 ABSTRACT

210 This review is going to address the main literature information concerning the importance and  
211 function of traceminerals zinc (Zn), copper (Cu), manganese (Mn) and selenium (Se) and the  
212 effect of injectable trace minerals (ITM) on beef cows health and performance in the reproductive  
213 phase. There is a growing understanding on how nutritional factors are able to affect the  
214 reproductive performance of cows. First studies demonstrated body score condition (BCS) at  
215 parturition and energy balance importances to obtaining good reproductive ratios, and subsequent  
216 studies have demonstrated how other factors can have influence over the hormonal balance that  
217 regulates the estrous cycle and be determinant for obtaining good reproductive ratios. In this  
218 context, follicles, oocytes and embryos quality and viability are influenced by hormonal balance,  
219 as well as by the substrates amounts acting directly on them. Thus, an unfavorable metabolic  
220 environment will have a substantial influence on ovarian follicles development, oocyte  
221 maturation and subsequently on embryonic development. Studies that evaluated the use of ITM  
222 containing sources Zn, Cu, Mn and Se demonstrated the ability to enhance plasma concentration  
223 of these minerals, with an antioxidant enzymes concentration rise, immune response markers  
224 improvement, and positive effects on reproductive performance. Until the moment, he obtained  
225 results pointed positive effects on the use of ITM associated with reproductive protocols in cows.  
226 Evaluations are still necessary to deepen knowledge about mechanisms associated with their  
227 effects, as well as on the factors that may have positive or negative effects over obtained results.

228

229 **Key-words:** beef cattle, immunity, oxidative stress, trace minerals

## 230 INTRODUÇÃO

231

232 A função reprodutiva na fêmea bovina é influenciada por aspectos nutricionais.  
233 Nos primeiros estudos avaliando como a nutrição poderia afetar o desempenho  
234 reprodutivo de fêmeas bovinas, foi demonstrado como a condição corporal das matrizes  
235 no momento do parto e o balanço energético no pós-parto poderiam interferir no  
236 desempenho reprodutivo (WILTBANK et al., 1962; WHITMAN, 1975).

237 Desde então, estudos têm levado a um aumento progressivo no entendimento de  
238 como a nutrição atua sobre o balanço metabólico e exerce um controle sobre o sistema  
239 endócrino reprodutivo. Assim, diversos aspectos nutricionais da fêmea bovina poderão  
240 influenciar a produção e ação de hormônios que atuam como reguladores do processo  
241 reprodutivo, bem como podem influenciar as quantidades de substratos que atuam  
242 diretamente nos folículos ovarianos, oócitos e no embrião (D'OCCHIO et al., 2019).

243 Ainda, o ambiente metabólico celular apresenta influência sobre o  
244 desenvolvimento dos folículos ovarianos, maturação dos oócitos e subsequentemente no  
245 crescimento do embrião. Os folículos e oócitos possuem concentrações particularmente  
246 elevadas de ácidos graxos poliinsaturados, que são determinantes para a capacidade de  
247 fertilização do oócito e potencial de desenvolvimento inicial do embrião (WARZYCH et  
248 al., 2017; AARDEMA et al., 2011).

249 Os ácidos graxos poliinsaturados são mais sensíveis ao estresse oxidativo, e  
250 alterações em sua composição e funcionalidade irão influenciar diretamente o sucesso  
251 reprodutivo. Desse modo, intervenções que possam atenuar o estresse oxidativo nessas  
252 células e minimizar o dano causado pelos radicais livres poderão culminar em um  
253 melhor desenvolvimento folicular e embrionário, com consequentes ganhos na eficiência  
254 reprodutiva.

255 Zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn) e selênio (Se) são microminerais que atuam  
256 na estrutura e como cofatores de uma série de enzimas atuantes no sistema de proteção  
257 antioxidante (ANDRIEU, 2008; BATES et al., 2020), estando diretamente ligados à  
258 eficiência reprodutiva de vacas (SORDILLO e AITKEN, 2009).

259 A utilização de microminerais injetáveis (MMI) contendo fontes destes minerais  
260 têm indicado a capacidade de aumentar sua concentração plasmática (ARTHINGTON  
261 et al., 2014) e proporcionar aumento na concentração de enzimas antioxidantes  
262 (MACHADO et al., 2014; VEDOVATTO et al., 2020), com consequente melhora em

263 marcadores de resposta imune (BITTAR et al., 2020; MACHADO et al., 2013), além de  
264 efeito positivo no desempenho e taxa de prenhez.

265 Estudos avaliando a utilização de MMI têm sido realizados, visando determinar  
266 seu impacto sobre a saúde e desempenho produtivo e reprodutivo de bovinos em  
267 diferentes momentos do ciclo de produção. Trabalhos avaliando a utilização de MMI  
268 associado ao manejo reprodutivo de fêmeas bovinas demonstraram efeitos positivos  
269 sobre a concentração de enzimas antioxidantes, marcadores de estresse oxidativo e  
270 desempenho reprodutivo (SALES et al., 2011; MUNDELL et al., 2012; VEDOVATTO et  
271 al., 2019).

272 Nessa revisão serão sumarizadas as informações existentes na literatura a respeito  
273 da importância e função dos microminerais e o efeito da utilização de MMI sobre a saúde  
274 e desempenho de vacas de corte na fase reprodutiva.

275

276

## 277 **FISIOLOGIA REPRODUTIVA DA FÊMEA BOVINA**

278

279 Para melhor compreensão da influência da suplementação de microminerais sobre  
280 as características reprodutivas de vacas de corte é necessário conhecer a fisiologia do  
281 ciclo estral da fêmea bovina, bem como as funções e mecanismos de ação desses  
282 compostos no organismo animal.

283

284

### 285 **Puberdade**

286

287 A puberdade é caracterizada pelo início da produção de gametas aptos a  
288 fecundação, que na fêmea bovina pode ocorrer entre 8 e 36 meses de idade, variando em  
289 função da raça ou ainda do *status* nutricional (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

290 O surgimento da primeira ovulação e expressão de comportamento de desejo  
291 sexual marcam o início da puberdade. Entretanto, nessa fase o animal ainda não  
292 apresenta maturidade sexual, que geralmente ocorrerá após três a quatro ciclos estrais  
293 (FRANCO et al., 2016).

294

295

### 296 **Ciclo Estral**

297 A fêmea bovina é considerada poliestrica anual ou não estacional, apresentando  
298 intervalos deaios regulares durante todo o ano, independente da estação ou da  
299 luminosidade.

300 O ciclo estral compreende o intervalo entre dois períodos de receptividade sexual  
301 (estro), com durabilidade média de 21 dias, podendo variar entre 17 a 24 dias nas raças  
302 zebuinas. Sendo assim, o ciclo é subdividido em quatro fases distintas que são o proestro,  
303 estro, metaestro e diestro, caracterizados por diversas alterações morfo-funcionais no  
304 sistema hipotálamo-hipófise-ovário-útero capazes de preparar a fêmea para a ovulação  
305 e concepção (SWENSON et al., 1996).

306 O desencadeamento dos eventos do ciclo estral ocorre a partir da liberação de uma  
307 série de hormônios. Inicialmente o hipotálamo secreta o hormônio liberador de  
308 gonadotrofinas (GnRH), via sistema porta-hipofisário, estimulando a síntese e liberação  
309 pela adenohipófise dos hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH), que  
310 irão atuar nos ovários (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

311 O FSH promove o recrutamento folicular e estimula o crescimento inicial dos  
312 folículos ovarianos, enquanto o LH promove o crescimento final do folículo dominante  
313 (FD), a ovulação e formação do corpo lúteo (CL) por meio do processo de luteinização.  
314 O FD, em resposta á ação desses dois hormônios, secreta estradiol promovendo um  
315 *feedback* positivo com aumento significativo na liberação de LH cerca de 3 dias antes da  
316 ovulação. Uma vez iniciado o pico de LH a ovulação ocorrerá após uma média de 24 a  
317 32 horas (GONSALVES et al., 2002).

318 Após a ovulação, as células remanescentes do folículo onde ocorreu a liberação do  
319 oócito multiplicam-se e sofrem alterações morfo-funcionais, dando origem ao CL, uma  
320 estrutura altamente vascularizada, responsável pela liberação de progesterona (P4) que,  
321 por meio de um *feedback* negativo, inibe a secreção de GnRH pelo hipotálamo (HAFEZ e  
322 HAFEZ, 2004).

323 Durante o ciclo estral, no entanto, não há somente o crescimento do CL, havendo  
324 concomitantemente o processo de crescimento e regressão continuada de folículos  
325 ovarianos (onda folicular), denominada dinâmica folicular. Esse padrão de ondas ocorre  
326 em todos os estágios da vida de uma fêmea, até mesmo em períodos anovulatórios, tais  
327 como a fase pré-púbere, durante a gestação e no período pós-parto, sendo comum a  
328 ocorrência de duas a três ondas foliculares por ciclo (SÁ FILHO e VASCONCELOS,  
329 2010).

330 A onda de crescimento folicular consiste na emergência simultânea de um grupo  
331 de folículos com diâmetro de aproximadamente 2 a 3 mm. Esse recrutamento estimulado  
332 por um aumento transitório do hormônio FSH, cessa em aproximadamente três dias,  
333 quando o maior folículo atinge, em média, 8,5 mm em vacas *Bos tauros* e 6,1 mm em  
334 vacas *Bos indicus*. Nessa fase, denominada desvio (ou divergência), apenas o maior  
335 folículo continua a crescer e torna-se o FD, enquanto os demais sofrem regressão (SÁ  
336 FILHO e VASCONCELOS, 2010).

337 Na presença de um CL funcional, com secreção de P4 acima de 1 ng/mL, o  
338 estradiol liberado pelo FD da primeira onda folicular é incapaz de induzir o pico de LH  
339 e de provocar estro comportamental e ovulação, com conseqüente perda de dominância  
340 e atresia. Entre o oitavo e décimo dia do ciclo o processo se reinicia com a ocorrência da  
341 segunda onda folicular, e não havendo pico de LH o FD regride novamente, dando  
342 seqüência a terceira onda folicular, entretanto, em caso de pico de LH o FD torna-se o  
343 folículo ovulatório (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

344 Em caso de gestação positiva, o CL mantém a secreção de P4 até a fase de  
345 reconhecimento materno da gestação, que na fêmea bovina ocorre entre 16 a 25 dias após  
346 a fecundação. Caso contrário, na ausência de gestação ocorre a lise do corpo lúteo  
347 (luteólise) em função da secreção pulsátil de prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) produzida pelo  
348 endométrio, desencadeando o início de um novo ciclo estral (GORDON, 2004).

349 Um importante fator a ser considerado é que o recrutamento e crescimento  
350 folicular inicial são controlados pelo FSH e ocorrem mesmo em períodos anovulatórios  
351 (anestro), uma vez que a secreção de FSH parece ser inibida apenas em função de  
352 desnutrição severa. Por outro lado, após a fase de desvio folicular, como o crescimento  
353 do FD ocorre por influência direta e proporcional a secreção de LH, mesmo havendo  
354 emergência contínua de folículos e crescimento até a fase de desvio, fatores que  
355 interfiram na frequência de pulsos de LH podem impedir o crescimento e ovulação do  
356 FD (SÁ FILHO e VASCONCELOS, 2010).

357

358

359 **Anestro**

360

361 A ocorrência de falhas na fertilidade das vacas de corte está relacionada a baixa  
362 taxa de serviço e de concepção durante a estação de monta, em virtude principalmente  
363 da situação de anestro reprodutivo em que as fêmeas se encontram.

364 O anestro é caracterizado pela ausência de ciclo estral, período em que a fêmea não  
365 está apta a estabelecer uma nova gestação, sendo que na vaca, pode ocorrer em função  
366 de desnutrição ou no período pós-parto (SÁ FILHO e VASCONCELOS, 2010; RISQUES  
367 et al., 2020).

368 O anestro pós-parto é um período de transição no qual o eixo hipotálamo-hipófise-  
369 ovário-útero se recupera da prenhez anterior, ocorrendo nas primeiras 2 a 4 semanas  
370 pós-parto a reposição das reservas de LH na hipófise anterior e a involução uterina,  
371 reestabelecendo a ciclicidade (RISQUES et al., 2020).

372 A duração do anestro pós-parto é na bovinocultura de corte o fator de maior  
373 importância para determinação do intervalo entre partos, a qual pode ser influenciada  
374 pela presença do bezerro, balanço energético da vaca, estação do ano, idade e raça da  
375 matriz, presença de touros, ocorrência de partos gemelares, além de problemas como  
376 distocia e retenção de placenta, em função de doenças do trato reprodutivo ou  
377 deficiências nutricionais (SÁ FILHO e VASCONCELOS, 2010).

378 A condição anovulatória no período pós-parto consiste na emergência de ondas  
379 foliculares, que atingem a fase de divergência e dominância, porém sem que haja uma  
380 taxa adequada de crescimento do FD, levando a uma produção insuficiente de estradiol  
381 e conseqüentemente a ausência de um pico de LH, ocasionando a atresia do folículo.  
382 Assim, a fase de anestro pós-parto na vaca é caracterizada por diversas ondas  
383 anovulatórias de curta duração (MONTIEL e AHUJA, 2005).

384 O anestro pode ocorrer em função de uma hipersensibilidade do hipotálamo ao  
385 estradiol, sendo que baixas concentrações deste hormônio são capazes de inibir a  
386 secreção pulsátil de GnRH, e conseqüentemente, a secreção de LH, não havendo  
387 estímulo para a manutenção do crescimento folicular após a fase de divergência,  
388 gerando atresia e nova onda folicular (SÁ FILHO e VASCONCELOS, 2010).

389 O retorno da ciclicidade ocorre quando, em condições nutricionais favoráveis, há  
390 diminuição da sensibilidade do hipotálamo ao estradiol, aumento nos pulsos de LH até  
391 que o FD desenvolva-se e produza estradiol suficiente para induzir o pico de LH e a  
392 ovulação (SÁ FILHO e VASCONCELOS, 2010).

393 O estado nutricional da vaca tem influência sobre o atraso na ovulação pós-parto,  
394 pois, quanto maior o balanço energético negativo (BEN), maior o tempo para retorno a  
395 ciclicidade. Assim, a divisão de nutrientes para suprir as exigências da vaca, bem como a  
396 mobilização das reservas corporais durante o período pós-parto leva o animal a uma

397 perda de ECC podendo gerar uma parada do ciclo estral em vacas de corte (D'OCCHIO  
398 ET AL., 2019; MONTIEL e AHUJA, 2005).

399 Condições de manejo, sanidade e nutrição adequadas podem possibilitar  
400 interações positivas, promovendo uma melhora no desempenho produtivo e nos índices  
401 reprodutivos. Sendo assim, é fundamental o conhecimento das relações entre a nutrição  
402 e a reprodução para a correta tomada de decisão e estabelecimento de estratégias  
403 adequadas para o aperfeiçoamento dos programas de melhoramento genético e  
404 multiplicação animal, como, por exemplo, a inseminação artificial, proporcionando  
405 aumento na eficiência produtiva do rebanho.

406

407

#### 408 **Influência da nutrição sobre eficiência reprodutiva da fêmea bovina**

409

410 Dentre as fontes de impacto na performance reprodutiva, um papel de destaque é  
411 dado a nutrição, que afeta diretamente a fisiologia e o desempenho reprodutivo da  
412 fêmea bovina (FRANCO et al., 2016).

413 A nutrição pode influenciar diretamente a fertilidade através do fornecimento de  
414 nutrientes específicos, que são necessários para os processos de desenvolvimento do  
415 folículo, ovulação, maturação oocitária, fertilização, estabelecimento da prenhez e  
416 sobrevivência do embrião, ou de forma indireta, atuando sobre as concentrações  
417 circulantes dos hormônios e outros metabólitos sensíveis aos nutrientes requeridos nesse  
418 processo (ROBINSON et al., 2006).

419 As pesquisas sobre a relação entre nutrição e reprodução dos ruminantes  
420 estendem-se desde as respostas no animal, até eventos celulares e moleculares que  
421 envolvem a produção de gametas, o desenvolvimento embrionário, o crescimento e  
422 implantação do feto.

423 O estado nutricional dos animais pode interferir na reprodução de maneira  
424 positiva ou negativa, com efeitos mediados diretamente pelos nutrientes da dieta ou  
425 indiretamente, via sistema endócrino no eixo hipotálamo-hipófise-ovário-útero  
426 (SARTORI e GUARDIEIRO, 2010).

