

ISADORA KAROLINA FREITAS DE SOUSA

**Influência da suplementação com cromo orgânico no desempenho de  
bezerros de corte submetidos a desmama**



São Paulo

2014

**ISADORA KAROLINA FREITAS DE SOUSA**

**Influência da suplementação com cromo orgânico no desempenho de  
bezerros de corte submetidos a desmama**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina  
Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo  
para a obtenção do título de Mestre em Ciências

**Departamento:**

Clinica Medica

**Área de concentração:**

Clínica Veterinária

**Orientadora:**

Profa. Dr. Enrico Lippi Ortolani

De acordo: \_\_\_\_\_  
Orientador(a)

São Paulo

2014

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

#### DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da  
Universidade de São Paulo)

T.2929  
FMVZ

Sousa, Isadora Karolina Freitas de  
Influência da suplementação com cromo orgânico no desempenho de bezerros de corte submetidos a  
desmama / Isadora Karolina Freitas de Sousa. -- 2014.  
62 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2014.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Enrico Lippi Ortolani.

1. Bovino. 2. Temperamento. 3. Estresse. 4. Suplementação mineral. I. Título.



## CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Influência da suplementação com cromo orgânico no desempenho de bezerros de corte submetidos a desmama", protocolado sob o nº 2429/2011, utilizando 150 (cento e cinquenta) bovinos, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. Enrico Lippi Ortolani, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 26/10/2011.

We certify that the Research "Influence of organic chromium supplementation on performance of beef calves subjected to weaning", protocol number 2429/2011, utilizing 150 (one hundred fifty) cattle, under the responsibility Prof. Dr. Enrico Lippi Ortolani, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 10/26/2011.

São Paulo, 22 de janeiro de 2014.

31   
Denise Tabacchi Fantoni  
Presidente

Prof.<sup>a</sup> Dra. Heleneide de Souza Spinosa  
Médica Veterinária  
CRMV - 4 n.º 1798

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: SOUSA, Isadora Karolina Freitas de Sousa

Título: Influência da suplementação com cromo orgânico no desempenho de bezerros de corte submetidos a desmama

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

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

### Banca Examinadora

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

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

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

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

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

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

*Aos meus pais, Jose Iatagan Mendes de Freitas e Francisca Isamar Freitas de Sousa,  
A eles dedico esse trabalho como forma de amor e gratidão.*

## AGRADECIMENTOS

*A Deus por ser meu guia, minha força e minha inspiração, por ter me dado coragem e força para enfrentar as dificuldades, por guiar meus passos e o meu caminho;*

*Ao Prof. Dr. Enrico Lippi Ortolani pela orientação durante o mestrado, pelos ensinamentos, conselhos e confiança, é uma grande honra tê-lo como orientador;*

*À minha família pelo apoio incondicional as minhas escolhas. Ao meu pai Jose Iatagan Mendes de Freitas, a minha mãe Francisca Isamar Freitas de Sousa, e ao meu amado sobrinho e afilhado Iago Lucas Freitas Cunha, obrigada por toda confiança;*

*Às minhas amadas tias Maria Eliene Mendes de Freitas, Maria Edna Mendes de Freitas Diógenes e Maria Eliane Mendes de Freitas Néó, obrigada pelo incentivo diário e confiança. Obrigada pelas orientações em minhas decisões, por todo o carinho e cuidado, seria muito mais difícil se não tivesse vocês ao meu lado;*

*Aos meus familiares (impossível citar o nome de todos), em especial a vovó Severina, Teté (Raimunda), vovó João, vovó Isabel e vovó Ademar, por todo o carinho e cuidado, especialmente por todas as orações;*

*Aos meus amigos Liliane Elzi, Leíse Gomes, Felipe Farias, Rodrigo Costa e Rodrigo Lira, meus grandes presentes da veterinária, obrigada pelas palavras de incentivo, e a disponibilidade em ajudar sempre que precisei;*

*À amiga Rejane Santos Sousa, pelo apoio incondicional na estruturação da dissertação, pelos incentivos, convivência e amizade;*

*Aos amigos que encontrei em Santarém – PA, durante a realização do experimento, obrigada pela convivência, ajuda e amizade;*

*À Clara Mori, pela extrema competência com que desenvolve seu trabalho no Laboratório de Doenças Nutricionais e Metabólicas, muito obrigada pelas dúvidas sanadas e pelo auxílio no*

*desenvolvimento das técnicas laboratoriais, assim como aos demais técnicos dos laboratórios, que sempre estiveram disponíveis a ajudar;*

*Aos Professores Dra. Maria Claudia Araripe Sucupira e Dr. Celso Akio Maruta, por aceitarem o convite para comporem minha banca de defesa;*

*À Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), em especial aos professores Adriana Caroprezo Morini (por todo o apoio da realização do experimento, coletas e processamento de amostras, obrigada por toda a ajuda), Kedson Alessandri Lobo Neves, Antonio Humberto Hamad Minervino e Willian Gomes Vale, pelo apoio incondicional a realização desse projeto;*

*A Fazenda Nossa Senhora Aparecida, ao senhor Miguel Menoli, pela disponibilização da estrutura física da fazenda e dos animais utilizados nesse projeto, em especial ao Marlisson, responsável pela lida com os animais, obrigada por toda a ajuda, paciência e cuidado no manejo com os animais;*

*Aos professores do programa de pós graduação em Clínica Veterinária, pelos ensinamentos e conhecimentos compartilhados, cada disciplina foi de extrema importância para minha formação;*

*Ao Departamento de Clinica Medica (VCM) pela oportunidade em desenvolver esse projeto de pesquisa junto a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ-USP*

*À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão do auxílio financeiro ao projeto, que possibilitou o desenvolvimento da pesquisa;*

*A todos que de alguma maneira contribuíram para a execução deste trabalho. E principalmente a todos os “meus bezerrinhos”, que foram fundamentais para que este trabalho fosse realizado.*



*“Tenho duas armas para lutar contra o desespero, a tristeza e até a morte: o riso a cavalo e o galope do sonho. É com isso que enfrento essa dura e fascinante tarefa de viver”*

*Ariano Suassuna*

## RESUMO

SOUSA, I. K. F. **Influência da suplementação com cromo orgânico no desempenho de bezerros de corte submetidos a desmama.** [Influence of organic chromium supplementation on performance of beef calves undergoing weaning]. 2014. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Foi realizado estudo para comprovar hipótese de que a suplementação dietética com cromo antes, durante e após a desmama pudesse diminuir o estresse causado por este processo. Para tal, foram utilizados 150 bezerros mestiços, machos e fêmeas, entre cinco e seis meses de idade. Esses foram divididos em dois grupos iguais de 75 animais, sendo que um deles recebeu e outro não suplementação com 0,9 mg de carboaminofosfoquelato de cromo/ 100 kg PV, misturado a um sal proteinado para ser consumido na base de 0,1% do PV via *creep feeding*, no decorrer de 60 dias antes e 60 dias após a desmama forçada. Foram coletadas amostras sanguíneas e urinárias no M0 (60 dias antes da desmama), M1 (desmama), M2 (48 horas após a desmama) e M3 (60 dias após a desmama) para determinação de cortisol, glicose, proteína total e albumina e cromo sérico e cromo e creatinina na urina. No M2 avaliou-se o temperamento dos animais pelo teste do score composto na balança, com a seguinte escala: 1 (calmo) a 5 (muito estressado), classificando os scores 1 e 2 como mansos e 3 a 5 como bravos. O ganho acumulado de peso foi superior nos bezerros suplementados com cromo antes da desmama e no decorrer de todo o experimento. A suplementação com cromo promoveu uma redução do estresse, diminuindo também os teores de cortisol e de proteína séricos durante a desmama. O estresse da desmama provocou aumento da excreção de cromo pela urina, sendo esta mais destacada nos animais bravos com altos teores de cortisol. O desconforto da desmama provocou nos animais bravos aumento dos teores de cortisol, glicose, proteína total e diminuição no ganho de peso acumulado após a desmama.