427 Quando a disponibilidade de glicose, um metabólito primário utilizado pelo  
428 sistema nervoso central, encontra-se inadequada, causa redução da secreção de GnRH  
429 hipotalâmico, influenciando negativamente o ciclo estral (WETTEMAN et al., 2003). Essa  
430 disponibilidade pode ser corrigida pelo aumento de precursores gliconeogênicos via

431 manipulação dietética, contudo, esse aumento está mais relacionados a uma melhora da  
432 eficiência energética como um todo, do que ao aumento direto nos níveis de glicose  
433 sanguínea.

434 A inadequação de precursores gliconeogênicos prejudica a utilização do acetato,  
435 principal ácido graxo volátil (AGV) produzido pela fermentação ruminal,  
436 redirecionando seu metabolismo para a produção de ATP via ciclos menos importantes,  
437 ou até prejudiciais, como a síntese excessiva de corpos cetônicos (principalmente  $\beta$ -  
438 hidroxibutirato). O efeito da baixa disponibilidade energética leva a mobilização do  
439 tecido adiposo e aumento de ácidos graxos não esterificados (AGNE) na circulação  
440 sanguínea. A insuficiência de glicose juntamente com o excesso de AGNE promove a  
441 síntese de corpos cetônicos. Essas mudanças nos metabólitos plasmáticos ocasionam  
442 redução da concentração e amplitude dos pulsos de LH (ZULU et al., 2002).

443 A insulina é um importante hormônio liberado pelo pâncreas durante a absorção  
444 dos nutrientes da dieta e responsável principalmente pelas reações anabólicas do  
445 organismo, podendo ser utilizada como indicador do estado nutricional do animal.  
446 Baixos níveis de insulina na circulação sanguínea são observados em animais em  
447 condições nutricionais restritas, comparativamente a animais sob regime de alimentação  
448 *ad libitum* (PIRES et al., 2011; SÁ FILHO e VASCONCELOS, 2010).

449 Estudos demonstram que baixas concentrações de insulina estão associadas a  
450 manifestações clínicas de hipofunção ovariana, anovulação e baixa taxa de prenhez.  
451 Desta forma, nos ovários a insulina tem relação com o estímulo a proliferação celular e  
452 esteroidogênese (WETTEMANN e BOSSIS, 2000), agindo sinergicamente ao FSH na  
453 diferenciação morfológica das células da granulosa, promovendo o aumento na  
454 capacidade de ligação do LH aos receptores (AMSTERDAM et al. 1988) ou estimulando  
455 a produção de P4 pelo corpo lúteo (HAQ e PATE, 1992; ROBINSON et al., 2006).  
456 Enquanto que no fígado, a insulina está associada a produção do fator de crescimento  
457 semelhante a insulina (IGF-I; WEBB et al., 2004).

458 O IGF-I é outro hormônio mediador do funcionamento do sistema reprodutivo  
459 que é influenciado pelo estado nutricional. Produzido principalmente pelo fígado, atua  
460 no hipotálamo estimulando a secreção de GnRH, na adenohipófise promovendo o  
461 estímulo a secreção de gonadotrofinas, enquanto nos ovários atua no aumento da  
462 sensibilidade dos folículos aos hormônios FSH e LH, a proliferação e diferenciação das  
463 células da granulosa, além de ser necessário para a formação e funcionamento do corpo

464 lúteo (D'OCCHIO et al., 2019). Em situações de elevada demanda energética, como no  
465 período de BEN, as concentrações circulantes de IGF-I estão diminuídas.

466 A insulina também possui função reguladora da leptina, um hormônio secretado  
467 pelo tecido adiposo, que atua no eixo hipotalâmico-hipofisário com função informativa  
468 sobre o estado nutricional, sinalizando a manutenção da reprodução em situação  
469 positiva, e o bloqueio quando as reservas energéticas são insuficientes, além de  
470 apresentar efeito positivo direto sobre a secreção de GnRH (WYLIE, 2011).

471 Devido a essa ação, maiores concentrações de leptina promovem o aumento na  
472 atividade de esteróides sexuais nas gonadas, com consequente estímulo na proliferação  
473 das células do epitélio endometrial uterino (WYLIE, 2011; D'OCCHIO et al., 2019).

474 A condição corporal do animal no período pós-parto é um bom indicativo da  
475 condição energética e da ciclicidade, sendo que a maneira mais simples de avaliação do  
476 estado nutricional de uma vaca de cria é por meio do escore de condição corporal (ECC).  
477 Essa é uma medida subjetiva que estima as reservas de energia corporal dos animais,  
478 por meio de uma escala de pontuações, que pode ser de 1 a 9, onde 1 corresponde ao  
479 animal magro e 9 ao animal gordo, ou de 1 a 5, onde 1 corresponde ao animal magro e 5  
480 ao animal gordo (FRANCO et al., 2016; NICHOLSON e BUTTERWORTH, 1986).

481 Bons índices reprodutivos são observados em vacas bem nutridas, que apresentam  
482 ECC de 5 a 6 ao parto e no início da estação de monta, com rápido retorno ao cio e  
483 maiores taxas de reconcepção, prenhez e de parto, parindo mais cedo e desmamando  
484 bezerros mais pesados (COOKE et al., 2021).

485 Ainda, tem sido observada correlação positiva entre ECC e concentração  
486 sanguíneas de IGF-I, leptina, insulina, glicose e AGNE (CICCIOLI et al., 2003), com  
487 influência positiva sobre as funções ovarianas, principalmente sobre o tamanho do  
488 folículo dominante, área do corpo lúteo, taxa de estro e taxa de ovulação.

489 Outros fatores além do balanço energético e ECC da matriz poderão influenciar os  
490 índices reprodutivos do rebanho. O estresse, desafios sanitários, resposta imune  
491 reduzida, níveis insuficientes de minerais e vitaminas e estresse oxidativo podem estar  
492 associados a falhas de concepção, mesmo em animais com boa condição corporal.

493 O estresse causado a nível celular, influenciado pelas concentrações séricas de  
494 alguns metabólitos, pode comprometer a qualidade dos oócitos e das células da  
495 granulosa (LEROY et al., 2004). Como consequência desse estresse aumentado, observa-  
496 se a aceleração do metabolismo embrionário, que por sua vez pode comprometer a

497 sobrevivência embrionária, principalmente no período pré implantação (LEESE, 2002;  
498 ROOKE et al., 2004; NISHIMURA et al., 2020).

499 Assim, outros fatores que possam influenciar o estresse a nível celular poderão  
500 interferir na produção de hormônios, qualidade folicular, implantação e  
501 desenvolvimento embrionário. Dentre eles, os microminerais estão envolvidos em uma  
502 série de vias metabólicas, com reflexos sobre a produção de hormônios, metabolismo  
503 celular e estresse oxidativo, merecendo investigação sobre seu impacto no desempenho  
504 reprodutivo de bovinos.

505

506

## 507 **IMPORTÂNCIA DOS MICROMINERAIS NO ORGANISMO ANIMAL E SUA** 508 **RELAÇÃO COM A REPRODUÇÃO**

509

510 Os microminerais exigidos por ruminantes são cobalto (Co), cobre (Cu), cromo  
511 (Cr), ferro (Fe), iodo (I), manganês (Mn), molibdênio (Mo), níquel (Ni), selênio (Se) e  
512 zinco (Zn), os quais atuam principalmente como cofatores enzimáticos, contribuindo de  
513 forma estrutural ou funcional para a atividade de enzimas, hormônios ou vitaminas  
514 (NRBC, 2016).

515 Desta forma, além das características hormonais e balanço energético, sabe-se que  
516 deficiência de microminerais pode afetar a função reprodutiva dos animais (BUTLER et  
517 al., 2019), com destaque para Zn, Cu, Mn e Se.

518 O Cu é um micromineral presente em diversas enzimas, cofatores e proteínas  
519 reativas. Dentre elas podemos citar a citocromo C oxidase, superóxido dismutase (SOD),  
520 ceruloplasmina e tirosinase, que atuam na respiração celular, proteção contra agentes  
521 oxidantes e no transporte de Fe, sendo este mineral fundamental para a atividade normal  
522 dessas enzimas (SUTTLE, 2010; NRBC, 2016).

523 O citocromo C oxidase é um complexo enzimático responsável pela transferência  
524 terminal de elétrons na cadeia respiratória, sendo assim essencial para a geração de  
525 energia em todos os tecidos. Baixas atividades dessas enzimas podem desencadear uma  
526 série de distúrbios, reduzindo assim sua atividade (SUTTLE, 2010; PAUL e DEY, 2015).

527 Deficiências de Cu estão geralmente associadas a redução da atividade dessas  
528 cuproenzimas, sendo comumente manifestadas através da ocorrência de anemias,  
529 diarreia, distúrbios ósseos, falhas na pigmentação e queratinização da pele e alterações

530 hematológicas, decorrentes de alterações no metabolismo do ferro (ROSA e MATTIOLI,  
531 2002).

532 Deficiências de Cu são associadas também a distúrbios reprodutivos como retardo  
533 no processo de involução uterina, ciclos silenciosos e ciclos estrais irregulares, uma vez  
534 que as funções deste mineral estão associadas às enzimas relacionadas com o citocromo  
535 C oxidase, transporte de albumina e ceruloplasmina, essenciais para o bom  
536 funcionamento desses processos (OVERTON e YASUI, 2014).

537 O Zn atua como componente essencial de mais de 300 enzimas, incluindo enzimas  
538 envolvidas na síntese de DNA e RNA, no sistema de proteção antioxidante como  
539 componente das enzimas SOD Cu-Zn e da metalotioneína, em reações enzimáticas  
540 associadas ao metabolismo de carboidratos, absorção de lipídeos, síntese proteica e  
541 esteroidogênese, sendo essencial em células que apresentam taxas elevadas de  
542 proliferação e diferenciação como nas gonadas, no sistema imune e no feto, (SPEARS e  
543 WEISS, 2008; OVERTON e YASUI, 2014).

544 Assim, o Zn apresenta papel fundamental na expressão gênica, que por sua vez  
545 interfere em uma variedade de processos do organismo como a divisão celular,  
546 crescimento, produção de hormônios, controle do apetite e função imune. Apresenta  
547 também papel catalítico, estrutural ou como cofator de diversas enzimas que regulam  
548 diferentes processos fisiológicos (OVERTON e YASUI, 2014).

549 Dietas com níveis inadequados de Zn resultam em retardo de crescimento,  
550 anorexia, baixa ingestão de alimentos e eficiência alimentar, baixa fertilidade, baixa  
551 resistência a doenças e ao estresse, resposta imune reduzida e aumento na retenção de  
552 placenta (HOSTETLER et al., 2003).

553 Todas as fases do ciclo reprodutivo das fêmeas, envolvendo o estro, gestação e  
554 lactação são afetadas por deficiências de Zn, que podem acarretar também em  
555 teratogênese fetal, gestação prolongada, baixos pesos ao nascimento e desmame e  
556 dificuldade de parto (SMITH e AKINBAMIJO, 2000; HOSTETLER et al., 2003).

557 O Mn está envolvido em muitos dos mesmos processos que o Zn e Cu, sendo  
558 componente essencial de enzimas como a arginase, piruvato carboxilase, SOD e ativador  
559 de enzimas como quinases, hidrolases, transferases e descarboxilases. Dessa forma, este  
560 micromineral está envolvido na função imune adequada, no sistema de proteção  
561 antioxidante e no metabolismo de carboidratos e lipídios (OVERTON e YASUI, 2014). A  
562 piruvato carboxilase está diretamente envolvida nos processos de obtenção de energia,

563 sendo essa enzima responsável por catalisar o primeiro passo da síntese de carboidratos  
564 na gliconeogênese.

565 Níveis inadequados de Mn podem levar a ocorrência de crescimento reduzido e  
566 anormalidades ósseas em animais jovens, além de problemas reprodutivos  
567 caracterizados por estros irregulares ou silenciosos, anestro, atrasos na ovulação, baixos  
568 índices de concepção, abortos e baixos pesos ao nascimento (HOSTETLER et al., 2003).

569 O Se está presente nas glutathionas peroxidases (GSH-Px), que atuam na regulação  
570 dos processos oxidativos e proteção a membrana celular contra os radicais livres gerados  
571 no metabolismo intermediário. Essas enzimas atuam catalizando a redução desses  
572 radicais e assim prevenindo o dano oxidativo causado as membranas mitocondriais e  
573 celulares, sendo esse papel compartilhado com outras enzimas como a SOD dependente  
574 de Cu e Zn ou Mn, catalase e glutathiona-S-transferase, além da vitamina E (PATTERSON  
575 et al., 2003; HEFNAWY e TORTORA-PEREZ, 2010; BINDARI et al., 2013).

576 Este mineral também está presente nas iodotironinas diodinasas que atuam na  
577 conversão do hormônio tireoidiano tiroxina (T4) em sua forma ativa triiodotironina (T3),  
578 influenciando assim uma ampla gama de processos fisiológicos como a taxa metabólica  
579 basal, parto e resistência ao estresse por frio (HEFNAWY e TORTORA-PÉREZ, 2010;  
580 CHAUHAN et al., 2014).

581 Outras selenoproteínas estão presentes ainda nos tecidos muscular e ósseo e no  
582 plasma, atuando em funções como transportadores, antioxidantes e proteínas de  
583 armazenamento (SUTTLE, 2010).

584 Este mineral está presente em elevadas concentrações em tecidos do ovário,  
585 placenta, hipófise e das glândulas adrenais, manifestando sua importância para  
586 processos reprodutivos. Níveis insuficientes de Se podem levar a ocorrência de maior  
587 incidência de endometrites, ovários císticos e retenção de placenta, bem como maiores  
588 índices de mortalidade perinatal e pós-natal, além da baixa resistência a doenças  
589 (SUTTLE, 2010; HEFNAWY e TORTORA-PEREZ, 2010).

590 A melhoria dos aspectos produtivos, reprodutivos e sanitários associados ao  
591 adequado suprimento das demandas desses microminerais em animais de produção  
592 parece estar associado a sua atividade no controle do estresse oxidativo celular, que atua  
593 na redução dos danos causados pelos radicais livres, com consequentes melhorias na  
594 operação dos diversos processos metabólicos associados a obtenção de energia, síntese  
595 de hormônios e metabólitos e manutenção das membranas e atividade celular.

596

## 597 IMPLICAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO NA REPRODUÇÃO

598

599 As reações de oxidação ocorrem de forma natural no metabolismo animal, gerando  
600 como resíduos desse processo radicais livres e espécies reativas ao oxigênio como o  
601 radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ), óxido nítrico ( $NO^{\cdot}$ ), peróxido de hidrogênio  
602 ( $H_2O_2$ ), entre outros. Esses radicais, por sua vez, podem proporcionar danos em outras  
603 macromoléculas e, conseqüentemente, interrupção ou falhas em processos bioquímicos.

604 Como mecanismo de regulação, o organismo animal possui um intrincado sistema  
605 antioxidante, que atua na redução desses radicais livres à medida que estes são  
606 produzidos pelo metabolismo, minimizando a possibilidade de danos a células,  
607 organelas e metabólitos em decorrência de seu acúmulo.

608 O sistema antioxidante atua por meio de sistemas enzimáticos, como via SOD,  
609 catalase, GSH-Px e glutathione redutase, ou por meio de sistemas não enzimáticos, por  
610 meio do ácido ascórbico, carotenoides, ceruloplasmina, ácido úrico, bilirrubina, entre  
611 outros (ANDRIEU, 2008).

612 Contínuamente moléculas antioxidantes são produzidas ou utilizadas pelas  
613 células visando protegê-las dos danos causados pelos radicais livres. Contudo, caso haja  
614 algum desequilíbrio entre os processos de oxidação e oxiredução, os radicais livres,  
615 produtos finais da oxidação, podem se acumular e assim provocar danos aos diferentes  
616 tecidos.

617 Assim, o estresse oxidativo resulta da falta de equilíbrio celular entre as espécies  
618 pró-oxidantes e antioxidantes, aumentos expressivos na produção de espécies reativas  
619 ao oxigênio (ROS), em associação a uma defesa antioxidante insuficiente caracterizam a  
620 sua ocorrência (Pisoschi et al., 2021).

621 A vida aeróbia emprega o  $O_2$  comoceptor final de elétrons, gerando uma  
622 produção constante de ROS. Estes são gerados no metabolismo oxidativo mitocondrial  
623 durante a respiração celular. Nos macrófagos, ROS são produzidos enzimaticamente  
624 para auxiliar na destruição de agentes patogênicos (Starkov, 2008).

625 A reação global que ocorre na mitocôndria é representada pela redução do  $O_2$  para  
626 a formação de água ( $O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2H_2O$ ), essas reações mantêm o gradiente de íons  
627 através da membrana e como oceptor final é dotado de alto potencial redutor, o  
628 resultado final é a elevada geração de energia durante o seu processo de redução  
629 (Cheignon et al., 2018). Os doadores de elétrons para esta reação são principalmente  
630 compostos de origem alimentar.

631 Porém, reações não enzimáticas indesejáveis, responsáveis pela produção de ROS,  
632 ocorrem durante as etapas intermediárias da redução do oxigênio molecular na cadeia  
633 respiratória. A redução parcial do  $O_2$  pode resultar na produção de superóxido ( $O_2 + e^-$   
634  $\rightarrow O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $2 O_2^- + 2 H^+ + e^- \rightarrow H_2O_2 + O_2$ ) e o radical hidroxila ( $H_2O_2$   
635  $+ e^- \rightarrow OH^- + OH$ ). Estes intermediários são deletérios devido a sua elevada reatividade,  
636 atuando como fortes agentes oxidantes (Pisoschi et al., 2021).

637 O estresse oxidativo decorrente da produção excessiva de ROS, em associação com  
638 um mecanismo antioxidante insuficiente leva a ocorrência de danos em biomoléculas  
639 chave e como resultado das modificações oxidativas são observadas a peroxidação  
640 lipídica, carbonilação de proteínas, nitração, sulfoxidação, danos ao DNA como quebras  
641 de cadeia ou oxidação de nucleobases (Klaunig et al., 2010, Pisoschi et al., 2021).

642 O ataque continuado de ROS destrói a permeabilidade seletiva de membrana  
643 celular, resultando em peroxidação lipídica, altera a configuração de proteínas causando  
644 perda de funcionalidade, enquanto as alterações oxidativas do DNA levam a ocorrência  
645 de mutações, erros de replicação, alterações de estabilidade genômica e morte celular. A  
646 modificação destas biomoléculas é frequentemente acompanhada pela perda de suas  
647 funcionalidades (Klaunig et al., 2010; Singh et al., 2019).

648 O termo antioxidante refere-se a compostos capazes de impedir ou retardar a  
649 oxidação de substratos (Pisoschi et al., 2021), estes atuam sequestrando radicais e  
650 convertendo-os em radicais mais estáveis ou espécies não-radicais através do consumo  
651 de oxigênio molecular livre, decomposição de peróxidos, quelação de íons metálicos pró-  
652 oxidativos ou inibição de enzimas oxidativas.

653 Os antioxidantes enzimáticos incluem as enzimas superóxido dismutase, que  
654 converte o radical superóxido ( $O_2^-$ ) em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), a glutathione  
655 peroxidase, que decompõe o peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos em  $H_2O$  com o  
656 gasto de glutathione e catalase, que atua na decomposição de peróxido de hidrogênio em  
657 água e moléculas de oxigênio (Pisoschi et al., 2021).

658 Nesse contexto, em períodos que proporcionem uma demanda metabólica  
659 aumentada, a velocidade de produção de radicais livres pode ser superior à capacidade  
660 de neutralização dos radicais livres gerados pelo sistema antioxidante, proporcionando  
661 assim um aumento do estresse oxidativo nas células, podendo culminar na ocorrência de  
662 danos oxidativos a diferentes moléculas como proteínas, carboidratos e lipídios,  
663 prejudicando a função celular normal (BERNABUCCI et al., 2002).

664           Esse aumento do estresse oxidativo tem sido indicado como um importante fator  
665 para o aumento da ocorrência de respostas inflamatórias e redução da resposta imune  
666 em animais de produção, aumentando sua susceptibilidade a problemas sanitários e  
667 metabólicos, que em última instância acarretarão em aumento dos gastos com  
668 tratamentos e perda de produtividade (BERNABUCCI et al., 2005; SHARMA et al., 2011).

669           Várias enzimas e proteínas envolvidas no sistema de proteção antioxidante são  
670 dependentes da presença de microminerais, por atuarem como parte de sua estrutura  
671 ou como cofatores. Devido à sua participação nos processos antioxidantes, a demanda  
672 de alguns microminerais pode ser aumentada em períodos de elevada demanda  
673 metabólica, e assim, a baixa disponibilidade desses nutrientes no metabolismo animal  
674 poderia provocar desequilíbrios no sistema antioxidante (SPEARS e WEISS, 2008).

675           Os microminerais Zn, Cu, Mn e Se são considerados minerais essenciais nos  
676 processos antioxidantes, atuando como componentes do sistema antioxidante por serem  
677 constituintes das enzimas como a SOD, que atua na redução de radicais  $O_2^-$  a  $H_2O_2$ . O Se  
678 participa nesses processos como componente da enzima GSH-Px, que atua na conversão  
679 do  $H_2O_2$  a água ( $H_2O$ ) (ANDRIEU, 2008; BATES et al., 2020).

680           A disponibilidade desses minerais em quantidades adequadas no organismo  
681 animal pode auxiliar na manutenção do bom funcionamento do sistema de proteção  
682 antioxidante, atuando na prevenção ou redução da ocorrência de danos causados pelo  
683 estresse oxidativo (BERNABUCCI et al., 2002). De forma inversa, em caso de baixa  
684 disponibilidade desses microminerais, a capacidade do sistema antioxidante poderá ser  
685 deprimida devido ao comprometimento da capacidade de produção de enzimas  
686 antioxidantes, gerando incrementos nos danos oxidativos aos diferentes tecidos,  
687 moléculas biológicas e membranas celulares, podendo provocar disfunções celulares ou  
688 mesmo seu rompimento.

689           Nesse contexto, evidências tem sugerido que o fornecimento desses microminerais  
690 via aplicações subcutâneas, podem proporcionar efeitos positivos sobre a saúde animal  
691 quando associados a períodos de maior atividade metabólica, no desmame, período  
692 reprodutivo, durante o transporte, em infecções entre outras situações (ANDRIEU,  
693 2008). O estresse fisiológico associado à esses períodos pode deprimir o sistema imune,  
694 facilitando a ocorrência e instalação de infecções, que prejudicam a saúde e desempenho  
695 animal.

696           Os efeitos positivos desse fornecimento de microminerais estão associados a  
697 melhora da resposta imune, redução nos níveis de marcadores de atividade inflamatória

698 e estresse oxidativo, com consequente melhora no desempenho produtivo e reprodutivo  
699 (YASUI et al., 2009; OVERTON e YASUI, 2014).

700 A aplicação de microminerais injetáveis contendo fontes de Zn, Cu, Mn e Se tem  
701 demonstrado proporcionar incremento no *status* de microminerais de bovinos, podendo  
702 ser utilizada de forma estratégica em fases do ciclo de produção que proporcionem um  
703 incremento na demanda metabólica do animal, como por exemplo no período  
704 reprodutivo, com consequente efeito sobre a produção de antioxidantes, auxiliando na  
705 manutenção da saúde e desempenho (ARTHINGTON e HAVENGA, 2012; POGGE et  
706 al., 2012).

707

708

### 709 EFEITO DA APLICAÇÃO DE MICROMINERAIS INJETÁVEIS EM VACAS

710

711 A aplicação de microminerais via subcutânea disponibiliza os nutrientes na  
712 corrente sanguínea em curto prazo, podendo estes ser utilizados pelas células, ou ainda  
713 metabolizados pelo fígado, sendo ligados a proteínas de armazenamento e retidos no  
714 órgão para disponibilização em momentos de demanda futura (SUTTLE, 2010).

715 Após a aplicação de MMI, os períodos de elevação das concentrações plasmáticas  
716 e hepáticas poderão ser variáveis, havendo uma possível relação com o *status* prévio de  
717 cada mineral no momento da aplicação de MMI.

718 Avaliando a aplicação de MMI, Teixeira et al. (2014) observaram que as  
719 concentrações de Zn e Se no soro permaneceram elevadas por cerca de duas semanas  
720 comparativamente a animais que não receberam MMI. Pogge et al. (2012) observaram  
721 elevação nas concentrações de Cu plasmático por período semelhante, relatando ainda  
722 picos nas concentrações plasmáticas Zn, Mn e Se que ocorrem entre 8 a 10 horas após a  
723 aplicação dos MMI, com redução gradativa após a aplicação.

724 O maior aporte destes microminerais após a aplicação de MMI pode proporcionar  
725 um incremento na concentração plasmática de enzimas dependentes associadas ao  
726 controle do estresse oxidativo como a SOD, encontrada nas formas de Cu/Zn-SOD e  
727 Mn-SOD e GSH-Px dependente de Se (MARKCLUND, 1980).

728 As concentrações de SOD podem permanecer elevadas por até 10 dias (TOMASI  
729 et al., 2018), enquanto a GSH-Px pode permanecer em níveis elevados por até 15 dias  
730 (POGGE et al., 2012). Assim, a elevação nas concentrações de enzimas antioxidantes após

731 a aplicação de MMI pode proporcionar um melhor controle do estresse oxidativo nas  
732 células, reduzindo assim os danos ocasionados por este.

733 Tal melhora no controle do estresse oxidativo pode se refletir em melhora no  
734 sistema imunológico dos animais suplementados, tendo em vista a elevada sensibilidade  
735 do sistema imune ao estresse oxidativo devido a presença de membranas celulares com  
736 elevada participação de ácidos graxos poli-insaturados, mais sensíveis a oxidação  
737 lipídica (TEIXEIRA et al., 2014; SPEARS E WEISS, 2008), o que poderá se refletir em  
738 melhorias na sanidade e desempenhos produtivos e reprodutivo do rebanho.

739 Do ponto de vista reprodutivo, as espécies reativas ao oxigênio (ROS) podem  
740 interferir em uma série de processos, influenciando processos como a maturação do  
741 oócito e sua fecundação, o desenvolvimento embrionário, bem como a manutenção da  
742 gestação (AGARWAL et al., 2005).

743 Como estes processos são amplamente influenciados pelo estresse oxidativo, o  
744 aumento na disponibilidade de microminerais via MMI poderia ser uma ferramenta útil  
745 para aumentar a concentração de enzimas antioxidantes durante o período reprodutivo,  
746 permitindo assim uma possível melhora nas condições do ambiente uterino, dinâmica  
747 folicular e desenvolvimento embrionário inicial, o que pode se refletir em um aumento  
748 da fertilidade de vacas suplementadas (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999).

749 Assim, estudos vêm sendo realizados buscando avaliar a relação da aplicação de  
750 MMI e o desempenho reprodutivo de bovinos, e os resultados descritos dos efeitos dos  
751 microminerais sobre a reprodução têm sustentado o conceito de que estes apresentam  
752 papel fundamental em vias metabólicas e enzimáticas críticas para a concepção e  
753 desenvolvimento embrionário (HOSTETLER et al., 2003; WILDE, 2006).

754 A aplicação de uma mistura de microminerais 17 dias antes da realização de  
755 transferência de embriões, associada ao início do protocolo de sincronização do estro,  
756 proporcionou aumento na taxa de concepção de animais suplementados  
757 comparativamente ao grupo controle (43 e 30%, respectivamente) quando realizado em  
758 novilhas cruzadas (SALES et al., 2011).

759 A aplicação de MMI em vacas e novilhas cruzadas Angus x Hereford 105 dias antes  
760 do parto e novamente 30 dias antecedendo a inseminação artificial em tempo fixo (IATF),  
761 também proporcionou aumento nas taxas de prenhez (60,2%) comparativamente aos  
762 animais do grupo controle (51,2%) (MUNDELL et al., 2012). De forma semelhante, a  
763 aplicação de MMI entre 230 e 260 dias de gestação e 30 dias pós-parto aumentou a taxa  
764 de prenhez geral em vacas leiteiras (YAZLIK et al., 2021).

765 Vedovatto et al. (2019) observaram que a aplicação de uma dose única (6  
766 mL/animal) 30 dias antecedendo a IA em um protocolo de IATF proporcionou maiores  
767 concentrações plasmáticas de SOD entre 22 e 17 dias e de GSH-Px 26 dias antecedendo  
768 a IA, não havendo efeito sobre as concentrações plasmáticas de haptoglobina,  
769 ceruloplasmina e progesterona. Estes autores observaram ainda uma tendência de  
770 aumento na taxa de prenhez em animais com baixo escore de condição corporal (ECC).

771 Com a aplicação de três injeções de 5 mL de microminerais realizadas aos 230 e  
772 260 dias de gestação e 35 dias pós-parto, Machado et al. (2013) observaram redução na  
773 ocorrência de natimortos (6,1 vs. 4,3%) e endometrites (34,2 vs. 28,6%), todavia, não  
774 foram observados efeitos positivos sobre o intervalo entre o nascimento e a concepção  
775 entre os animais suplementados e controle.

776 Outros autores não relataram efeitos significativos da aplicação de MMI sobre o  
777 desempenho reprodutivo em diferentes protocolos de aplicação (PANCINI et al., 2020;  
778 SPRINGMAN et al., 2018; STOKES et al., 2018; WILLMORE et al., 2021).

779 Existem ainda relatos de efeitos deletérios da aplicação de MMI sobre o  
780 desempenho reprodutivo. Stokes et al. (2019) observaram menores taxas de prenhez pela  
781 IA (53 vs. 67%) em primíparas suplementadas com MMI durante a gestação anterior  
782 (205, 114 e 44 dias pré parto). A aplicação de duas doses de MMI (primeira dose no pré  
783 parto e a segunda dose 38 a 45 dias pós-parto) também se refletiu em menores taxas de  
784 concepção a primeira IA (VANEGAS et al., 2004).

785 As respostas variáveis observadas na literatura podem ser decorrentes de  
786 diferentes causas, como o momento da aplicação de MMI, o *status* nutricional prévio e a  
787 possível ocorrência de respostas inflamatórias no local da aplicação (ARTHINGTON et  
788 al., 2014; YAZLIK et al., 2021), merecendo ainda avaliações a respeito dos mecanismos e  
789 fatores que proporcionam estas variações.

790

791

## 792 CONCLUSÕES

793

794 Os microminerais são componentes essenciais de diversas enzimas que  
795 apresentam importante papel na função reprodutiva. Desta forma os resultados obtidos  
796 até o momento evidenciam os efeitos positivos da utilização de MMI associados a  
797 protocolos reprodutivos em fêmeas bovinas, sendo necessárias ainda avaliações visando  
798 aprofundar os conhecimentos sobre os mecanismos associados aos seus efeitos, bem

799 como sobre os fatores que podem apresentar influência positiva ou negativa sobre os  
800 resultados obtidos.

801

802

### 803 REFERÊNCIAS

804

805 AARDEMA, H.; VOS, P. L. A. M.; LOLICATO, F.; ROELEN, B. A. J.; KNIJN, H. M.;  
806 VAANDRAGER, A. B.; HELMS, J. B.; GADELLA, B. M. Oleic acid prevents detrimental  
807 effects of saturated fatty acids on bovine oocyte developmental competence. **Biology**  
808 **Reproduction**, v. 85, p. 62-69, 2011. doi: 10.1095/biolreprod.110.088815.

809

810 AGARWAL, S.; SHARMA, S.; AGRAWAL, V.; ROY, N. Caloric restriction augments  
811 ROS defense in *S. cerevisiae*, by a Sir2p independent mechanism. **Free Radical**  
812 **Research**, v. 39, n. 1, p. 55-62, 2005. doi: 10.1080/10715760400022343.

813

814 ANDRIEU, S. Is there a role for organic trace element supplements in transition cow  
815 health? **The Veterinary Journal**, v. 176, p. 77-83, 2008. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.12.022.

816

817 AMSTERDAM, A.; MAY, J. V.; SCHOMBERG, D. W. Synergistic effect of insulin and  
818 follicle stimulating hormone on biochemical and morphological differentiation of  
819 porcine granulosa cells in vitro. **Biology Reproduction**, v. 39, p. 379, 1988. doi:  
820 10.1095/biolreprod39.2.379.