Palavras-chave: Bovino. Temperamento. Estresse. Suplementação mineral.

## ABSTRACT

SOUSA, I. K. F. **Influence of organic chromium supplementation on performance of beef calves undergoing weaning.** [Influência da suplementação com cromo orgânico no desempenho de bezerros de corte submetidos a desmama]. 2014. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

In order to study the influence of dietary chromium to mitigate the stress of weaning, 150 crossbred six-month beef male and female calves were used. These calves were distributed into two equal groups and both received a corn, soybean meal, mineral supplement on a 0.1% BW daily basis, in a creep feeding, throughout the 60 d before and 60 d after the weaning. It was included in this diet for the supplemented group 0.9 mg/100 kg BW of organic chromium. Body weight was measured and samples were collected at different times (day 0, weaning, 48 h after weaning (48W) and at the end of the experiment) to measure serum cortisol, glucose, total protein and albumin, chromium, and urinary chromium and creatinine. At 48 W the temperament of the calves was assessed by the scale composite score to classify them as calm or stressed calves. The chromium supplementation increased significantly the weight gain before weaning and throughout the experiment; decreased the number of stressed calves, and the serum levels of cortisol and total protein at W48. The weaning stress caused an increased urinary excretion of chromium, being highest in the stressed calves with high levels of cortisol. The detrimental effects of weaning triggered in the most stressed calves higher levels of serum cortisol, glucose, and total protein, as well as decreased their weight gain.

Keywords: Bovine. Weaning. Temperament. Stress. Mineral supplementation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama experimental do protocolo de coletas durante o experimento .....	31
Figura 2 - Relação entre cortisol sanguíneo (nmol/L) e glicose (mmol/L) nos bezerros bravos no M2 .....	43
Figura 3 - Relação entre cortisol sanguíneo (nmol/L) e cromo urinário (nmol/L) nos bezerros bravos no M2.....	44
Figura 4 - Relação entre cortisol sanguíneo (nmol/L) e proteína total (g/L) nos bezerros bravos no M2.....	45
Figura 5 - Relação entre proteína total (g/L) e albumina (g/L) nos bezerros controle no M1 .....	46
Figura 6 - Relação entre proteína total (g/L) e albumina (g/L) nos bezerros controle no M3.....	47
Figura 7 - Relação entre cortisol sérico (nmol/L) e glicose plasmática (mmol/L) nos bezerros tratados no M3.....	48

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Níveis de garantia do suplemento mineral (por kg do produto) que foi oferecido aos bezerros durante experimento – São Paulo – 2013 .....	30
Tabela 2 - Peso corporal (kg) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos do estudo – São Paulo – 2013 .....	36
Tabela 3 - Peso corporal (kg) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos do estudo – São Paulo – 2013 .....	36
Tabela 4 - Avaliação do comportamento dos bezerros no M2, segundo presença de mansos e bravos* - São Paulo – 2013 .....	37
Tabela 5 - Avaliação do comportamento dos bezerros (machos e fêmeas) no M2, segundo presença de mansos e bravos* - São Paulo – 2013 .....	37
Tabela 6 - Avaliação do comportamento dos bezerros (machos e fêmeas) no M2, sem influência do tratamento, segundo presença de mansos e bravos* - São Paulo – 2013 .....	37
Tabela 7 - Teores do cromo sérico (nM) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos do experimento – São Paulo – 2013 .....	38
Tabela 8 - Índice de excreção urinária (nM) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos do experimento – São Paulo – 2013 .....	38
Tabela 9 - Teores do cromo urinário (nM) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos do experimento – São Paulo – 2013 .....	39
Tabela 10 - Concentração de cortisol sanguíneo (nM) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos do experimento – São Paulo – 2013 .....	39
Tabela 11 - Concentração de glicose (mM) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos estudados – São Paulo – 2013 .....	40
Tabela 12 - Concentração sérica de proteína total (g/L) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos estudados – São Paulo – 2013 ....	41
Tabela 13 - Concentração de albumina (g/L) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos estudados – São Paulo – 2013 .....	41
Tabela 14 - Teores de algumas variáveis séricas e urinárias no M2 e peso acumulado após a desmama (M2 – M3) em bezerros bravos e mansos, independentemente do tratamento* – São Paulo – 2013.....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Cr	Cromo
kg	Quilograma
g	Gramas
mg	Miligrama
L	Litros
ml	Mililitro
mol	Mol
$\mu\text{mol}$	Micromol
nmol	Nanomol
M	Molar (mol/L)
nM	Nanomolar
ppm	Parte por milhão
MS	Matéria seca
PB	Proteína bruta
PV	Peso vivo
®	Marca registrada
%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
r	Correlação
R <sup>2</sup>	Coefficiente de determinação
P	Grau de significância

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INDRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>18</b>
2.1	DESMAMA DE BEZERROS DE CORTE.....	18
2.2	CROMO NA NUTRIÇÃO DE BOVINOS .....	20
<b>2.2.1</b>	<b>Propriedades químicas do cromo .....</b>	<b>20</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Metabolismo do cromo .....</b>	<b>21</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Funções biológicas do cromo .....</b>	<b>21</b>
<b>2.2.4</b>	<b>Deficiência do cromo .....</b>	<b>25</b>
<b>2.2.5</b>	<b>Toxicidade do cromo .....</b>	<b>26</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>28</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E METODOS .....</b>	<b>29</b>
4.1	LOCAL E ANIMAIS DO EXPERIMENTO .....	29
4.2	ALIMENTAÇÃO .....	29
4.3	DELINEAMENTO E PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	31
<b>4.3.1</b>	<b>Coleta e processamento das amostras de sangue .....</b>	<b>32</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Coleta e processamento das amostras de urina .....</b>	<b>33</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Avaliação do temperamento dos bezerros no momento da desmama .....</b>	<b>34</b>
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
<b>5</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>36</b>
5.1	PESO CORPORAL .....	36
5.2	TEMPERAMENTO DOS BEZERROS NA DESMAMA.....	37
5.3	DETERMINAÇÃO DE CROMO SÉRICO E URINÁRIOS .....	38
5.4	TEORES DE CORTISOLSANGUÍNEO .....	39
5.5	VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS DO SANGUE .....	40
<b>5.5.1</b>	<b>Glicose plasmática .....</b>	<b>40</b>
<b>5.5.2</b>	<b>Proteína total.....</b>	<b>40</b>
<b>5.5.3</b>	<b>Albumina sérica .....</b>	<b>41</b>
5.6	COMPARAÇÃO DE VARIÁVEIS SÉRICAS E URINÁRIAS NO M2 EM BEZERROS BRAVOS E MANSOS .....	42
5.7	RELAÇÃO ENTRE ALGUMAS VARIÁVEIS .....	43
<b>5.7.1</b>	<b>Cortisol sanguíneo e glicose plasmática nos bezerros no M2 .....</b>	<b>43</b>