821

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

825

826 ARTHINGTON, J. D.; MORIEL, P.; MARTINS, P. G. M. A.; LAMB, G. C.; HAVENGA,  
827 L. J. Effects of trace mineral injections on measures of performance and trace mineral  
828 status of pre-and postweaned beef calves. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 2630-2640,  
829 2014. doi: 10.2527/jas2013-7164.

830

- 831 BATES, A.; WELLS, M.; LAVEN, R.; FERRIMAN, L.; HEISER, A.; FITZPATRICK, C.  
832 Effect of an injectable trace mineral supplement on the immune response of dairy calves.  
833 **Research in Veterinary Science**, v. 130, p. 1-10, 2020. doi: 10.1016/j.rvsc.2020.02.007.  
834
- 835 BERNABUCCI, U.; RONCHI, B.; LACETERA, N.; NARDONE, A. Markers of oxidative  
836 status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. **Journal of**  
837 **Dairy Science**. v. 85, n. 9, p. 2173-2179, 2002. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74296-3.  
838
- 839 BERNABUCCI, U.; RONCHI, B.; LACETERA, N.; NARDONE, A. Influence of body  
840 condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in  
841 periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 2017-2026, 2005. doi:  
842 10.3168/jds.S0022-0302(05)72878-2.  
843
- 844 BINDARI, Y. R.; SHRESTHA, S.; SHRESTHA, N.; GAIRE, T. N. Effects of nutrition on  
845 reproduction-a review. **Advances in Applied Science Research**, v. 4, p. 421-429, 2013.  
846
- 847 BITTAR, J. H. J.; PALOMARES, R. A.; HURLEY, D. J.; HOYOS-JARAMILLO, A.;  
848 RODRIGUEZ, A.; STOSKUTE, A.; HAMRICK, B.; NORTON, N.; ADKINS, M.; SALIKI,  
849 J. T.; SANCHEZ, S.; LAUBER, K. Immune response and onset of protection from Bovine  
850 viral diarrhea virus 2 infection induced by modified-live virus vaccination concurrent  
851 with injectable trace minerals administration in newly received beef calves. **Veterinary**  
852 **Immunology and Immunopathology**, v. 225, 2020. doi: 10.1016/j.vetimm.2020.110055.  
853
- 854 BUTLER, M. L.; BORMANN, J. M.; WEABER, R. L.; GRIEGER, D. M.; ROLF, M. M.  
855 Selection for bull fertility: a review. **Translation Animal Science**, v. 2, n. 4, p. 423-441,  
856 2019. doi: 10.1093/tas/txz174.  
857
- 858 CICCIOLO, N.H.; WETTEMANN, R.P.; SPICER, L.J.; LENTS, C.A.; WHITE, F.J.;  
859 KEISLER, D.H. Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on  
860 endocrine function and reproductive performance of primiparous beef cows. **Journal of**  
861 **Animal Science**, v. 81, p. 3107-3120, 2003. doi: 10.2527/2003.81123107x.  
862
- 863 CHAUHAN, S. S.; CELI, P.; PONNAMPALAM, E. N.; LEURY, B. J.; LIU, F.; DUNSHEA,  
864 F. R. Antioxidant dynamics in the live animal and implications for ruminant health and

- 865 product (meat/milk) quality: role of vitamin E and selenium. **Animal Production**  
866 **Science**, v. 54, p. 1525-1536, 2014. doi: 10.1071/AN14334.
- 867
- 868 CHEIGNON, C.; TOMAS, M.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; FALLER, P.; HUREAU,  
869 C.; COLLIN, F. Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease.  
870 **Redox Biology**, v. 14, p. 450-464, 2018.
- 871
- 872 COOKE, R.F.; LAMB, G.C.; VASCONCELOS, J.L.M.; POHLER, K.G. Effects of body  
873 condition score at initiation of the breeding season on reproductive performance and  
874 overall productivity of *Bos taurus* and *B. indicus* beef cows. **Animal Reproduction**  
875 **Science**, 2021. doi: 10.1016/j.anireprosci.2021.106820.
- 876
- 877 D'OCCHIO, M. J.; BARUSELLI, P. S.; CAMPANILE, G. Influence of nutrition, body  
878 condition, and metabolic status on reproduction in female beef cattle: a review.  
879 **Theriogenology**, v. 125, p. 277-284, 2019. doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.11.010.
- 880
- 881 FRANCO, G. L.; FARIA, F. J. C.; D'OLIVEIRA, M. C. Interação entre nutrição e  
882 reprodução em vacas de corte. **Informe Agropecuário**, v. 37, n. 292, p. 36-53, 2016.
- 883
- 884 GONSALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à**  
885 **reprodução animal**. São Paulo- SP. Varela. 340p. 2002.
- 886
- 887 GORDON I. **Reproductive technologies in farm animals**. Wallingford, UK: CAB  
888 International, 332p. 2004.
- 889
- 890 HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 7. ed. São Paulo: Manole. 513p. 2004.
- 891
- 892 HAQ, I.; PATE, J. L. Actions of insulin and growth hormone on the corpus luteum.  
893 **Department of Dairy Science Research**, p. 69, 1992.
- 894
- 895 HEFNAWY, A. E. G.; TÓRTORA-PÉREZ, J. L. The importance of selenium and the  
896 effects of its deficiency in animal health. **Small Ruminant Research**, v. 89, p. 185-192,  
897 2010. doi: 10.1016/j.smallrumres.2009.12.042.
- 898

- 899 HOSTETLER, C. E.; KINCAID, R. L.; MIRANDO M. A. The role of essential trace  
900 elements in embryonic and fetal development in livestock. **The Veterinary Journal**, v.  
901 166, p. 125-139, 2003. doi: 10.1016/S1090-0233(02)00310-6.
- 902
- 903 KLAUNIG, J. E.; KAMENDULIS, L.M.; HOCEVAR, B. A. Oxidative stress and oxidative  
904 damage in carcinogenesis. **Toxicologic Pathology**, v. 38, p. 96-109, 2010.
- 905
- 906 LEESE, H.J. Quiet please, do not disturb: a hypothesis of embryo metabolism and  
907 viability. **Bioessays**, v. 24, p. 845-849, 2002. doi: 10.1002/bies.10137.
- 908
- 909 LEROY, J.L.M.R.; GOOSSENS, L.; GELDHOF, A.; VANHOLDER, T.; OPSOMER, G.;  
910 VAN SOOM, A.; DE KRUIF, A. Embryo quality and color in Holstein Friesian and  
911 Belgian Blue cattle in relation to donor blood cholesterol and triglycerides.  
912 **Reproduction, Fertility and Development**, v. 16, p. 211, 2004. doi:  
913 10.1071/RDv16n1Ab178.
- 914
- 915 MACHADO, V. S.; BICALHO, M. L. S.; PEREIRA, R. V.; CAIXETA, L. S.; KNAUER, W.  
916 A.; OIKONOMOU, G.; GILBERT, R. O.; BICALHO, R. C. Effect of an injectable trace  
917 mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health  
918 and production of lactating Holstein cows. **The Veterinary Journal**, v. 197, p. 451-456,  
919 2013. doi: 10.1016/j.tvjl.2013.02.022.
- 920
- 921 MACHADO, V.S.; OIKONOMOU, G.; LIMA, S. F.; BICALHO, M. L. S.; KACAR, C.;  
922 FODITSCH, C.; FELIPPE, M. J.; GILBERT, R. O.; BICALHO, R. C. The effect of injectable  
923 trace minerals (selenium, copper, zinc, and manganese) on peripheral blood leukocyte  
924 activity and serum superoxide dismutase activity of lactating Holstein cows. **The**  
925 **Veterinary Journal**, v. 200, p. 299-304, 2014. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.02.026.
- 926
- 927 MARKLUND, S. Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide  
928 dismutase in human tissues and extracellular fluids. **Acta Physiologica Scandinavica**  
929 **Supplementum**, v. 492, p. 19-23, 1980.
- 930

- 931 MONTIEL, F.; AHUJA, C. Body condition and suckling as factors influencing the  
932 duration of postpartum anestrus in cattle: a review. **Animal Reproduction Science**, v.  
933 85, p. 1-26, 2005. doi: 10.1016/j.anireprosci.2003.11.001.
- 934
- 935 MUNDELL, L. R.; JAEGER, J. R.; WAGGONER, J. W.; STEVENSON, J. S.; GRIEGER, D.  
936 M.; PACHECO, L. A.; BOLTE, J. W.; AUBEL, N. A.; ECKERLE, G. J.; MACEK, M. J.;  
937 ENSLEY, S. M.; HAVENGA, L. J.; OLSON, K. C. Effects of prepartum and postpartum  
938 bolus injections of trace minerals on performance of beef cows and calves grazing native  
939 range. **The Professional Animal Scientist**, v. 28, p. 82-88, 2012. doi: 10.15232/S1080-  
940 7446(15)30318-1.
- 941
- 942 NASEM. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. **Nutrient**  
943 **Requirements of Beef Cattle**. 8th revised edition. Washington, DC: National Academy  
944 Press, 2016.
- 945
- 946 NICHOLSON, M. J.; BUTTERWORTH, M. H. **A guide to condition scoring of zebu**  
947 **cattle**. International Livestock Centre for Africa, 29p. 1986.
- 948
- 949 NISHIMURA, R.; OKUDA, K. Multiple roles of hypoxia in bovine corpus luteum.  
950 **Journal of Reproduction Development**, v. 66, n. 4, p. 307-310, 2020. doi:  
951 10.1262/jrd.2020-018.
- 952
- 953 OVERTON, T. R.; YASUI, T. Practical applications of trace minerals for dairy cattle.  
954 **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 416-426, 2014. doi: 10.2527/jas.2013-7145.
- 955
- 956 PANCINI, S.; CURRIN, J.; STEWART, J. L.; CLARK, S. REDIFER, T.; DIAS, N. W.;  
957 TIMLIN, C. L.; SALES, A.; MERCADANTE, V. R. G. Injectable trace mineral  
958 supplementation on grazing beef cows: effect on overall mineral status and fertility.  
959 **Journal of Animal Sciences**, v. 98, p. 117, 2020. doi: 10.1093/jas/skaa278.213.
- 960
- 961 PAUL, S. S.; DEY, A. Nutrition in health and immune function of ruminants. **Indian**  
962 **Journal of Animal Sciences**, v. 85, n. 2, p. 103-112, 2015.
- 963

- 964 PATTERSON, H.H.; ADAMS, D.C.; KLOPFENSTEIN T.J.; CLARK R.T.; TEICHERT B.  
965 Supplementation to meet metabolizable protein requirements of primiparous beef  
966 heifers: II. Pregnancy and Economics. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 503-570, 2003.  
967 doi: 10.2527/2003.813563x.
- 968
- 969 PISOSCHI, A. M.; POP, A.; IORDACHE, F.; STANCA, L.; PREDOI, G. Oxidative stress  
970 mitigation by antioxidants - An overview on their chemistry and influences on health  
971 status. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 209, p. 1-23, 2021. doi:  
972 10.1016/j.ejmech.2020.112891.
- 973 PIRES, A. V.; RIBEIRO, C. C. D. M., MENDES, C. Q. Aspectos nutricionais relacionados  
974 a reprodução. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. Nutrição de  
975 ruminantes. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2011, p.537-563.
- 976
- 977 POGGE, D. J.; RICHTER, E. L.; DREWNOSKI, M. E.; HANSEN, S. L. Mineral  
978 concentrations of plasma and liver after injection with a trace mineral complex differ  
979 among Angus and Simmental cattle. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 2692-2698,  
980 2012. doi: 10.2527/jas2012-4482.
- 981
- 982 RISQUES, P.; Cozer, L. F.; Silva, J. C.; Toma, C. D. M.; Muraro, L. S.; Carvalho, A. M.;  
983 Ferrante, M.; Toma, H. S. Influência da amamentação e anestro pós-parto na eficiência  
984 reprodutiva da fêmea bovina. **Pubvet**, v. 14, n. 11, p. 157, 2020.
- 985
- 986 ROBINSON, J. J.; ASHWORTH, C. J.; ROOKE, J. A.; MITCHELL, L. M.; McEVOY, T. G.  
987 Nutrition and fertility in ruminant livestock. **Animal Feed Science and Technology**, v.  
988 126, p. 259-276, 2006. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2005.08.006.
- 989 ROSA, D. E.; MATTIOLI, G. A. Metabolismo y deficiencia de Cu en los bovinos. **Analecta**  
990 **Veterinária**, v. 22, p. 7-16, 2002.
- 991
- 992 ROOKE, J.A.; EWEN, M.; MACKIE, K.; STAINES, M.E.; MCEVOY, T.G.; SINCLAIR, K.D.  
993 Effect of ammonium chloride on the growth and metabolism of bovine ovarian  
994 granulosa cells and the development of ovine oocytes matured in the presence of bovine  
995 granulosa cells previously exposed to ammonium chloride. **Animal Reproduction**  
996 **Science**, v. 84, p. 53-71, 2004. doi: 10.1016/j.anireprosci.2003.12.005.
- 997

- 998 SÁ FILHO, O. G.; VASCONCELOS, J. L. M. Inseminação artificial em tempo fixo. In:  
999 PIRES, A. V. Bovinocultura de corte. 1. ed. Piracicaba: FEALQ, p. 529-546. 2010.  
1000
- 1001 SALES, J. N. S.; PEREIRA, R. V. V.; BICALHO, R. C.; BARUSELLI, P. S. Effect of  
1002 injectable copper, selenium, zinc and manganese on the pregnancy rate of crossbred  
1003 heifers (*Bos indicus*×*Bos taurus*) synchronized for timed embryo transfer. **Livestock**  
1004 **Science**, v. 142, p. 59-62, 2011. doi: 10.1016/j.livsci.2011.06.014.  
1005
- 1006 SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M. M. Fatores nutricionais associados à reprodução da  
1007 fêmea bovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p.422-432, 2010. doi:  
1008 10.1590/S1516-35982010001300047.  
1009
- 1010 SHARMA, N.; SINGH, N. K.; SINGH, O. P.; PANDEY, V.; VERMA, P. K. Oxidative stress  
1011 and antioxidant status during transition period in dairy cows. **Asian-Australasian**  
1012 **Journal of Animal Sciences**, v. 24, n. 4, p. 479-484, 2011. doi: 10.5713/ajas.2011.10220.  
1013
- 1014 SINGH, A.; KUKRETI, R.; SASO, L.; KUKRETI, S. Oxidative Stress: A Key Modulator in  
1015 Neurodegenerative Diseases. **Molecules**, v. 24, p. 1-20, 2019. doi:  
1016 10.3390/molecules24081583.  
1017
- 1018 SMITH, O. B.; AKINBAMIJO, O. O. Micronutrients and reproduction in farm animals.  
1019 **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 549-560, 2000. doi: 10.1016/S0378-  
1020 4320(00)00114-7.  
1021
- 1022 SORDILLO, L. M.; AITKEN, S. L. Impact of oxidative stress on the health and immune  
1023 function of dairy cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 128, p. 104-  
1024 109, 2009. doi: 10.1016/j.vetimm.2008.10.305.  
1025
- 1026 SPEARS, J. W.; WEISS, W. P. Role of antioxidants and trace elements in health and  
1027 immunity of transition dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, p. 70-76, 2008. doi:  
1028 10.1016/j.tvjl.2007.12.015.  
1029
- 1030 SPRINGMAN, S. A.; MADDUX, J. G.; DREWNOSKI, M. E.; FUNSTON, R. N. Effects of  
1031 injectable trace minerals on reproductive performance of beef heifers in adequate trace