5.7.2	Cortisol sanguíneos e cromo urinário nos bezerros bravos no M2 .....	44
5.7.3	Cortisol sanguíneo e proteína total nos bezerros bravos no M2 .....	45
5.7.4	Proteína total e albumina sérica nos bezerros controle no M1 .....	46
5.7.5	Proteína total e albumina sérica nos bezerros tratados no M3 .....	47
5.7.6	Cortisol sérico e glicose plasmática nos bezerros tratados no M3 .....	48
6	<b>DISCUSSÃO</b> .....	49
7	<b>CONCLUSÕES</b> .....	55
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	56



## 1 INTRODUÇÃO

O período da desmama é considerado um dos mais críticos na vida dos animais devido ao estresse psicológico, da separação das mães, e em menor grau pela mudança alimentar dos jovens ruminantes. Esse processo provoca temporariamente no animal diminuição do apetite, perda de peso, inquietude, caracterizada por vocalização, e maior susceptibilidade a ocorrência de doenças relacionada à queda de resistência, tais como problemas respiratórios e parasitoses (HADDAD; MENDES, 2010). Essas alterações ocorrem devido à diminuição da resposta imunitária dos animais submetidos a desmama. Técnicas de manejo que visem diminuir o estresse ou que estimule de alguma forma a resposta imune no decorrer da desmama resultam em melhor desempenho zootécnico das crias (OLIVEIRA et al., 2006).

Entre os vários microelementos de importância para os mamíferos se destaca o cromo, o qual só foi comprovado sua essencialidade no final da década de 50 em ratos. Descobriu-se que o cromo atuava indiretamente no metabolismo da glicose, por meio do chamado Fator de Tolerância à Glicose (FTG) (SCHWARZ; MERTZ, 1959), aumentando a sensibilidade das células à insulina (MERTZ, 1993; KEGLEY et al., 1997b).

Animais carentes em cromo têm maior intolerância à glicose e aumento dos teores de cortisol, que resulta em uma série de consequências, entre elas, diminuição na resposta imune. Não se conhece os requerimentos de cromo para ruminantes, mas é notório que estes aumentam durante os períodos de estresse (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999). Em estudos com ratos e seres humanos submetidos a condições de intenso estresse a excreção urinária de cromo aumentou substancialmente (ANDERSON, 1987). Embora, existam fortes indícios que este fenômeno ocorra em bovinos tal comprovação ainda necessita ser ratificada.

Em condições normais, nas quais os bovinos não sejam submetidos à situação de estresse, os teores de cromo existentes na dieta são geralmente suficientes para o desenvolvimento adequado dos animais (KEGLEY; SPEARS, 1995; DANIELSSON; PEHRSON, 1998; ZANETTI et al., 2003). Porém, em situações de estresse, vários trabalhos comprovaram o efeito positivo da suplementação de cromo no desempenho produtivo, na sanidade como um todo, assim como no aumento da resposta imune, quando os bovinos são submetidos a vacinações triviais (CHANG; MOWAT, 1992; MOONSIE-SHAGEER; MOWAT, 1993; KEGLEY et al., 1997a; FALDYNA et al., 2003; PECHOVA; PAVLATA, 2007; MONTEMOR; MARÇAL, 2009; KUMAR et al., 2013).

O estresse promove alterações no metabolismo da glicose, pelo aumento da glicemia, devido à maior secreção do cortisol, que atua antagonicamente à insulina, diminuindo a entrada da glicose sanguínea nos tecidos periféricos (músculo e gordura), economizando-a para tecidos com elevada demanda (cérebro e fígado) (ANDERSON, 1987; ANDERSON et al., 1991; BURTON, 1995). Desta forma acredita-se que o estresse da desmama possa ser minimizado pela suplementação com cromo, possivelmente diminuindo a concentração de cortisol sérico e melhorando a resposta imune nesse período.

Devido à complexidade desses temas supracitados, um detalhamento mais aprofundado será feito na revisão da literatura, a seguir.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 DESMAMA DE BEZERROS DE CORTE

A desmama é possivelmente um dos momentos mais estressantes no manejo de bezerros em criações de corte, uma vez que a separação das mães é realizada de maneira abrupta (LOERCH; FLUHARTY, 1999). A desmama, em geral, é realizada entre o sexto e o oitavo mês de vida do bezerro, ou quando o mesmo atinge o peso quatro vezes superior ao peso ao nascimento (LEE et al., 1991). A época e o tempo da desmama devem estar atrelados à oferta de alimentos de qualidade, devido a maior susceptibilidade ao estresse nutricional nesse período (VALLE et al., 1998).

O objetivo principal da interrupção da amamentação é eliminar o estresse da lactação das fêmeas, melhorando a condição corporal, preparando-as assim para a próxima lactação. Embora aumente o desempenho reprodutivo e produtivo do rebanho, a desmama é uma fonte de estresse para a vaca (HALEY et al., 2005; UNGERFELD et al., 2011) e o bezerro (PRINCE et al., 2003; LYNCH et al., 2010).

Na desmama o bezerro é submetido a vários fatores estressantes, como a separação da mãe e privação do acesso ao úbere e ao leite, além das mudanças no ambiente físico e social (NEWBERRY; SWANSON, 2008; WEARY et al., 2008). O estresse resulta em modificações nos mecanismos fisiológicos normais da espécie, e pode aumentar a susceptibilidade às doenças (BREAZILE, 1988; ENRIQUEZ et al., 2011).

Alguns estudos têm abordado as respostas fisiológicas de bezerros na desmama. Normalmente nesse período ocorre o aumento do cortisol plasmático (LAY et al., 1998), assim como da concentração de proteínas de fase aguda (CARROL et al., 2009). A redução transitória na função imunológica, com pico entre dois e sete dias após o desmame, foi relatado em bezerros de corte sob pastejo desmamados aos sete meses (LYNCH et al., 2010).

Mudanças comportamentais também são indicadores de estresse na desmama. A característica mais frequente é a alta vocalização emitida pelo bezerro (VEISSIER; NEINDRE, 1989; NEWBERRY; SWANSON, 2008; WEARY et al., 2008), um sinal confiável da condição emocional e fisiológico do bezerro (WEARY; FRASER, 1995; WATTA; STOOKEY, 2000). Um aumento na atividade geral e na frequência em andar também são relatados em bezerros de

corte, imediatamente após o desmame (LAY et al., 1998; PRINCE et al., 2003; HALEY et al., 2005; LOBERG et al., 2008).

Algumas mudanças no comportamento alimentar de bezerros também podem ser observadas imediatamente após o desmame. Normalmente há redução no tempo de pastejo e consumo de alimentos sólidos (PRINCE et al., 2003; HALEY et al., 2005; LOBERG et al., 2008), que é acompanhado por redução no tempo de ruminação, provavelmente devido mudança na composição da dieta (LOBERG et al., 2008).

Várias estratégias vêm sendo propostas para reduzir o estresse associado com o desmame. Estudo realizado com o objetivo de quantificar os efeitos do estresse pós-desmama em bezerros de corte concluiu que o contato visual do bezerro com a mãe nos primeiros dias após a desmama reduziu o estresse comportamental do bezerro, propiciando melhores ganhos de peso. Outra alternativa viável é o uso de focinheiras nos bezerros, que impedem a amamentação, possibilitando assim o contato social com a mãe no período antes da separação final (PRINCE et al., 2003; HALEY et al., 2005; ENRIQUEZ et al., 2011).

Estudos têm mostrado que o contato prévio com o alimento sólido enquanto o bezerro ainda mantém contato com a mãe, reduz progressivamente a dependência nutricional e social da vaca (WEARY et al., 2008; ENRIQUEZ et al., 2011). Práticas como o *creep feeding* tem como objetivo acostumar o bezerro a comer no cocho desde cedo, aumentando o peso à desmama e poupando a vaca da intensa amamentação. Esse método consiste em suplementar o bezerro ao pé da vaca, com ração balanceada no cocho, dentro de um cercado, por meio de dispositivos que permitem o acesso exclusivo dos bezerros (FLUHARTY et al., 2000; BRANCO et al., 2008; ENRIQUEZ et al., 2011)

O uso do sistema *creep feeding* possibilita a oferta de suplementos minerais específicos para bezerros, onde se destaca a suplementação com cromo (BURTON et al., 1994; WRIGTH et al., 1995; GUDEV et al., 2007; YANCHEV et al., 2008). A suplementação com cromo em bezerros recém-desmamados melhorou a resposta imunológica humoral quando esses foram submetidos à vacina comercial contra Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR). Estudos com bezerros de búfalos demonstraram que a suplementação com cromo diminuíram a concentração de cortisol plasmático, no período pré e pós desmama (GUDEV et al., 2007; YANCHEV et al., 2008).

Estudos sobre as alterações fisiológicas durante a desmama de bezerros são necessários, com o objetivo de orientar o desenvolvimento de práticas eficazes para minimizar o estresse desse período. Métodos alternativos podem minimizar as perdas sociais e nutricionais para o bezerro, já que essa prática é necessária para garantir a eficiência reprodutiva das vacas. Os

estudos devem se concentrar principalmente nos aspectos nutricionais associados a desmama, uma vez que estes tendem a ser mais importante em animais jovens (ENRIQUEZ et al., 2011).

## 2.2 CROMO NA NUTRIÇÃO DE BOVINOS

### 2.2.1 Propriedades químicas do cromo

O cromo é um elemento de transição encontrado nos estados oxidados (0, 2<sup>+</sup>, 3<sup>+</sup> e 6<sup>+</sup>), sendo o estado trivalente (Cr<sup>3+</sup>) o mais estável. O estado hexavalente (Cr<sup>6+</sup>) apresenta a melhor taxa de absorção, mas não tem sido estudado por ser altamente tóxico (McDOWELL, 1992).

A forma biologicamente ativa do cromo é um composto organometálico chamado de fator de tolerância à glicose (GTF). A estrutura química do GTF ainda não foi definida, mas parece ser constituída por um átomo de Cr<sup>3+</sup>, ácido nicotínico e possíveis aminoácidos como glicina, cisteína e ácido glutâmico. Sem o Cr<sup>3+</sup> como núcleo o GTF é inativo. O íon Cr<sup>3+</sup> facilita a interação entre a insulina e seus receptores nos tecidos alvos, potencializando sua atividade (ANDERSON et al., 1991; MERTZ, 1993).

O cromo é um elemento inorgânico que potencializa a ação da insulina e influencia a absorção de glicose, atuando indiretamente no metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas (MERTZ, 1993; PECHOVA; PAVLATA, 2007). O cromo orgânico ou quelato é um composto formado por íons metálicos ligados quimicamente a uma molécula orgânica como aminoácidos peptídeos ou complexos polissacarídeos, que proporcionam a estes íons com alta disponibilidade biológica, alta estabilidade e solubilidade (MOWAT, 1997; MORAES, 2000)

Na natureza, são encontradas diferentes fontes de cromo, orgânico e inorgânico. As fontes orgânicas incluem cromo-L-metionina, complexo cromo-ácido nicotínico, picolinato de cromo e levedura de cromo. A fonte inorgânica mais comum é o cloreto de cromo. Devido à sua baixa taxa de absorção o Cr inorgânico tem sido utilizado como marcador em estudos de digestibilidade. Na forma de levedura, o cromo apresenta melhor biodisponibilidade e absorção, sendo o composto preferencial em estudos que visam suplementar cromo na dieta animal (ANDERSON, 1987; MERTZ, 1993).

### 2.2.2 Metabolismo do cromo

O cromo é absorvido primeiramente no intestino delgado, com absorção mais ativa no jejuno e em menor intensidade no íleo e no duodeno (MOWAT, 1997). A absorção do cromo parece ser inversamente proporcional à sua quantidade na dieta (PECHOVA; PAVLATA, 2007).

Após a absorção, o cromo circula pelo plasma na concentração de 0,01 a 0,3 µg/L, ligado à transferrina e possivelmente a albumina. Por se ligar à transferrina, o cromo possui um efeito significativo no transporte de ferro. A concentração do Cr<sup>3+</sup> no plasma pode estar diminuída no caso de uma infecção ou sobrecarga de glicose. O cromo pode ser armazenado em vários tecidos do organismo, sem possuir um local específico. A maior quantidade de cromo parece estar localizada no fígado, rins, baço e epidídimo, porém já se observou maior concentração de cromo no coração e rins de ratos (ANDERSON, 1987).

Estudos em seres humanos e animais de laboratório demonstraram que a forma na qual o elemento é suplementado é muito importante na resposta ao tratamento, visto que a forma organizada é mais absorvida que a inorgânica. O cromo orgânico apresentou uma absorção de 10 a 15% do total ingerido, contra 1 a 3% da forma inorgânica (CHANG et al., 1992)

O cromo é excretado através da urina e sua excreção é aumentada em decorrência do estresse (ANDERSON et al., 1991; ANDERSON, 1998).

### 2.2.3 Funções biológicas do cromo

Os primeiros estudos que demonstraram o cromo como elemento essencial foi realizado por Schwarz; Mertz (1959) em ratos, e em humanos por Jeejebhoy et al. (1977). Nos anos seguintes vários estudos envolvendo o cromo em diferentes situações clínicas e de estresse foram publicados com ênfase nos estudos da associação do cromo com o metabolismo da insulina (ANDERSON, 1987; ANDERSON et al., 1991; MERTZ, 1993; ANDERSON, 1998). Apenas na década de 1990 que o cromo passou a ser estudado com mais intensidade como elemento mineral essencial em animais de produção (CHANG; MOWAT, 1992).

O aumento do interesse sobre o emprego do cromo como fonte suplementar na dieta de animais destinados a produção animal justifica-se por um possível efeito estimulatório sobre a taxa de crescimento, resposta imune e alteração metabólica (CHANG; MOWAT, 1992; MOONSIE-SHAGEER; MOWAT, 1993; DEPEW et al., 1998; KUMAR et al., 2013). De acordo com ANDERSON (1998) a resposta imunológica e o desempenho nutricional de bovinos submetidos a uma situação de estresse é melhorada com uma dieta contendo cromo. Assim, a função primária do cromo consiste em manter a homeostase glicêmica, potencializando a ação da insulina. O cromo em sua forma fisiologicamente ativa diminui a quantidade de insulina necessária para manter o metabolismo normal, atua como cofator e melhora a eficiência de absorção da glicose pelas células.