- 1032 mineral status. **Applied Animal Science**, v. 34, p. 649-652, 2018. doi: 10.15232/pas.2018-  
1033 01752.
- 1034
- 1035 STARKOV, A.A. The role of mitochondria in reactive oxygen species metabolism and  
1036 signaling, *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1147, p. 37-52, 2008.
- 1037
- 1038
- 1039 STOKES, R. S.; IRELAND, F. A.; SHIKE, W. Influence of repeated trace mineral  
1040 injections during gestation on beef heifer and subsequent calf performance.  
1041 **Translational Animal Science**, v. 3, p. 493-503, 2019. doi: 10.1093/tas/txy105.
- 1042
- 1043 STOKES, R. A.; VOLK, M. J.; IRELAND, F. A.; GUNN, P. J.; SHIKE, D. W. Effect of  
1044 repeated trace mineral injections on beef heifer development and reproductive  
1045 performance. **Journal of Animal Science**, v. 96, p. 3943-3954, 2018. doi:  
1046 10.1093/jas/sky253.
- 1047
- 1048 SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 4rd edition. CABI, 579p. 2010.
- 1049
- 1050 SWENSON, M. J.; REECE, W. O. *Dukes - Fisiologia dos animais domésticos*. 11° ed.  
1051 Guanabara Koogan, Rio de Janeiro: 902p. 1996.
- 1052 TEIXEIRA, A. G. V.; LIMA, F. S.; BICALHO, M. L. S.; KUSSLER, A.; LIMA, S. F.;  
1053 FELIPPE, M. J.; BICALHO, R. C. Effect of an injectable trace mineral supplement  
1054 containing selenium, copper, zinc, and manganese on immunity, health, and growth of  
1055 dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 1-11, 2014. doi: 10.3168/jds.2013-7625.
- 1056
- 1057 TOMASI, T.; VOLPATO, A.; PEREIRA, W.A.B.; DEBASTIANI, L.H.; BOTTARI, N.B.;  
1058 MORSCH, V.M.; SCHETINGER, M.R.C.; LEAL, M.L.R.; MACHADO, G.; DA SILVA,  
1059 A.S. Metaphylactic effect of minerals on the immune response, biochemical variables  
1060 and antioxidant status of newborn calves. **Journal of Animal Physiology and Animal**  
1061 **Nutrition**, p. 1-6, 2018. doi: 10.1111/jpn.12890.
- 1062
- 1063 UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock**. 3rd rev. ed.  
1064 CABI Publishing, New York, 614p. 1996.
- 1065

- 1066 VANEGAS, J. A.; REYNOLDS, J.; ATWILL, E. R. Effects of na injectable trace mineral  
1067 supplement on first-service conception rate of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.  
1068 87, p. 3665-3671, 2004. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73505-5.
- 1069
- 1070 VEDOVATTO, M. V.; MORIEL, P.; COOKE, R. F.; COSTA, D. S.; FARIA, F. J. C.;  
1071 CORTADA NETO, H. M.; PEREIRA, C. S.; BENTO, A. L. L.; ALMEIDA, R. G.; SANTOS,  
1072 S. A.; FRANCO, G. L. Effects of a single trace mineral injection on body parameters,  
1073 ovarian structures, pregnancy rate and components of the innate immune system of  
1074 grazing Nellore cows synchronized to a fixed-time AI protocol. **Livestock Science**, v.  
1075 225, p. 123-128, 2019. doi: 10.1016/j.livsci.2019.05.011.
- 1076
- 1077 VEDOVATTO, M.; PEREIRA, C. S.; CORTADA NETO, I. M.; MORIEL, P.; MORAIS, M.  
1078 G.; FRANCO, G. L. Effect of a trace mineral injection at weaning on growth, antioxidant  
1079 enzymes activity and immune system in Nellore Calves. **Tropical Animal Health and**  
1080 **Production**, v. 52, p. 881-886, 2020. doi: 10.1007/s11250-019-02056-0.
- 1081
- 1082 WARZYCH, E.; PAWLAK, P.; PSZCZOLA, M.; CIESLAK, A.; MADEJA, Z. E.;  
1083 LECHNIAK, D. Prepubertal heifers versus cows e the differences in the follicular  
1084 environment. **Theriogenology**, v. 87, p. 36-47, 2017. doi:  
1085 10.1016/j.theriogenology.2016.08.007.
- 1086 WEBB, R.; GARNSWORTHY, P. C.; GONG, J. G.; ARMSTRONG, D. G. 2004. Control of  
1087 follicular growth; local interactions and nutritional influences. **Journal of Animal**  
1088 **Science**, v. 82, p. 63-74, 2004. doi: 10.2527/2004.8213\_supplE63x.
- 1089
- 1090 WETTEMANN, R. P.; BOSSIS, I. 2000. Nutritional regulation of ovarian function in beef  
1091 cattle. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 1-10, 2000.
- 1092 WETTEMANN, R. P.; LENTS, C. A.; CICCIONI, N. H.; WHITE, F. J.; RUBIO, I.  
1093 Nutritional and suckling mediated anovulation in beef cows. **Journal of Animal**  
1094 **Science**, v. 81, p. 5-48, 2003. doi: 10.2527/2003.8114\_suppl\_2E48x.
- 1095
- 1096 WHITMAN, R. W. Weight change, body condition and beef cow reproduction. **PhD**  
1097 **Thesis**. Colorado State University, 1975.
- 1098

- 1099 WILDE, D. Influence of macro and micro minerals in the periparturient period on  
1100 fertility in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 96, p. 240–249, 2006. doi:  
1101 10.1016/j.anireprosci.2006.08.004.
- 1102
- 1103 WILLMORE, C. J.; HALL, J. B.; DREWNOSKI, E. Effect of a trace mineral injection on  
1104 performance and trace mineral status of beef cows and calves. **Animals**, v. 11, p. 2331-  
1105 2343, 2021. doi: 10.3390/ani11082331.
- 1106
- 1107 WILTBANK, J. N.; ROWDEN, W. W.; INGALLS, J. E.; GEEGOEY, K. E.; KOCH, R. M.  
1108 Effect of energy level on reproductive phenomena of mature Hereford cows. **Journal of**  
1109 **Animal Science**, v. 21, p. 219-225, 1962. doi:10.2527/jas1962.212219x.
- 1110
- 1111 WYLIE, A. R. G. Leptin in farm animals: where are we and where can we go? **Animal**,  
1112 v. 5, p. 246-267, 2011. doi: 10.1017/S1751731110001540.
- 1113
- 1114 YASUI, T.; EHRHARDT, R. M.; BOWMAN, G. R.; VAZQUEZ-ANON, M.; RICHARDS,  
1115 J. D.; ATWELL, C. A.; WINEMAN, T. D.; OVERTON, T. R. Effects of trace mineral  
1116 amount and source on aspects of oxidative status and immune function in dairy cows.  
1117 **Journal of Dairy Science**, v. 92, 2009. doi: 10.1017/S1751731118002525.
- 1118
- 1119 YAZLIK, M. O.; ÇOLAKOĞLU, H. E.; PEKCAN, M.; KAYA, U.; KUPLULU, S.; KAÇAR,  
1120 C.; POLAT, M.; VURAL, M. R. Effects of injectable trace element and vitamin  
1121 supplementation during the gestational, peri-parturient, or early lactational periods on  
1122 neutrophil functions and pregnancy rate in dairy cows. **Animal Reproduction Science**,  
1123 v. 225, p. 1-11, 2021. doi: 10.1016/j.anireprosci.2021.106686.
- 1124
- 1125 ZULU, V. C.; NAKAO, T. SAWAMUKAI, Y. Insulin-like growth factor-I as a possible  
1126 hormonal mediator of nutritional regulation of reproduction in cattle. **Theriogenology**,  
1127 v. 64, p. 657-665, 2002. doi: 10.1292/jvms.64.657.

1128 **CAPÍTULO 2 - MICROMINERAIS INJETÁVEIS NO MOMENTO DA**  
1129 **INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) SOBRE A TAXA DE**  
1130 **PRENHEZ, DINÂMICA DAS ESTRUTURAS OVARIANAS E MEDIDAS DO**  
1131 **CONCEPTO DE VACAS DE CORTE**  
1132

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

1133 *Running Head:* microminerais injetáveis e reprodução

1134

1135 **Microminerais injetáveis no momento da inseminação artificial em tempo fixo (IATF)**  
1136 **sobre a taxa de prenhez, dinâmica das estruturas ovarianas e medidas do concepto de**  
1137 **vacas de corte**

1138

1139 R. F. A. T. Rocha,\* G. L. Franco\*<sup>1</sup>

1140

1141

1142 \*Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do  
1143 Sul, Av. Senador Filinto Muller, nº. 2443, Campo Grande/MS, Brasil, 79070-900.

1144

<sup>1</sup>Autor para correspondência: [gumercindo.franco@ufms.br](mailto:gumercindo.franco@ufms.br)

1145 **RESUMO:** Dois experimentos foram conduzidos com os objetivos de avaliar o efeito da  
1146 aplicação de microminerais (Zn, Cu, Mn e Se) injetáveis (MMI) no momento da inseminação  
1147 artificial (IA) sobre a concentração de progesterona, peso corporal (PC), escore de condição  
1148 corporal (ECC), temperatura retal (T °C), dinâmica das estruturas ovarianas, taxa de prenhez e  
1149 medidas no concepto de vacas. No experimento 1 (Exp. 1) foram avaliadas 445 vacas, com  
1150 aproximadamente 400 kg de PC e ECC de 3,0 a 6,0, localizadas em três fazendas comerciais,  
1151 mantidas em pastagem e recebendo suplemento mineral em pó *ad libitum*. Estas foram divididas  
1152 aleatoriamente em dois tratamentos e sincronizadas para um protocolo de inseminação em  
1153 tempo fixo (IATF) de 11 dias (d; d -11 a d 0) e o diagnóstico de gestação foi realizado no d 30.  
1154 A única variável avaliada nesse experimento foi a taxa de prenhez no d 30. No experimento 2  
1155 (Exp. 2) foram utilizadas 20 vacas multíparas com ECC (1-9) =  $4,8 \pm 0,41$  e PC =  $414,7 \pm 43,8$   
1156 kg, mantidas em pastagem e recebendo suplemento mineral em pó *ad libitum*. O estudo teve  
1157 duração de 71 d e compreendeu o período de 11 d anterior (d -11) à IA (d 0) até 60 d após (d  
1158 60). Os animais foram divididos pelo ECC, PC e escore de temperamento individual (Chute  
1159 score) igual a 1 (1-5) em dois tratamentos: 1) injeção de solução salina (Salina; 6 mL/animal)  
1160 ou de MMI (6 mL/animal), ambos aplicados no d 0. Todas as vacas foram sincronizadas por  
1161 um protocolo de IATF como descrito no Exp. 1, inseminadas no d 0, e o diagnóstico de gestação  
1162 foi realizado no d 30. As estruturas ovarianas foram avaliadas no d 0 (diâmetro do folículo  
1163 dominante) e no d 7, 14 e 21 (diâmetro do corpo lúteo), as medidas no concepto (tórax e coroa-  
1164 garupa) no d 30 e 60 e as colheitas de sangue foram realizadas no d 1, 3, 7, 14, 21 e 30 para  
1165 posterior análise das concentrações de progesterona (P4). No Exp. 1, a aplicação de MMI  
1166 apresentou a tendência de redução da taxa de prenhez (P=0,07) em vacas com melhor ECC,  
1167 sem efeitos significativos na taxa de prenhez geral ou das vacas com menor ECC (P>0,05). No  
1168 Exp. 2 a aplicação de MMI não alterou (P>0,05) as medidas por ultrassom do diâmetro do  
1169 folículo dominante, medidas do corpo lúteo e medidas do concepto, bem como não apresentou

1170 efeito ( $P>0,05$ ) sobre as variáveis PC, variação de PC, ECC, variação de ECC e taxa de prenhez,  
1171 contudo, a aplicação de MMI apresentou aumento ( $P<0,05$ ) na T°C retal em animais  
1172 suplementados. Assim, a aplicação de MMI não alterou as medidas de ultrassonografia, ECC e  
1173 PC, porém, aumentou a T °C retal e tendeu a reduzir a taxa de prenhez em animais com ECC  
1174 elevado.

1175

1176 **Palavras-chave:** corpo lúteo, enzimas antioxidantes, estresse oxidativo, ECC, progesterona,  
1177 reprodução.

1178

## INTRODUÇÃO

1179

1180

1181

O desempenho reprodutivo de vacas é influenciado por aspectos nutricionais, sendo bem estabelecido o impacto do balanço energético e escore de condição corporal (ECC) da matriz sobre esse desempenho.

1182

1183

1184

1185

O progressivo entendimento sobre o funcionamento do aparelho reprodutivo e de como o balanço metabólico atua na regulação das funções celular e endócrina, têm demonstrado a importância do ambiente metabólico sobre o desenvolvimento folicular, maturação dos oócitos e desenvolvimento embrionário (D’Occhio et al., 2019).

1186

1187

1188

1189

Diversos transtornos do processo reprodutivo foram associados a deficiências de microminerais em vacas (Corah e Ives, 1991). Microminerais como Zn, Cu, Mn e Se atuam como componentes de uma série de enzimas que atuam no sistema de proteção antioxidante (Sordillo e Aitken, 2009).

1190

1191

1192

1193

1194

1195

1196

Os folículos e oócitos possuem concentrações elevadas de ácidos graxos poli-insaturados em sua composição, sendo particularmente sensíveis ao estresse oxidativo (Aardema et al., 2011; Warzych et al., 2017). As espécies reativas ao oxigênio (ROS) podem afetar aspectos desde a maturação dos oócitos até sua fertilização, sobrevivência e desenvolvimento embrionário e manutenção da prenhez (Agarwal et al., 2005), assim, alterações em sua composição e funcionalidade provocados pelo estresse oxidativo poderão influenciar diretamente o sucesso reprodutivo da fêmea bovina.

1197

1198

1199

1200

1201

A aplicação de microminerais injetáveis (MMI), além de assegurar o fornecimento de uma dose conhecida para todos os animais do lote, não sofre interferência de antagonistas da dieta (Arthington et al. 2014). Ainda, estudos demonstraram seu potencial em aumentar a atividade de enzimas antioxidantes e auxílio no controle do estresse oxidativo (Arthington et al., 2014; Vedovatto et al., 2020).

1202 Estudos avaliaram a utilização de MMI em diferentes momentos associados a protocolos  
1203 reprodutivos (Maldonado et al., 2017; Vedovatto et al., 2019a; Vedovatto et al., 2019b). Os  
1204 resultados sobre o desempenho reprodutivo e desenvolvimento das estruturas ovarianas tem  
1205 sido variáveis até o momento, podendo ser influenciado pelo *status* nutricional prévio e do  
1206 momento da aplicação dos MMI antecedendo a IA. Não foram observados em nossas buscas  
1207 estudos verificando a aplicação de MMI no momento da IA.

1208 Assim, para determinar os potenciais benefícios da aplicação de MMI no momento da IA  
1209 em vacas sincronizadas para IATF, o presente estudo foi conduzido em duas etapas, com os  
1210 objetivos de avaliar o efeito da aplicação de MMI no dia da IA sobre a taxa de prenhez (Exp.  
1211 1), peso corporal (PC), ECC, dinâmica das estruturas ovarianas e medidas no concepto (tórax e  
1212 coroa-garupa; Exp. 2) de vacas submetidas a IATF.

1213

1214

## MATERIAL E MÉTODOS

1215 Ambos experimentos foram conduzidos de acordo com os padrões éticos aplicados à  
1216 pesquisa com animais e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade  
1217 Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) sob o protocolo nº 754/2016.

1218

1219 *Animais, tratamentos e colheita de amostras*

1220 **Experimento 1.** Foi conduzido em três fazendas comerciais localizadas no Estado de Mato  
1221 Grosso do Sul, Brasil, no período de dezembro de 2017 a janeiro de 2018, avaliando 445 vacas,  
1222 com aproximadamente 400 kg de PC. A Fazenda Arancuã está localizada em Miranda, MS,  
1223 Brasil, nas coordenadas 20°05'49.9"S, 57°20'41.4"O e, nesta, foram avaliadas 78 vacas,  
1224 mantidas em um único lote com a forrageira capim-humidícola [*Urochloa humidicola* (Rendle)  
1225 Morrone & Zuloaga]. A Fazenda Campo Verde está localizada em Jaraguari, MS, Brasil, nas  
1226 coordenadas 20°24'29.8"S, 54°05'25.3"O e, nesta, foram avaliadas 275 vacas divididas em três

1227 lotes (com 56, 64 e 155 vacas por lote) com a forrageira capim-marandú [*Urochloa brizantha*  
1228 (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster, cv. Marandu]. A Fazenda Bela Vista está localizada em  
1229 Rio Verde, MS, Brasil, nas coordenadas 18°49'28.7"S 54°33'33.2"O e, nesta, foram avaliadas  
1230 92 vacas, mantidas em um único lote com a forrageira capim- humidícola [*Urochloa humidicola*  
1231 (Rendle) Morrone & Zuloaga].