Vários estudos foram realizados com a finalidade de avaliar os efeitos da suplementação com cromo na dieta de ruminantes. Esses experimentos demonstraram que o cromo proporciona melhor desempenho, menor morbidade e aumenta a capacidade imunológica dos animais, associado a uma redução na concentração sérica de cortisol (CHANG; MOWAT, 1992; BURTON et al., 1993; MOWAT et al., 1993; MONSIE-SHAGEER; MOWAT, 1993; BURTON, 1995; MOWAT, 1997; PECHOVA; PAVLATA, 2007).

O primeiro estudo com cromo associado ao estresse em bovinos foi realizado por CHANG; MOWAT (1992). Nesse experimento constatou-se que bovinos expostos ao estresse e alimentados com dietas contendo cromo como suplemento apresentaram maior ganho de peso, melhoraram a eficiência alimentar e diminuíram a concentração de cortisol plasmático.

Os estudos com suplementação com cromo avaliaram o desempenho e respostas ao estresse em animais submetidos ao transporte (CHANG; MOWAT, 1992; MOONSIE-SHAGEER; MOWAT, 1993), em animais recém-desmamados (BRUTON et al., 1994; YANCHEV et al., 2008), nas reações imunológicas de vacas leiteiras (BURTON et al., 1993; BURTON et al., 1995a), como componente de fator de tolerância a glicose (ARTHINGTON, 1997; KEGLEY; SPEARS, 1995; KEGLEY; SPEARS, 1999; ZANETTI et al., 2003), e na resposta imune e resistência a doenças (KEGLEY et al., 1997a). As pesquisas realizada nas situações supracitadas, com intenso estresse nesses animais, apontam diminuição sérica de cortisol (ARTHINGTON et al., 1997; PECHOVA; PAVLATA, 2007; KUMAR et al., 2013).

Animais submetidos a qualquer tipo de estresse, físico ou neurogênico, aumentam imediatamente a secreção do hormônio adrenocorticotrópico pela glândula hipófise anterior, seguido dentro de alguns minutos por um aumento na secreção de cortisol (adrenal), que influencia fisiologicamente aumentando o metabolismo da glicose. O principal efeito metabólico do cortisol e de outros glicocorticóides sobre o metabolismo celular é estimular a

gliconeogênese. O cortisol mobiliza aminoácidos nos tecidos extra-hepáticos, sobretudo nos músculos, aumenta a quantidade de enzimas necessárias para que ocorra conversão dos aminoácidos em glicose, aumenta a absorção de glicose pelas células, reduz as reservas corporais de proteína, diminui a síntese proteica e aumenta o catabolismo proteico intracelular (BURTON, 1995; ANDERSON, 1998).

Alguns experimentos demonstram efeito positivo no ganho de peso por um curto período, principalmente quando os animais foram submetidos a mudanças de origem ambiental e alimentar como o confinamento e que podem resultar em situações estressantes (CHANG; MOWAT, 1992; MOONSIE-SHAGEER; MOWAT, 1993 e MOWAT, 1997). Segundo Mowat (1997) em situações de estresse a campo ou em confinamento o cromo previne uma redução no ganho de peso vivo. Seu principal efeito observado consiste na redução da taxa de morbidade entre bezerros. O mesmo autor recomenda diariamente a adição de 2 a 3 mg de cromo por bovino ou para 250 kg de peso vivo.

A administração do cromo picolinato na dieta de bezerras diminuiu a concentração da glicose sanguínea e melhorou a taxa de resposta à insulina, indicando uma melhor eficácia da insulina e um aumento na sensibilidade dos tecidos ao absorver mais glicose (BUNTING et al., 1994). Quando adicionado a dietas de bezerras que após o nascimento, o cromo picolinato também reduziu a concentração de ácidos graxos não esterificados (DEPEW et al., 1998).

Bezerros suplementados com o complexo cromo-ácido-nicotínico apresentaram melhor resposta a insulina quando submetidos a um desafio com infusão intravenosa de glicose (KEGLEY; SPEARS, 1995). De acordo com Kegley e Spears (1999), bezerras com rúmen funcionalmente ativo quando suplementadas com cromo-L-metionina aumentaram a taxa de absorção da glicose. Zanetti et al. (2003) não tiveram efeito significativo no teste de tolerância a glicose quando bezerros da raça holandesa foram suplementados com levedura de cromo, embora, os autores constatarem uma tendência de desaparecimento mais rápido da glicose sanguínea nos bezerros suplementados com cromo.

Mowat et al. (1993) verificaram uma menor concentração sérica de glicose e cortisol em um estudo com bezerros onde testaram duas fontes de cromo orgânico (levedura e aminoácido quelatado). A morbidade de bezerros foi diminuída de 55,6% (controle) para 33,3% naqueles suplementados com levedura de cromo e 15,5% para o grupo que recebeu cromo quelatado com aminoácido.

Em bezerros castrados sob situação de estresse o cromo orgânico melhorou performance, resposta imunológica e diminui o cortisol sérico (CHANG et al., 1995). A suplementação com cromo também reduziu a concentração sérica de haptoglobina na fase



aguda da inflamação em bezerros recém comprados e transportados (WRIGHT et al., 1995). Em estudo com bezerros recém desmamados o suplemento com cromo influenciou positivamente o desempenho, a resposta imune e o estresse desses animais, com menor concentração sérica na concentração de cortisol (ARTHINGTON et al., 1997).

Em bezerros recém-desmamados suplementados com cromo foi observada uma melhor resposta imunológica quando submetidos à vacina comercial contra IBR (BURTON et al., 1994). Chang et al. (1996) demonstraram que bezerros suplementados com cromo e vacinados contra IBR, Parainfluenza, Vírus Sincicial Respiratório Bovino, Diarreia Viral Bovina (BVD) e Mannheimia Hemolítica, apresentaram melhor resposta imunológica humoral.

A suplementação com cromo não só diminui a morbidade por doenças no rebanho como também propiciou um incremento de 27% no ganho de peso dos animais e aumento na ingestão de alimentos (MOONSIE-SHAGEER; MOWAT, 1993). A suplementação também foi capaz de incrementar o ganho de peso em animais em crescimento (KEGLEY; SPEARS, 1995; KEGLEY; SPEARS, 1999).

A suplementação de búfalas recém desmamadas com levedura de cromo determinou um aumento na resposta imunológica celular e diminuiu a agressividade dos animais (GRASSO et al., 2001). Em bezerros de búfalos submetidos a condições de estresse a suplementação com cromo não alterou as variáveis fisiológicas e o crescimentos dos animais. No entanto o mesmo estudo relata que a suplementação com cromo acima de 1 mg/kg de MS aumenta a concentração plasmática de cromo, sem afetar as concentrações plasmáticas de outros minerais, e potencializa a ação da insulina e a melhor utilização da glicose e consequente redução na concentração do cortisol (KUMAR et al., 2013)

A administração da levedura de cromo na alimentação de fêmeas zebuínas no período pós-parto (12,4 mg de Cr/vaca/dia) reduziu a concentração do cortisol plasmático e tornou os animais tratados aptos a produzir em situações adversas (ARAGON et al., 2001). Esses autores ainda citam que em vacas zebuínas mantidas a pasto numa situação de estresse produzida por estiagem prolongada, associada a temperaturas elevadas, em plena estação de monta, a suplementação com cromo levedura melhorou o desempenho reprodutivo ao aumentar o número de vacas em cio e consequentemente diminuir o número de vacas em anestro, e ao diminuir o intervalo parto-estro.

A suplementação com cromo tem efeitos benéficos na resposta imune de vacas leiteiras de alta produção próximo ao parto e no pico da lactação, devido ao aumento da resposta imune humoral e mediada por células. Esses animais quando submetidos a grande estresse físico e metabólico, sofrem alterações no perfil hormonal e susceptibilidade a doenças (BURTON et

al., 1993). A suplementação aumentou a ingestão de matéria seca nos períodos de pré e pós parto, não alterando o ganho de peso, enquanto a condição de escore corporal aumentou no período pré parto e decresceu menos no período pós-parto, assim como a produção de leite aumentou substancialmente (HAYIRLI et al., 2001)

Estudos realizados no Brasil divergem quanto a seus resultados. Em bezerros da raça holandesa com média de 50kg, submetidos a situações de estresse, a suplementação com cromo melhorou o desempenho e a conversão alimentar desses animais. Enquanto em bezerros não submetidos a estresse a suplementação não influenciou no desempenho e resposta metabólica ao teste de tolerância a glicose (ZANETTI et al., 2003).

Em bovinos Nelore a suplementação com cromo orgânico influenciou o peso corporal aos 210 dias (MONTEMOR; MARÇAL, 2009). Em vacas zebu mantidas a pasto e numa situação de estresse calórico durante a estação de monta a suplementação de cromo, na forma de levedura, ajudou a controlar os efeitos negativos causados pelo estresse térmico (VÁSQUEZ; HERRERA, 2003). Em vacas zebras primíparas suplementadas com cromo o peso dos animais que receberam cromo foi significativamente superior (ARAGÓN et al., 2001). O uso de suplementação com cromo orgânico interferiu positivamente no crescimento corporal e início da atividade reprodutiva em novilhas, sem alterar o acabamento de carcaça (MOREIRA et al., 2011).

Vários estudos enfatizam a importância do cromo no metabolismo dos bovinos, no entanto, pesquisas com o objetivo de determinar a necessidade diária de cromo e meios para identificar a sua deficiência nas diferentes espécies e categorias de produção animal são necessários, como apontou o levantamento bibliográfico realizado por Pechova e Pavlata (2007).

#### **2.2.4 Deficiência de cromo**

Fatores que contribuem para a deficiência de cromo estão associados aos aspectos relacionados a ingestão de cromo, que pode estar reduzido devido à baixa ingestão de matéria seca, alimentos deficientes em cromo, altas concentrações de minerais antagonistas (ferro e zinco), baixa concentração ou reduzida síntese de precursores dietéticos de cromo biodisponível (aminoácidos, niacina), alta concentração de antiácidos ou tampões intestinais, baixa concentração de ácido ascórbico (verificado em humanos). A eliminação ou depleção do cromo

também contribui para a deficiência, devido a ingestão de dietas que aumentam a necessidade de cromo (açúcares ou lactose, propionato, insulina, suplementação com gordura, nitrogênio não proteico ou nitrogênio solúvel), estresse térmico, gestação, lactação, exercício com hemorragia aguda, trauma físico, infecção viral ou bacteriana aguda, obesidade e outros agentes estressantes (MOWAT, 1997).

O estresse pode induzir ou confundir um estado de deficiência de cromo por causa de traumas, doenças ou exaustão física, e levar a mobilização e perda de cromo na urina (BURTON et al., 1993). Animais quando submetidos a mudanças de manejo como transporte, vacinação e mudança alimentar constituem uma categoria bastante susceptível ao estresse, tornam-se mais vulneráveis a doenças e podem apresentar deficiência de cromo (MOWAT et al., 1993).

Segundo Mertz (1993) e Anderson (1998) uma maior concentração de glicose sanguínea, que pode ser resultado da hiperglicemia por aumento nos teores de cortisol sérico ou estresse, é suficientemente capaz de mobilizar reservas de cromo corporal e determinar perdas irreversíveis.

Os sintomas da deficiência de cromo são observados somente em animais submetidos a fatores estressantes, resultando em uma menor eficiência alimentar e queda na resposta imunológica do animal (ANDERSON, 1998). Na deficiência de cromo a ação da insulina é afetada. Nos trabalhos relacionados à deficiência de cromo, a ação da insulina é deprimida a ponto de alterar o metabolismo de carboidratos, aminoácidos e lipídeos (MOWAT, 1997).

Segundo Anderson et al. (1991), a indução de uma deficiência experimental de cromo em animais de laboratório resultou no aparecimento de sintomas como hiperglicemia, glicosúria, elevação nas taxas de colesterol e triglicerídeos, diminuição do número de receptores e uma incapacidade da insulina se ligar às células.

### **2.2.5 Toxicidade de cromo**

Os sintomas de toxicidade incluem dermatite alérgica, ulcerações na pele, aumento da ocorrência de câncer de garganta, gastroenterite, nefrites, hepatite (HUNT; STOECKER, 1996). Algumas espécies de cromo podem migrar para o núcleo da célula e danificar o DNA. O excesso de  $\text{Cr}^{+3}$  na célula reduz drasticamente o consumo de oxigênio pela mitocôndria (MOWAT, 1997).

Para animais de produção o NRC (1996) recomendou ingestão máxima de 3000 mg/kg/MS para o óxido de cromo e 1000 mg/kg para o cloreto de cromo. A forma hexavalente deve ser utilizada com cuidado, já que é mais solúvel e cinco vezes mais tóxica (MOWAT, 1997).

### 3 OBJETIVOS

- Estudar os efeitos da suplementação de cromo dietético no período pré e pós-desmama no comportamento de bezerros, assim como o perfil metabólico e o desempenho produtivo no decorrer do experimento.
- Avaliar a relação do estresse da desmama e a excreção de cromo pela urina.
- Comparar o perfil metabólico e produtivo entre animais identificados como bravos e mansos, independente das suplementação com cromo.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 LOCAL E ANIMAIS DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado no período de outubro de 2012 a abril de 2013 em fazenda comercial de gado de corte no município de Belterra, na região oeste do estado do Pará. Foram utilizados 150 bezerros, 74 machos e 76 fêmeas, entre cinco e seis meses de idade, produtos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) de touros Angus (n= 62), Guzerá (n= 57), e Nelore (n= 31) em vacas Nelore. Os procedimentos com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA - FMVZ-USP) protocolado sob o número 2429/2011.

Um mês antes do início do experimento da suplementação mineral, como descrito no modelo experimental (Figura 1), todos os bezerros foram identificados por brincos auriculares numerados, tatuados na região interna da orelha, vermifugados contra ecto e endoparasitas e vacinados contra febre aftosa, brucelose, no caso das fêmeas, clostridioses e leptospirose.