1232 Foi adotado método de pastejos rotacionado nas três fazendas com livre acesso à água e  
1233 suplemento mineral em pó. A qualidade das forrageiras foi avaliada através de colheitas  
1234 manuais de amostras representativas do pasto em três momentos (d-11, 0 e 30). Estas foram  
1235 secas em estufa de ventilação forçada a 60°C por 5 d, moídas a 1 mm, formada uma única  
1236 amostra composta por fazenda e posteriormente analisada a composição química (Tabela 1).

1237 Os animais foram aleatoriamente divididos em dois tratamentos, recebendo uma única  
1238 injeção de solução salina (Salina; 0.9% NaCl; 6 mL/animal) ou de microminerais injetáveis  
1239 (MMI; 6 mL/animal), ambos aplicados no momento da IA. Os MMI apresentavam 60 mg de  
1240 Zn/mL, 15 mg de Cu/mL, 10 mg de Mn/mL e 5 mg de Se/mL (MULTIMIN®90, Axiota®  
1241 Animal Health, Fort Collins, CO).

1242 Todas as vacas tiveram o estro sincronizado para IATF por um protocolo de 11 d (d -11  
1243 ao d 0). No d -11 foi administrado na forma injetável [intramuscular (IM)] 2,0 mg de benzoato  
1244 de estradiol (IM; Gonadiol; Zoetis, São Paulo, Brasil) e inserção de dispositivo intravaginal, de  
1245 primeiro uso, contendo 1,9 g de progesterona (CIDR; Zoetis, São Paulo, Brasil). No d -2  
1246 realizou-se a remoção do dispositivo de progesterona, injeção de 12,5 mg de PGF<sub>2α</sub> (IM;  
1247 Lutalyse; Zoetis, São Paulo, Brasil), 1,0 mg de cipionato de estradiol (IM; ECP; Zoetis, São  
1248 Paulo, Brasil) e 300 UI de eCG (IM; Novormon; Zoetis, São Paulo, Brasil). Em cada lote, as  
1249 vacas foram inseminadas no d 0 com sêmen de um único touro Nelore ou Angus, pelo mesmo  
1250 inseminador. No d 30 foi realizado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia (Mindray DP

1251 2200 VET com transdutor de 7,5 MHz, Shenzhen, China) e a única variável avaliada nesse  
1252 experimento foi a taxa de prenhez.

1253

1254 **Experimento 2.** Foi conduzido na Fazenda Escola da Faculdade de Medicina Veterinária e  
1255 Zootecnia pertencente à UFMS, localizada no município de Terenos, Mato Grosso do Sul,  
1256 Brasil (20°26'50.8"S 54°50'21.5"O). O estudo teve duração de 71 dias (10 de janeiro a 21 de  
1257 março de 2019) e compreendeu o período de 11 d anterior (d -11) à IA (d 0) e 60 d após (d 60).

1258 Foram selecionadas 20 vacas multíparas da raça Nelore, com ECC (escala de 1-9) = 4,8  
1259  $\pm$  0,41 e PC = 414,7  $\pm$  43,8 kg. Todas as vacas apresentavam corpo lúteo ou folículo dominante  
1260 > 7,0 mm no início do experimento e escore de temperamento individual (Chute score) igual a  
1261 1 (escala de 1 – 5 onde 1= calmo sem movimentos e 5 = comportamento agitado e violento;  
1262 Cooke et al., 2011).

1263 Os animais foram alojados em um único piquete de 12 ha formado com capim-marandú  
1264 [*Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich) R. D. Webster, cv. Marandu; Tabela 1] e tiveram  
1265 livre acesso à água e suplemento mineral (Tabela 2). A qualidade das forrageiras foi avaliada  
1266 através de colheitas manuais simulando o pastejo em três momentos (d -11, 30 e 60) e na  
1267 sequência foram secas em estufa de ventilação a 60°C por um período de 5 dias, moídas a 1  
1268 mm, formada uma única amostra composta e posteriormente analisada a composição química.

1269 Os animais foram divididos pelo ECC e PC em dois tratamentos: 1) injeção de solução  
1270 salina (Salina; 0.9% NaCl; 6 mL/animal) ou microminerais injetáveis (MMI; 6 mL/animal),  
1271 ambos aplicados no momento da IA. A composição dos MMI foi a mesma do Exp. 1.

1272 Todas as vacas tiveram o estro sincronizado para IATF por um protocolo de 11 d (d -11  
1273 ao 0), como descrito no no Exp. 1 e todas possuíam FD > 7,0 mm ou presença de CL no início  
1274 do protocolo. No d 0 todas as vacas foram inseminadas, por um único inseminador, com sêmen  
1275 do mesmo touro Nelore.

1276 As estruturas ovarianas foram avaliadas por ultrassonografia transretal (Mindray DP 2200  
1277 VET com transdutor de 7,5 MHz, Shenzhen, China), sendo mensurados os diâmetros (mm) do  
1278 folículo dominante no d 0 e do corpo lúteo no d 7, 14, 21 e 30. O volume do corpo lúteo (cm<sup>3</sup>)  
1279 foi calculado utilizando-se a fórmula para volume da esfera [ $V=4/3\pi(D/2)^3$  onde D é o máximo  
1280 diâmetro (mm) do corpo lúteo (Cooke et al., 2009)].

1281 No d 30 foi realizado o diagnóstico de gestação e as medidas no concepto (tórax e coroa-  
1282 garupa; Gouvêa et al., 2018) realizadas no d 30 e 60 por ultrassonografia transretal (Mindray  
1283 DP 2200 VET com transdutor de 7,5 MHz, Shenzhen, China).

1284 O peso corporal foi obtido nos d 0, 7, 14, 21, 30 e 60 e o ECC foi avaliado no d 0, 30 e  
1285 60 de acordo com Herd e Sprott, (1986) por um único avaliador blindado para os tratamentos.

1286 A colheita de sangue da veia caudal mediana foi realizada no d 1, 3, 7, 14, 21 e 30 em um  
1287 tubo a vácuo (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) contendo heparina sódica (10  
1288 mL). Imediatamente após a colheita os tubos foram armazenados em caixa térmica com gelo e  
1289 posteriormente centrifugados a 1200 × g por 30 min para obtenção do plasma que foi  
1290 armazenado a -20°C para posteriores análises da concentração de P4.

1291

### 1292 *Análises laboratoriais*

1293 As forrageiras foram analisadas de acordo com AOAC (2000): matéria seca (MS), método  
1294 930.15; proteína bruta (PB), método 976.05; extrato etéreo (EE), método 920.39 e matéria  
1295 mineral (MM), método 942.05. A concentração de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em  
1296 detergente ácido e lignina foram feitas de acordo com a metodologia de Van Soest et al. (1991)  
1297 e os carboidratos não fibrosos (CNF) calculados de acordo com o NRC (2001):  $CNF (\%) = 100$   
1298  $- (\% FDN + \% PB + \% EE + \% MM)$ . Todas as análises da concentração de minerais foram  
1299 feitas pelo Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Pantanal (Corumbá, MS, Brasil), com

1300 exceção do Se que foi analisado pelo Laboratório de Minerais da Universidade de São Paulo  
1301 (Pirassununga, SP, Brasil).

1302 A concentração de P4 foi determinada por meio de um radioimunoensaio competitivo  
1303 sem extração, disponível comercialmente (ImmuChem™ Coated Tube Progesterone 125-IRIA  
1304 Kit, MP Biomedicals, Costa Mesa, CA, USA) conforme descrito por Givens et al., 2004.

1305

### 1306 *Análises estatísticas*

1307 Os dados de concentração de P4, estruturas ovarianas, ECC, medidas do conceito, PC e  
1308 temperatura retal foram analisados pelo procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary,  
1309 NC, USA, versão 9,4) com a aproximação Satterthwaite para determinar os graus de liberdade  
1310 do denominador para efeitos fixos. Os modelos estatísticos para concentração de P4, estruturas  
1311 ovarianas, ECC, medidas do conceito, PC e temperatura retal continham como efeito fixo  
1312 tratamento, dia e a interação, e vaca (tratamento) como variável aleatória. O termo específico  
1313 para medidas repetidas foi dia usando vaca (tratamento) como sujeito. Para estas, os resultados  
1314 do d 0 foram incluídos como covariáveis em cada respectiva análise. Foi escolhida a estrutura  
1315 de covariância que melhor se ajustou aos dados pelo menor critério de informação de Akaike  
1316 em cada análise. A estrutura de covariância utilizada foi a autoregressiva de ordem 1 (Ar(1))  
1317 para as variáveis temperatura retal, PC, ECC e concentração de P4.

1318 A taxa de prenhez foi analisada pelo procedimento GLIMMIX do SAS (SAS Inst. Inc.,  
1319 Cary, NC, USA, versão 9,4) com a aproximação Satterthwaite para determinar os graus de  
1320 liberdade do denominador para efeitos fixos. Os modelos estatísticos continham como efeito  
1321 fixo o tratamento e, como variável aleatória vaca (tratamento × lote) e lote. Para esta análise,  
1322 os dados do Exp. 1 (445 vacas) e Exp. 2 (20 vacas) foram analisados separadamente. Para todas  
1323 as análises a função PDIFF foi utilizada quando detectada significância no teste-F e todos os

1324 resultados são reportados como LSMEANS seguidos por erro padrão da média (EPM). A  
1325 significância foi definida quando  $P \leq 0,05$ , e tendências quando  $P > 0,05$  e  $\leq 0,10$ .

1326

1327

## RESULTADOS

1328 ***Experimento 1 – Taxa de prenhez.*** Não houve efeito de tratamento ( $P=0,14$ ) para a taxa de  
1329 prenhez geral ou para a taxa de prenhez em animais com ECC abaixo de 5 ( $P=0,89$ ). Contudo,  
1330 foi observada uma tendência ( $P=0,07$ ) de redução da taxa de prenhez em vacas com ECC  
1331 superior a 5 (Tabela 3).

1332

1333 ***Experimento 2 – Estruturas ovarianas, medidas do concepto, temperatura retal,***  
1334 ***concentração de progesterona, PC e ECC.*** Foi observado aumento significativo ( $P \leq 0,05$ ) na  
1335 temperatura retal em animais que receberam MMI (Tabela 4), não sendo observada ( $P > 0,05$ )  
1336 interação tratamento x dia para esta variável. Não foram detectadas diferenças significativas  
1337 entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ) para PC e ECC (Tabela 4).

1338 Os tratamentos experimentais não afetaram a dinâmica das estruturas ovarianas, não  
1339 sendo observadas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) para o diâmetro do folículo dominante,  
1340 diâmetro e volume do corpo lúteo, medidas do concepto e concentração de progesterona (Tabela  
1341 5). Não foi detectado efeito significativo dos tratamentos experimentais ( $P > 0,05$ ) sobre a taxa  
1342 de prenhez (Tabela 5).

1343

1344

## DISCUSSÃO

1345 No Exp. 1 foi avaliada a taxa de prenhez de 445 fêmeas, em 3 diferentes localidades, não  
1346 observando efeitos dos MMI sobre a taxa geral de prenhez. Os dados foram então subdivididos  
1347 em função do ECC das vacas no momento da aplicação, e uma tendência de redução na taxa de  
1348 prenhez foi observada com os MMI em vacas com melhores ECC ( $ECC > 5$ ; 1-9).

1349 Nossa hipótese era que o maior aporte de Zn, Cu, Mn e Se proporcionado pelos MMI  
1350 poderia elevar a atividade de enzimas antioxidantes como as enzimas superóxido dismutases  
1351 (SOD), dependentes de Zn, Cu e Mn e glutathiona peroxidases (GSH-Px), dependentes de Se,  
1352 auxiliando no controle do estresse oxidativo.

1353 As espécies reativas ao oxigênio (ROS) podem interferir em uma série de processos  
1354 associados a reprodução, influenciando atividades desde a maturação do oócito e sua  
1355 fecundação, o desenvolvimento embrionário, bem como a manutenção da gestação (Agarwal et  
1356 al., 2005). Como estes processos são amplamente influenciados pelo estresse oxidativo, uma  
1357 maior atividade antioxidante poderia melhorar as condições do ambiente uterino, e assim,  
1358 contribuir para um aumento nos índices reprodutivos (Underwood e Suttle, 1999).

1359 Ao realizar aplicações de MMI (entre 230 e 260 dias de gestação e 30 dias pós-parto)  
1360 Yazlic et al. (2021) observaram maiores taxas de prenhez em vacas no início da lactação,  
1361 associada a uma maior atividade de SOD.

1362 Apesar da atividade das enzimas antioxidantes não terem sido avaliadas no Exp. 1, a  
1363 literatura (Arthington et al., 2014; Vedovatto et al., 2019a; Vedovatto et al., 2019b) demonstra  
1364 efeitos positivos da aplicação de MMI sobre a concentração dessas enzimas, com períodos  
1365 variáveis de elevação de sua atividade.

1366 Talvez a aplicação dos MMI tenha desencadeado uma resposta inflamatória no local da  
1367 aplicação, como descrito por Arthington et al. (2014). A aplicação via parenteral de  
1368 microminerais atua como um estímulo toxicológico, podendo estar associado com aumentos no  
1369 estresse oxidativo, resposta inflamatória e metabolismo energético como uma resposta do  
1370 organismo a um aumento repentino e concentrações potencialmente tóxicas de micronutrientes,  
1371 sendo mais relevante quanto maior o desafio proporcionado (Starzynski et al., 2013; Yazlic et  
1372 al., 2021).

1373 Em decorrência da proximidade da aplicação com o momento da IA, tal resposta pode ter  
1374 influenciado de forma negativa a qualidade ovocitária no momento da ovulação, atividade do  
1375 corpo lúteo ou a qualidade embrionária após a fecundação (Agarwal et al., 2005), culminando  
1376 em taxas de prenhez reduzidas.

1377 A razão pela qual a aplicação de MMI prejudicou os índices reprodutivos apenas em  
1378 animais com ECC elevados, sem contudo proporcionar efeitos negativos em animais com  
1379 menor ECC ainda é incerto e merece mais investigação. Vedovatto et al. (2019a) observaram  
1380 tendência de aumento na taxa de prenhez apenas em animais com ECC abaixo de 5, sem  
1381 impacto sobre animais com ECC igual ou superior a esse limite.

1382 Talvez os resultados obtidos possam estar relacionados ao *status* nutricional prévio dos  
1383 animais, sendo que o fornecimento de uma quantidade adicional destes elementos, em animais  
1384 com os requerimentos nutricionais já atendidos pela mistura mineral ofertada, pode ter  
1385 provocado desequilíbrios no metabolismo celular, e a conseqüente demanda de ajustes, com um  
1386 potencial prejuízo a atividade celular nesse período, sendo mais evidente em animais com  
1387 melhor ECC (Emon et al., 2020).

1388 Nesse sentido, Olson et al. (1999) avaliando o fornecimento de fontes orgânicas ou  
1389 inorgânicas de Cu, Co, Mn e Zn observaram que níveis superiores aos requeridos pelos animais  
1390 induziram a um desempenho reprodutivo inferior. A aplicação de uma segunda dose de MMI  
1391 (primeira dose no pré parto e a segunda dose 38 a 45 dias pós-parto) também se refletiu em  
1392 menores taxas de concepção a primeira IA (Vanegas et al., 2004). Stokes et al. (2019) também  
1393 observaram redução na taxa de prenhez de primíparas que receberam três aplicações de MMI  
1394 na gestação anterior (205, 114 e 44 dias pré parto), dando suporte a essa suposição.

1395 Outros autores (Pancini et al., 2020; Springman et al., 2018; Stokes et al., 2018; Willmore  
1396 et al., 2021) não observaram efeitos sobre a taxa de prenhez ao utilizarem diferentes protocolos  
1397 de aplicação de MMI pré IA.

1398 No Exp. 2 foram selecionados animais com bom ECC no início do protocolo de IATF e  
1399 aparelho reprodutivo saudável, e coletadas variáveis que pudessem auxiliar no esclarecimento  
1400 da redução da taxa de prenhez proporcionada pela aplicação de MMI observada no Exp. 1.

1401 A temperatura corporal pode ser utilizada como um procedimento de triagem em vacas,  
1402 auxiliando na identificação de animais que apresentem uma resposta febril, indicativa de que  
1403 sua função metabólica ou imunológica possa estar sendo prejudicada, o que pode impactar de  
1404 forma negativa em seu desempenho produtivo e reprodutivo (Smith e Risco, 2005).