### 4.2 ALIMENTAÇÃO

Durante todo o experimento os bezerros foram mantidos em piquetes de capins *Brachiaria brizantha* e de *Panicum maximum* (variedade mombaça). Cada grupo experimental se alocava alternadamente num dos piquetes com uma dessas gramíneas. Todos os piquetes eram providos de cochos com sistema *creep feeding* (cocho em que só os bezerros jovens têm acesso). Ao início do experimento (60 dias antes da desmama), os bezerros foram separados aleatoriamente nos grupos experimentais (75 bezerros lactentes em cada grupo), de acordo com sexo, raça e peso em conjunto com suas mães, até o momento da desmama.

O grupo 1 (controle) recebeu suplementação contendo sal proteinado (20% de proteína bruta, mais macro e microelementos essenciais que não cromo). O grupo 2 (tratamento) recebeu a mesma dieta, adicionado de 30 mg de carboaminofosfoquelato (na forma de  $Cr^{+3}$ ) de cromo/kg MS (Tabela 1). Tal suplemento foi oferecido para que o consumo médio diário por bezerro, de

ambos os grupos, fosse de 0,1% do peso vivo (PV) ajustado de acordo com a pesagem dos animais. O sal proteinado foi formulado com 63% de milho farelado e 37% de farelo de soja, e desse total acrescido de 30% de suplemento mineral (Tabela 1), oferecendo assim entre 1,17 mg a 2,45 mg/cromo/animal/dia, para o menor e maior bezerro, respectivamente, no decorrer do experimento. Essa quantia atendia e suplantava os requerimentos indicados pelo NRC (2006) para bovinos de corte de 0,6 a 0,75 mg Cr/animal/dia. Os teores de cromo foram determinados nas amostras de capins coletados nos vários piquetes no decorrer do experimento. As concentrações variaram de 0,05 a 0,12 ppm, com uma média de 0,08 ppm.

A quantidade de sal proteinado era colocada em cochos de livre acesso, no interior do *creep feeding*, com 6,50 m de comprimento e 30 cm de largura, oferecendo 8 cm de espaço linear/ animal, segundo o que recomenda a literatura (EMBRAPA, 1995). Nos acompanhamentos diários verificou-se que todos os animais, de ambos os grupos, entravam no recinto e tinham acesso ao sal proteinado consumindo completamente a quantidade calculada e oferecida no dia, com exceção da primeira semana de adaptação e nos dois dias em seguida a desmama, onde o consumo não atingiu 50% do oferecido.

Tabela 1- Níveis de garantia do suplemento mineral (por kg do produto) que foi oferecido aos bezerros durante experimento – São Paulo - 2013

Composição mineral*	Grupo 1 (controle)**	Grupo 2 (tratamento)***
Cálcio	132,00 g	120,00 g
Fósforo	88,00 g	88,00 g
Sódio	126,00 g	126,00 g
Enxofre	12,00 g	12,00 g
Cobalto	55,50 mg	60,00 mg
Cobre	1.530,00 mg	1.530,00 mg
Ferro	1.800,00 mg	1.800,00 mg
Iodo	75,00 mg	75,00 mg
Manganês	1.300,00 mg	1.300,00 mg
Selênio	15,00 mg	15,00 mg
Zinco	3.630,00 mg	3.630,00 mg
Cromo	-	30,00 mg
Flúor (máx.)	880,00 mg	880,00 mg

Notas: \*Informações do fabricante; \*\*FOSBOVI 20®; \*\*\*FOSCROMO® (TORTUGA Companhia Zootécnica Agrária®)

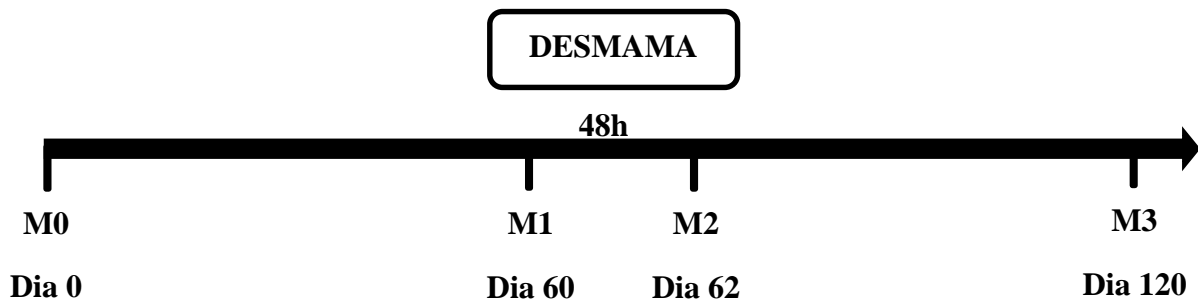
### 4.3 DELINEAMENTO E PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Os animais foram pesados individualmente, identificados quanto ao sexo (machos e fêmeas), distribuição de cruzamento racial (Angus, Guzerá e Nelore) e em seguida distribuídos aleatoriamente em dois blocos iguais de 75 bezerros cada: grupo1 – sem suplementação de cromo (controle), grupo 2 – com suplementação de cromo (tratamento).

A duração total da suplementação no experimento foi de 120 dias. Os bezerros foram pesados no início do experimento M0 (60 dias antes da desmama), M1 (momento da desmama) e M3 (60 dias após a desmama) (Figura 1). Todas as pesagens foram realizadas após um jejum alimentar de 16 horas.

A desmama foi realizada em curral, onde os bezerros foram separados das vacas, que retornaram ao pasto original, e os bezerros separados de acordo com o grupo experimental em dois compartimentos diferentes neste local, com espaço social de 10 m<sup>2</sup>/por animal. Seguindo o manejo da propriedade, durante a desmama, com duração de 48 horas, foi oferecida água *ad libitum* e sal proteinado respectivo. Após a desmama, os bezerros retornaram aos piquetes supracitados, mantendo-os isolados das mães, onde permaneceram até o final do experimento (60 dias após a desmama).

Figura 1 - Diagrama experimental do protocolo de coletas durante o experimento.



Em todos os momentos (M0, M1, M2 e M3) foram coletadas amostras de sangue em tubos sem anticoagulante e com fluoreto e urina dos bezerros.



### 4.3.1 Coleta e processamento das amostras de sangue

As amostras sanguíneas foram coletadas por venopunção jugular externa em tubos siliconizados vacutainer<sup>®</sup> sem anticoagulante, com um dos tubos contendo fluoreto, com o objetivo de se analisar os teores de glicose.

Nas amostras sanguíneas foram realizadas as seguintes análises laboratoriais: glicose, proteína total, albumina, cortisol e cromo.

As amostras de sangue total nos tubos sem anticoagulante foram mantidas à temperatura ambiente e centrifugadas a 3.000 g por 15 minutos, para obtenção do soro, que foi aliqotado em tubos eppendorfs<sup>®</sup> e congelados a menos 20 °C para posterior análise.

As amostras séricas ainda foram utilizadas para a determinação da concentração de cromo. Para a análise de cromo nas amostras de soro estas foram digeridas (solução de ácido nítrico e perclórico – 4:1 v/v; ambas livres de cromo) e analisadas em seguida por espectrofotometria óptica por emissão de plasma (ICP - Espectrômetro de emissão ótica por plasma indutivamente acoplado - Varian<sup>®</sup> - Modelo: 710-ES).