1405 Avaliando a associação entre a temperatura retal e indicadores sanguíneos de  
1406 enfermidades em vacas pós-parto, Macmillan et al. (2019) observaram em animais enfermos,  
1407 temperaturas retais 0,2 °C superiores as observadas em animais sadios, com animais enfermos  
1408 apresentando níveis sanguíneos aumentados de cortisol, interleucina-6 (IL-6), fator de necrose  
1409 tumoral (TNF- $\alpha$ ) e proteína amiloide sérica A, indicadores de ocorrência de resposta  
1410 inflamatória.

1411 No Exp. 2, foi observado aumento da temperatura retal das vacas quando suplementadas  
1412 com MMI comparativamente aos animais do tratamento Salina (39,19 e 39,05 °C,  
1413 respectivamente), podendo esta observação estar associada a ocorrência de uma reação  
1414 inflamatória em decorrência da utilização de MMI.

1415 Avaliando a aplicação de MMI em novilhas no momento do desmame, em associação  
1416 com transporte, Arthington et al. (2014) observaram maiores concentrações séricas de  
1417 haptoglobina e ceruloplasmina (proteínas da fase aguda) nos animais suplementados,  
1418 associando essa resposta a uma possível resposta inflamatória decorrente da aplicação de MMI  
1419 que persistiu por aproximadamente 14 dias após a aplicação.

1420 Outros autores não relataram essas respostas. Ao avaliar a aplicação de MMI 30 dias pré  
1421 IA (Vedovatto et al., 2019a) ou 11 dias pré IA (Vedovatto et al., 2019b) em protocolos de IATF,  
1422 não foram observadas alterações significativas nas concentrações de haptoglobina nas vacas

1423 suplementadas, afastando a possibilidade da ocorrência de respostas inflamatórias no local da  
1424 aplicação de MMI.

1425 De forma semelhante, Caramalac et al. (2021) não observaram aumento na concentração  
1426 plasmática de haptoglobina, com maiores concentrações de ceruloplasmina apenas no sétimo  
1427 dia após a aplicação de metade da dose recomendada (1 mL/45 kg) em bezerros em fase de  
1428 desmama.

1429 Yazlic et al. (2021) sugeriram a possível ocorrência de efeitos deletérios a saúde das vacas  
1430 em decorrência da suplementação com excesso de substâncias antioxidantes, gerando uma  
1431 atividade metabólica aumentada e a consequente produção adicional de pró-oxidantes, que  
1432 culmina em um decréscimo na concentração de antioxidantes.

1433 Avaliações aprofundadas ainda são necessárias para determinar a possível ocorrência e  
1434 magnitude de respostas inflamatórias e aumento da produção de agentes pró-oxidantes em  
1435 associação a aplicação de MMI em animais com diferentes *status* nutricionais prévios.

1436 Não foi verificado efeito dos MMI sobre o PC, ECC e sua variação ao longo do período  
1437 de avaliação. Ao utilizar MMI associado ao manejo reprodutivo, outros autores também não  
1438 observaram efeito da aplicação de MMI sobre estas variáveis (Vedovatto et al., 2019a;  
1439 Willmore et al., 2021).

1440 De forma divergente, Vedovatto et al. (2019b) observaram maior ECC médio em vacas  
1441 suplementadas com MMI 11 dias pré IA comparativamente a vacas recebendo solução salina,  
1442 as primeiras apresentando ganho de ECC entre o momento da aplicação e 30 dias após a IA,  
1443 enquanto o grupo controle apresentou uma redução no ECC no mesmo período. Esses autores  
1444 sugerem que estes resultados possam estar associados a um aumento na ingestão de forragem  
1445 pelos animais tratados, sendo esta teoria suportada pela tendência de maior consumo de MS  
1446 observada por Harsh et al. (2018) ao administrar MMI a novilhas.

1447           Autores avaliando aplicações de MMI em animais em crescimento no pré desmame  
1448 (Arthington et al., 2014) e no momento do desmame (Vedovatto et al., 2020) também não  
1449 demonstraram efeitos da aplicação de MMI sobre o desempenho dos animais tratados.

1450           De acordo com Genter e Hansen (2014), animais com deficiência prévia dos  
1451 microminerais contidos nos MMI, que posteriormente são submetidos a dietas que atendam aos  
1452 seus requerimentos em associação com a aplicação de MMI, tendem a apresentar incremento  
1453 no ganho de peso comparativamente ao grupo controle, enquanto em animais que não passaram  
1454 por essa deficiência prévia, a aplicação de MMI não apresenta efeito sobre o desempenho.

1455           Estes resultados sugerem que o livre acesso a mistura mineral contendo microminerais  
1456 possa ter sido efetivo no atendimento dos requerimentos da categoria avaliada no presente  
1457 estudo, implicando em ausência de resposta da aplicação de MMI sobre as variáveis de PC e  
1458 ECC.

1459           A aplicação de MMI no dia da IA não apresentou efeito sobre as medidas do corpo lúteo  
1460 e do conceito, e concentração de P4. Vedovatto et al. (2019a) observaram níveis elevados de  
1461 SOD entre 8 e 13 dias após a aplicação de MMI, e de GSH-Px 4 dias após a aplicação, não  
1462 observando efeito sobre as medidas do folículo dominante e do corpo lúteo, com a IA ocorrendo  
1463 apenas 30 dias após a aplicação de MMI.

1464           Maldonado et al. (2017) avaliaram a aplicação de MMI 25 dias antes da data esperada  
1465 para o estro em vacas com ECC elevado e também não observaram alterações nas medidas  
1466 foliculares e do corpo lúteo.

1467           Com a aplicação 11 dias pré IA, Vedovatto et al. (2019b) observaram concentrações  
1468 elevadas dessas enzimas, com níveis de SOD mantidos elevados entre 7 e 30 dias após a  
1469 aplicação e de GSH-Px entre 4 e 7 dias após a aplicação de MMI, todavia, esta se refletiu em  
1470 menores diâmetro e volume do CL, sem contudo, influenciar a concentração de P4, sugerindo  
1471 um possível aumento na eficiência de síntese de P4 pelas células do corpo lúteo.

1472 Novilhas recebendo três aplicações de MMI entre o desmame e a primeira IA não  
1473 apresentaram diferença na contagem de folículos antrais e medidas do ovário comparativamente  
1474 a animais não suplementados (Stokes et al., 2018). A aplicação de MMI no início do protocolo  
1475 de superovulação também não alterou o número de embriões viáveis recuperados, qualidade  
1476 dos embriões coletados e taxa de prenhez das receptoras (Silva et al., 2018).

1477 Estes estudos demonstram resultados variáveis do uso de MMI sobre as estruturas  
1478 ovarianas e medidas do CL. Possivelmente, a ausência de efeito no presente estudo possa estar  
1479 relacionada com o momento da aplicação, com os períodos de elevação nas concentrações das  
1480 enzimas antioxidantes ocorrendo de forma tardia após a IA, não apresentando influência sobre  
1481 os processos de maturação do oócito e desenvolvimento do CL e concepto.

1482 Adicionalmente, no presente estudo foram utilizadas vacas com bom ECC (4 a 6), com  
1483 acesso a uma mistura mineral contendo fontes de microminerais. Assim, o bom *status*  
1484 nutricional prévio pode ter sido suficiente para proporcionar o adequado desenvolvimento  
1485 dessas estruturas, não se refletindo em benefício adicional da aplicação de MMI (Emon et al.,  
1486 2020).

1487 Ainda, devido a proximidade do momento da aplicação de MMI com a IA, a possível  
1488 ocorrência de uma resposta inflamatória associada a aplicação pode ter sobrepujado os  
1489 potenciais benefícios da atividade antioxidante, limitando seus benefícios sobre o  
1490 desenvolvimento do corpo lúteo e do concepto e síntese de P4.

1491 A ocorrência de uma resposta inflamatória aguda irá gerar o aumento na concentração de  
1492 uma série de mediadores da cascata inflamatória, como o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ),  
1493 diversas interleucinas, haptoglobina e proteína amilóide sérica A. Muitos desses mediadores  
1494 pró-inflamatórios estão associados a respostas metabólicas prejudiciais ao processo  
1495 reprodutivo, bloqueando a sinalização intracelular dos receptores de insulina, prejudicando a

1496 luteólise e gerando FD de menor tamanho, implicando de forma negativa na produção  
1497 hormonal e qualidade folicular e embrionária (LeBlanc, 2012).

1498 Ainda, esta atividade inflamatória gera uma demanda metabólica aumentada, com  
1499 elevação na produção de radicais livres e estresse oxidativo aumentado, com um consequente  
1500 aumento na demanda do sistema de proteção antioxidante na região afetada (Sordilho e Aitken,  
1501 2009), reduzindo assim a disponibilidade e atuação deste sistema no aparelho reprodutivo,  
1502 podendo limitar temporariamente os potenciais benefícios dos MMI sobre o desempenho  
1503 reprodutivo.

1504 No Exp. 2 não foi observado efeito significativo dos MMI sobre a taxa de prenhez,  
1505 todavia, uma elevada diferença numérica foi observada, com taxas de 52,5 e 72,5% para MMI  
1506 e Salina, respectivamente, com a ausência de significância podendo estar associada ao baixo  
1507 volume amostral para esta variável neste experimento.

1508 A aplicação de MMI em vacas submetidas a protocolos de IATF no dia da IA, não altera  
1509 o PC, ECC, diâmetro e volume do CL, concentração sérica de P4 e medidas do concepto,  
1510 todavia, apresenta um incremento na temperatura retal das vacas suplementadas e tendência de  
1511 redução da taxa de prenhez em animais com ECC superior a 5.

1512

#### 1513 **CONFLITO DE INTERESSE**

1514 Os autores declaram não haver conflito de interesse.

1515

#### 1516 **AGRADECIMENTOS**

1517 Nós gostaríamos de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível  
1518 Superior (CAPES) pela bolsa de estudos fornecida ao primeiro autor, à Fundação de Apoio ao  
1519 Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul

1520 (FUNDECT; 116/2016) por patrocinar o estudo e à empresa Axiota® Animal Health (Fort  
1521 Collins, CO, USA,) pela doação do MULTIMIN®90.

1522

1523 **LITERATURA CITADA**

1524 Aardema, H., P. L. A. M. Vos, F. Lolicato, B. A. J. Roelen, H. M. Knijn, A. B. Vaandrager, J.  
1525 B. Helms, and B. M. Gadella. 2011. Oleic acid prevents detrimental effects of saturated  
1526 fatty acids on bovine oocyte developmental competence. *Biol. Reprod.* 85:62-69. doi:  
1527 10.1095/biolreprod.110.088815.

1528 Agarwal, A., S. Gupta, and R. K. Sharma. 2005. Role of oxidative stress in female reproduction.  
1529 *Reprod. Biol. Endocrinol.* 3:1-21. doi: 10.1186/1477-7827-3-28.

1530 AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*, 17th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg,  
1531 MD.

1532 Arthington, J. D., P. Moriel, P. G. M. A. Martins, G.C. Lamb, and L. J. Havenga. 2014. Effects  
1533 of trace mineral injections on measures of performance and trace mineral status of pre-  
1534 and postweaned beef calves. *J. Anim. Sci.* 92:2630–2640. doi: 10.2527/jas.2013-7164.

1535 Caramalac, L. S., P. Moriel, J. Ranches, G. M. Silva, and J. D. Arthington. Comparison of  
1536 injectable trace minerals vs. adjuvant on measures of innate and humoral immune  
1537 responses of beef heifers. *Livestock Science*, 251:1-6. doi: 10.1016/j.livsci.2021.104665.

1538 Cooke, R. F., J. D. Arthington, B. R. Austin, and J. V. Yelich. 2009. Effects of acclimation to  
1539 handling on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-  
1540 crossbred heifers. *J. Anim. Sci.* 87:3403-3412. doi: 10.2527/jas.2009-1910.

1541 Cooke, R. F., D.W. Bohnert, M. Meneghetti, T.C. Losi, and J.L.M. Vasconcelos. 2011. Effects  
1542 of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in *Bos indicus* beef cows. *Livest.*  
1543 *Sci.* 142:108-113. doi:10.1016/j.livsci.2011.06.024.

- 1544 Corah, L. R., and S. Ives. 1991. The effects of essential trace minerals on reproduction in beef  
1545 cattle. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 7:41-57. doi: 10.1016/S0749-  
1546 0720(15)30809-4.
- 1547 D'Occhio, M. J.; P. S. Baruselli, and G. Campanile. 2019. Influence of nutrition, body  
1548 condition, and metabolic status on reproduction in female beef cattle: a review.  
1549 *Theriogenology* 125:277-284. doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.11.010.
- 1550 Emon, M. V., C. Sanford, and S. McCoski. 2020. Impacts of bovine trace mineral  
1551 supplementation on maternal and offspring production and health. *Animals* 10: 1-19. doi:  
1552 10.3390/ani10122404.
- 1553 Genter, O. N., and S. L Hansen. 2014. Effect of dietary trace mineral supplementation and a  
1554 multi-element trace mineral injection on shipping response and growth performance of  
1555 beef cattle. *J. Anim. Sci.* 92:2522-2530. doi: 10.2527/jas.2013-7426.
- 1556 Givens, D. I., R. Allison, B. Cottrill, and J. S. Blake. 2004. Enhancing the selenium content of  
1557 bovine milk through alteration of the form and concentration of selenium in the diet of  
1558 the dairy cow. *J. Sci. Food. Agric.* 84:811-817. doi: 10.1002/jsfa.1737.
- 1559 Gouvêa, V. N., M. H. A. Colli, W. A. Gonçalves Junior, J. C. L. Mottac, T. S. Acedo, G. S. F.  
1560 M. Vasconcellos, L. F. M. Tamassia, F. M. Elliff, R. D. Mingoti, and P. S. Baruselli.  
1561 2018. The combination of  $\beta$ -carotene and vitamins improve the pregnancy rate at first  
1562 fixed-time artificial insemination in grazing beef cows. *Livestock Science.* 217:30-36.  
1563 doi: 10.1016/j.livsci.2018.09.002.
- 1564 Harsh, B. N., A. C. Dilger, D. D. Boler, and D. W. Shike. 2018. Effects of a multielement trace  
1565 mineral injection and vitamin E supplementation on performance, carcass characteristics,  
1566 and color stability of strip steaks from feedlot heifers. *J. Anim. Sci.* 96:1745–1756. doi:  
1567 10.1093/jas/sky124.
- 1568

- 1569 Herd, D., and L. S. Sprott. 1986. Body condition, nutrition, and reproduction of beef cows.  
1570 Texas A&M Univ. Ext. Bull. 1526. Texas A&M AgriLife Extension Service, College  
1571 Station, TX.
- 1572 LeBlanc, S. J. 2012. Interactions of metabolism, inflammation, and reproductive tract health in  
1573 the postpartum period in dairy cattle. *Reprod. Domest Anim.* 47:18-30. doi:  
1574 10.1111/j.1439-0531.2012.02109.x.
- 1575 Macmillan, K., M. G. Colazo, and N. J. Cook. 2019. Evaluation of infrared thermography  
1576 compared to rectal temperature to identify illness in early postpartum dairy cows. *Res.*  
1577 *Vet. Sci.* 125:315-322. doi: 10.1016/j.rvsc.2019.07.017.
- 1578 Maldonado, J. G., R. R. Santos, R. R. Lara, and O. G. Pena. 2017. Effect of injectable trace  
1579 mineral complex supplementation on development of ovarian structures and serum  
1580 copper and zinc concentrations in over-conditioned Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.*  
1581 181:57-62, 2017. doi: 10.1016/j.anireprosci.2017.03.015.
- 1582 NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci, Washington,  
1583 DC.
- 1584 Olson, P. A., D. R. Brink, D. T. Hickok, M. P. Carlson, N. R. Schneider, G. H. Deutscher, D.  
1585 C. Adams, D. J. Colburn, and A. B. Johnson. 1999. Effect of supplementation of organic  
1586 and inorganic combination of copper, cobalt, manganese and zinc about nutrient  
1587 requirement levels on postpartum two year old cows. *J. Anim. Sci.* 77:522-532. doi:  
1588 10.2527/1999.773522x.
- 1589 Pancini, S., J. Currin, J. L. Stewart, S. Clark, T. Redifer, N. W. Dias, C. L. Timlin, A. Sales,  
1590 and V. R. G. Mercadante. 2020. Injectable trace mineral supplementation on grazing beef  
1591 cows: effect on overall mineral status and fertility. *J. Anim. Sci.* 98:117. doi:  
1592 10.1093/jas/skaa278.213.

- 1593 Silva, F. A. C. C., N. N. Pereira, B. Funnell, F. Baumgaertner, M. Crosswhite, K. McCarthy, S.  
1594 Underdahl, B. Neville, K. Sedivec, D. DeGrofft, and C. Dahlen. 2018. The effects of  
1595 injectable trace mineral supplements in donor cows at the initiation of a superovulation  
1596 protocol in embryo outcomes and pregnancy rates in recipient females. *J. Anim. Sci.*  
1597 96:346-349. doi: 10.1093/jas/sky404.762.
- 1598 Springman, S. A., J. G. Maddux, M. E. Drewnoski, and R. N. Funston. 2018. Effects of  
1599 injectable trace minerals on reproductive performance of beef heifers in adequate trace  
1600 mineral status. *Applied Anim. Sci.* 34:649-652. doi: 10.15232/pas.2018-01752.
- 1601 Starzynski, R. R., C. M. Laarakkers, H. Tjalsma, D. W. Swinkels, M. Pieszka, A. Stys, and P.  
1602 Lipinski, 2013. Iron supplementation in suckling piglets: how to correct iron deficiency  
1603 anemia without affecting plasma hepcidin levels. *Plos One* 8:5. doi:  
1604 10.1371/journal.pone.0064022.
- 1605 Stokes, R. S., F. A. Ireland, and W. Shike. 2019. Influence of repeated trace mineral injections  
1606 during gestation on beef heifer and subsequent calf performance. *Transl. Anim. Sci.*  
1607 3:493-503. doi: 10.1093/tas/txy105.
- 1608 Stokes, R. A., M. J. Volk, F. A. Ireland, P. J. Gunn, and D. W. Shike. 2018. Effect of repeated  
1609 trace mineral injections on beef heifer development and reproductive performance. *J.*  
1610 *Anim. Sci.* 96:3943-3954. doi: 10.1093/jas/sky253.
- 1611 Smith, B. I., and C. A. Risco. 2005. Management of periparturient disorders in dairy cattle. *Vet*  
1612 *Clin North Am Food Anim Pract.* 21:503-521. doi: 10.1016/j.cvfa.2005.02.007.
- 1613 Sordillo, L. M., and S. L. Aitken. 2009. Impact of oxidative stress on the health and immune  
1614 function of dairy cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 128:104–109. doi:  
1615 10.1016/j.vetimm.2008.10.305.
- 1616 Underwood, E.J.; Suttle, N.F. *The mineral nutrition of livestock*. 3rd rev. ed. CABI Publishing,  
1617 New York, 1999. 614p.

- 1618 Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral  
1619 detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*  
1620 74:3583–3597. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.
- 1621 Vanegas, J. A., J. Reynolds, and E. R. Atwill. 2004. Effects of na injectable trace mineral  
1622 supplement on first-service conception rate of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:3665-3671.  
1623 doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73505-5.
- 1624 Vedovatto, M., P. Moriel, R. F. Cooke, D. S. Costa, F. J. C. Faria, H. M. Cortada Neto, A. L.  
1625 L. Bento, R. F. A. T. Rocha, L. C. L. Ferreira, R. G. Almeida, S. A. Santos, and G. L.  
1626 Franco. 2019b. Effects of a single trace mineral injection at beginning of fixed-time AI  
1627 treatment regimen on reproductive function and antioxidante response of grazing Nellore  
1628 cows. *Anim. Reprod. Sci.* 211:1-8. doi: 10.1016/j.anireprosci.2019.106234.
- 1629 Vedovatto, M., P. Moriel, R. F. Cooke, D. S. Costa, F. J. C. Faria, H. M. Cortada Neto, C. S.  
1630 Pereira, A. L. L. B. Bento, R. G. Almeida, S. A. Santos, and G. L. Franco 2019a. Effects  
1631 of a single trace mineral injection on body parameters, ovarian structures, pregnancy rate  
1632 and components of the innate immune system of grazing Nellore cows synchronized to a  
1633 fixed-time AI protocol. *Livest. Sci.* 225:123-128. doi: 10.1016/j.livsci.2019.05.011.
- 1634 Vedovatto, M., C. S. PEREIRA, H. M. Cortada Neto, P. Moriel, M. G. Morais, and G. L.  
1635 Franco. 2020. Effect of a trace mineral injection at weaning on growth, antioxidant  
1636 enzymes activity, and immune system in Nellore calves. *Trop. Anim. Health Prod.*  
1637 52:881-886. doi: 10.1007/s11250-019-02056-0.
- 1638 Warzych, E., P. Pawlak, M. Pszczola, A. Cieslak, Z. E. Madeja, and D. Lechniak. 2017.  
1639 Prepubertal heifers versus cows - the differences in the follicular environment.  
1640 *Theriogenology.* 87:36-47. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.08.007.

- 1641 Willmore, C. J.; J. B. Hall, and E. Drewnoski. 2021. Effect of a trace mineral injection on  
1642 performance and trace mineral status of beef cows and calves. *Animals*. 11:2331-2343.  
1643 doi:10.3390/ani11082331.
- 1644 Yazlik, M. O., H. E. Çolakoglu, M. Pekcan, U. Kaya, S. Kuplulu, C. Kaçar, M. Polat, M. R.  
1645 Vural. 2021. Effects of injectable trace element and vitamin supplementation during the  
1646 gestational, peri-parturient, or early lactational periods on neutrophil functions and  
1647 pregnancy rate in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 225:1-11. doi:  
1648 10.1016/j.anireprosci.2021.106686.

1649 **Tabela 1.** Composição química das forrageiras das fazendas (Faz.) onde foram feitos os  
 1650 experimentos

Item	Pastagens				Exigências <sup>1</sup> (NRBC, 2016)
	Exp.1		Exp.2		
	Faz. Arancuã	Exp. 1 Faz Bela Vista	Faz. Campo Verde	Exp.2 Faz. Escola UFMS	
Matéria seca, g/kg	352,5	-	310,5	324,9	-
<i>g/kg de MS</i>					
PB	45,15	-	71,3	67,9	-
FDN	710,7	-	720,3	731,7	-
FDA	344,9	-	347,0	381,4	-
Lignina	40,1	-	36,5	38,3	-
EE	20,5	-	21,8	21,1	-
MM	83,2	-	86,5	84,2	-
CNF	140,4	-	100,1	95,1	-
Ca	-	-	2,42	1,46	-
P	-	-	1,45	0,61	-
Na	-	-	1,85	2,24	1,0
K	-	-	10,59	10,14	7,0
Mg	-	-	1,88	1,08	2,0
<i>mg/kg de MS</i>					
Fe	-	-	177,3	42,58	50,0
Zn	-	-	31,9	19,68	30,0
Mn	-	-	138,8	104,36	40,0
Se	-	-	0,16	0,08	0,10
Cu	-	-	4,32	3,20	10,0

1651 <sup>1</sup>Exigências para vacas no início da lactação estabelecidas pelo NRBC (2016).

1652 **Tabela 2.** Níveis de garantia dos suplementos minerais em pó utilizado nas diferentes fazendas  
 1653 (Faz)

Item	Suplemento mineral			
	Exp.1 Faz. Arancuã <sup>1</sup>	Exp. 1 Faz. Bela Vista <sup>2</sup>	Exp.1 Faz. Campo Verde <sup>3</sup>	Exp. 2 Faz. Escola UFMS <sup>4</sup>
<i>g/kg de matéria seca</i>				
Ca	155,0	170,0	150,0-220,0	196,0
P	80,0	87,0	81,0	90,0
Na	130,0	113,7	114,0	99,0
Mg	10,0	-	-	20,0
S	40,0	10,0	14,0	20,0
<i>mg/kg de matéria seca</i>				
F	800,0	870,0	810,0	900,0
Co	80,0	60,0	60,0	200,0
I	100,0	63,0	78,0	180,0
Fe	-	-	-	2400,0
Zn	5000,0	3500,0	5250,0	3000,0
Mn	1040,0	600,0	1040,0	1670,0
Se	26,0	10,0	22,0	40,0
Cu	1350,0	1260,0	1500,0	1200,0
UI/kg				
Vitamina A	-	-	-	150000,0
Vitamina D3	-	-	-	30000,0
Vitamina E	-	-	-	1500,0

1654 <sup>1</sup>Bell Fos 80 (Bellman,Trow Nutrition Brasil).

1655 <sup>2</sup>P87 Suplemento Mineral (Macal Soluções em Nutrição, Campo Grande, MS, Brasil).

1656 <sup>3</sup>Mega Fós 90 Milk (AgroMega Indústria de Alimentos Animal, Tamboara, PR, Brasil).

1657 <sup>4</sup>Fórmula Campo Verde (MCassab Comércio e Indústria, Campo Grande, MS, Brasil).

1658 **Tabela 3.** Taxa de prenhez por inseminação artificial de vacas recebendo uma aplicação única  
 1659 (6 mL/animal) de solução salina ou microminerais injetáveis no dia da inseminação artificial (d  
 1660 0; Exp. 1)

ECC, % <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>		EPM	<i>P</i> -value Tratamento
	MMI	Salina		
3,5 a 4,5	53,33 (51/107)	52,11 (48/100)	6,7	0,89
5,0 a 7,0	44,06 (52/116)	56,06 (68/122)	4,7	0,07
Geral	46,21 (103/223)	53,94 (116/222)	3,7	0,14

1661 <sup>1</sup> Escore de condição corporal (ECC; escala 1 - 9) avaliada no d 0 de acordo com Herd and  
 1662 Sprott (1986).

1663 <sup>2</sup> MMI, microminerais injetáveis (6 mL/animal; MULTIMIN®90, Axiota® Animal Health,  
 1664 Fort Collins, CO), Salina, injeção de solução salina (0,9% NaCl; 6 mL/animal). Valores entre  
 1665 parênteses representam o número de vacas prenhes/número de vacas avaliadas.

1666 **Tabela 4.** Temperatura retal, peso corporal e escore de condição corporal (ECC) de vacas  
 1667 recebendo uma única injeção (6 mL/animal) de solução salina ou microminerais injetáveis no  
 1668 dia da inseminação artificial (d 0; Exp. 2)

Item	Tratamentos <sup>1</sup>		EPM	P-value <sup>2</sup>	
	MMI	Salina		Trat×dia	Trat
Temperatura retal, °C	39,19	39,05	0,05	0,46	0,04
Peso corporal, kg	421,77	422,7	2,04	0,71	0,81
Diferencial do peso corporal, kg					
D0 ao D7	6,70	5,60	2,27		0,74
D7 ao D14	6,90	10,00	1,60		0,19
D14 ao D21	-7,70	-6,90	1,28		0,66
D21 ao D30	2,90	0,60	1,80		0,38
D30 ao D60	14,90	12,85	1,86		0,45
D0 ao D60	23,70	22,15	4,37		0,80
ECC, 1-9	5,17	5,07	0,08	0,69	0,38
Diferencial do ECC (1-9)					
D0 ao D30	0,20	0,10	0,16		0,67
D30 ao D60	0,70	0,60	0,15		0,65
D0 ao D60	0,90	0,70	0,13		0,29

1669 <sup>1</sup>MMI, microminerais injetáveis (6 mL/animal; MULTIMIN®90, Axiota® Animal Health, Fort  
 1670 Collins, CO), Salina, injeção de solução salina (0,9% NaCl; 6 mL/animal).

1671 <sup>2</sup>Trat, tratamento; Trat × dia, interação entre tratamento e dia.

1672 **Tabela 5.** Estruturas ovarianas, medidas do concepto, concentração de progesterona e taxa de  
 1673 prenhez de vacas recebendo uma única injeção (6 mL/animal) de solução salina ou  
 1674 microminerais injetáveis no dia da inseminação artificial (d 0; Exp. 2)

Item	Tratamentos <sup>1</sup>		EPM	<i>P</i> -value <sup>2</sup>
	MMI	Salina		
Estruturas ovarianas				
Folículo dominante diâmetro (d 0), mm	10,20	9,80	0,33	0,40
Corpo lúteo diâmetro, mm				
D 7	22,95	25,07	1,90	0,44
D14	24,50	23,54	0,79	0,40
D 21	23,65	23,83	1,70	0,95
D 30	23,46	24,08	1,19	0,70
Corpo lúteo volume, cm <sup>3</sup>				
D 7	6,96	10,14	2,33	0,35
D14	7,92	7,00	0,74	0,39
D 21	7,76	7,93	1,20	0,92
D 30	7,09	7,49	0,93	0,78
Medida do concepto (coroa-garupa), mm				
D30	11,34	11,70	0,43	0,60
D60	16,28	16,67	0,29	0,40
Diferencial do D30 ao D60 (coroa-garupa), mm	4,94	4,97	0,52	0,97
Medida do concepto (tórax), mm				
D30	6,32	6,05	0,41	0,67
D60	14,33	14,42	0,49	0,91
Diferencial do D30 ao D60 (tórax), mm	8,01	8,37	0,67	0,73
Progesterona, ng/mL	5,14	5,76	0,81	0,60
Taxa de prenhez, %	52,5 (6/10)	72,5 (8/10)	16,9	0,36

1675 <sup>1</sup>MMI, microminerais injetáveis (6 mL/animal; MULTIMIN®90, Axiota® Animal Health, Fort  
 1676 Collins, CO), Salina, injeção de solução salina (0,9% NaCl; 6 mL/animal).

1677 <sup>2</sup>Trat, tratamento; Trat × dia, interação entre tratamento e dia.

## 1678 CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE

1679

1680

1681 A aplicação de MMI em vacas de corte no dia da IA em protocolos de IATF proporcionou  
1682 uma tendência de redução da taxa de prenhez em vacas com ECC elevado (Exp.1), não  
1683 apresentando efeito em vacas com ECC mais baixo ou na taxa de prenhez geral. Avaliações  
1684 ainda são necessárias para elucidar os possíveis processos envolvidos nessa resposta, nossas  
1685 hipóteses envolvem a ocorrência de uma resposta inflamatória associada a aplicação de MMI,  
1686 suportada pelo aumento na T°C corporal observada no Exp. 2, que associada a proximidade  
1687 com o momento a IA pode ter influenciado de forma negativa processos como a fecundação,  
1688 implantação e divisão celular, reduzindo a taxa de prenhez.

1689 Outra possibilidade para as taxas de prenhez reduzidas em vacas com bom ECC envolve  
1690 uma sobrecarga temporária dos MMI, que poderia induzir a um aumento na atividade  
1691 metabólica e produção de ROS, principalmente em animais com adequado *status* nutricional  
1692 prévio, aumentando a demanda de antioxidantes, gerando prejuízos aos mesmos processos  
1693 citados anteriormente até que fosse atingida a homeostase na concentração dos microminerais.

1694 Não foram observadas alterações nas variáveis PC e ECC em decorrência da aplicação de  
1695 MMI (Exp. 2), podendo a ausência de resposta estar associada a um bom *status* nutricional  
1696 prévio dos animais, minimizando possíveis efeitos adicionais da suplementação sobre o  
1697 consumo e variação de peso dos animais suplementados.

1698 As medidas realizadas por ultrassonografia (diâmetro e volume do corpo lúteo e medidas  
1699 do concepto) também não foram influenciadas pela aplicação de MMI (Exp. 2). Assim como  
1700 nas variáveis PC e ECC, possivelmente um adequado *status* nutricional prévio das vacas  
1701 utilizadas no Exp. 2 pode ter minimizado os potenciais benefícios da aplicação de MMI sobre  
1702 o controle do estresse oxidativo e consequentemente, sobre os desdobramentos de uma maior  
1703 atividade antioxidante na atividade e viabilidade das células do corpo lúteo e do concepto.

1704 Esses resultados indicam que a aplicação de MMI em vacas de corte, no momento da IA,  
1705 em protocolos de IATF pode proporcionar efeitos negativos sobre a taxa de prenhez,  
1706 notadamente em animais com bom *status* nutricional prévio, não sendo recomendada assim a  
1707 aplicação de MMI no momento da IA em vacas de corte submetidas a IATF.