As amostras sanguíneas coletadas com o fluoreto foram prontamente refrigeradas a 4 °C e posteriormente centrifugadas a 2.000 g por 10 minutos, para obtenção de plasma. As amostras de plasma fluoretado foram congeladas a menos 20 °C, para posterior determinação da glicose. A determinação dos teores séricos de glicose foi quantificada por metodologia enzimática colorimétrica em analisador bioquímico da marca Randox<sup>®</sup>, utilizando-se kit comercial da Randox<sup>®</sup> Ltda.

As análises bioquímicas foram realizadas em analisador bioquímico automático da marca Randox<sup>®</sup> com kits específicos para cada variável. As variáveis bioquímicas determinadas durante o estudo foram: proteína total e albumina.

As determinações hormonais de cortisol foram realizadas por ensaio quimiluminescente, utilizando-se kit comercial da marca Siemens<sup>®</sup> em analisador de imunoensaios Immulite 1000<sup>®</sup> (Siemens<sup>®</sup>). Para a medição quantitativa do cortisol foi utilizado um imunoensaio competitivo de fase sólida, de enzima químico-liminosas, com ciclo de incubação de 1 x 30 minutos. O procedimento de ensaio segue o princípio básico de enzima imunoensaio onde existe uma competição entre um antígeno não marcado e um antígeno marcado com enzima, por um número determinado de sítios de ligação no anticorpo. A quantidade de antígeno marcado com enzima é inversamente proporcional à concentração do analítico presente não marcado. O material não ligado é removido por decantação e lavagem

das cavidades. Com os níveis de refração da luz o equipamento mensura a quantidade de cortisol presente na amostra.

#### 4.3.2 Coleta e processamento das amostras de urina

As amostras de urina foram obtidas durante micção espontânea ou por estímulo por meio de massagem prepucial em parte considerável dos machos, sendo em seguida acondicionadas em tubos coletores universais estéreis. Devido a maior dificuldade de se obter amostras de fêmeas, optou-se por não coletar delas em nenhum dos dois grupos. O número de amostras de urina coletadas foi, respectivamente: M0 (n=53), M1 (n= 42), M2 (n= 35) e M3 (n=36).

Para a determinação dos teores de cromo na urina, uma fração deste fluido foi aliquoteada em tubos KMA, armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até a análise pelos mesmos métodos supracitados para o soro.

Na urina foram determinadas as concentrações de cromo (Cr) e creatinina (Cr), que em conjunto com o peso metabólico (peso vivo<sup>0,75</sup>) de cada animal, possibilitou o cálculo do índice de excreção urinária de cromo (IEUCr). O IEUCr corresponde à quantidade eliminada de cromo na urina (UCr) corrigida pela creatinina urinária e peso metabólico. O cálculo seguiu as recomendações descritas por Felming et al. (1991) e Soares (2004).

$$\text{Índice de excreção urinária de cromo (nM)} = \text{IEUCr} = (\text{CrUr}/\text{CrUr}) \times \text{PV}^{0,75}$$

CrUr - Cromo determinado na urina expresso em  $\mu\text{M}$

CrUr - Creatinina urinária expresso em  $\mu\text{M}$

PV<sup>0,75</sup> - Peso metabólico (kg)

### 4.3.3 Avaliação do temperamento dos bezerros no momento da desmama

Após 48 horas decorridas da desmama (M2) foi atribuído aos bezerros o escore composto de balança (EC) para avaliar o temperamento dos animais (SILVEIRA et al., 2008). A atribuição do EC foi realizada durante a pesagem individual dos animais na balança. Foram atribuídos EC: 1 = calmo, nenhum movimento, nenhuma respiração audível; 2 = inquieto, alterando as posições das patas; 3 = se contorcendo, tremendo, movimentando ocasionalmente a balança, respiração audível ocasional; 4 = movimentos contínuos, movimentando a balança, respiração audível; 5 = movimentos vigorosos e contínuos, movimentando a balança, virando-se ou lutando violentamente, respiração audível. Os bezerros com escore 1 e 2 foram considerados animais mansos, e com escore 3, 4 e 5 animais bravos.

## 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram processadas com auxílio de dois programas estatísticos computadorizados: STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS (2000) e MINITAB RELEASE (2000).

Os dados obtidos durante o período experimental foram analisados quanto a sua distribuição normal pela prova de Shapiro-Wilk e avaliada a homogeneidade das variâncias. Os dados que obedeceram à distribuição paramétrica foram submetidos a análise de variância utilizando o procedimento PROC MIXED (SAS), para medidas repetidas no tempo, sendo estudado para cada variável o efeito de tratamento, tempo e interação entre tratamento e tempo. Sendo considerado o critério de Akaike (AIC) para a escolha da melhor estrutura de covariância. Após a escolha da melhor estrutura de covariância foi analisado o efeito de tempo entre os momentos estudados. Quando foram comparados isoladamente uma variável entre dois tratamentos num único tempo foi empregado o teste “t” de Student (MINITAB) de duas amostras em diferentes colunas (SAMPAIO, 2002). Os dados que não tiveram distribuição paramétrica foram submetidos ao teste de Mann-Whitney e os resultados foram expressos pela sua mediana (SIEGEL, 1975).

Utilizou-se o teste de hipótese, não paramétrico, Qui-quadrado para a avaliação comportamental entre os tratamentos, sexo e temperamento dos de animais.

Foram consideradas significativas as diferenças cujo valor de “P” apresentou valores iguais ou inferiores a 0,05, sendo considerado com tendência quando esta significância se apresentava maior que 0,05 e igual ou inferior a 0,1.

No estudo da relação entre duas variáveis foram calculados os coeficientes de correlação e determinação. Ficou estabelecido que existiu uma correlação de alta intensidade entre as variáveis quando  $r \geq 0,60$ ; média intensidade quando  $0,30 < r < 0,60$ ; e de baixa intensidade quando  $r \leq 0,30$ , considerando também que o nível de significância obtido nas correlações seja igual ou inferior a 5% (LITTLE; HILLS, 1978).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 PESO CORPORAL

O peso médio dos bezerros de acordo com os grupos segue descrito na tabela 2. Não houve diferença significativa entre os grupos nos tempos avaliados, porém ocorreu aumento significativo no ganho de peso no decorrer do experimento dentro de cada grupo (Tabela 2).

Tabela 2 - Peso corporal (kg) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos do estudo – São Paulo - 2013

Momentos	Grupo controle		Grupo tratamento		P
	Média	DP	Média	DP	
M0	164,88 <sup>c</sup>	29,08	165,42 <sup>c</sup>	30,03	0,9032
M1	221,39 <sup>b</sup>	35,41	228,82 <sup>b</sup>	33,62	0,1615
M3	235,86 <sup>a</sup>	38,50	244,28 <sup>a</sup>	37,99	0,1782
P	0,0430		0,0203		

Notas: Letras minúsculas diferentes nas colunas significam diferença entre os momentos.

O peso acumulado dos animais que receberam cromo foi maior tanto na desmama (M1–M0) como no decorrer de todo o experimento (M3–M0), porém não existiu diferença significativa entre grupos após a desmama (M3–M1) (Tabela 3).

Tabela 3 - Ganho de peso (kg) acumulado dos animais no decorrer do experimento – São Paulo - 2013

Momentos	Grupo controle		Grupo tratamento		P
	Média	DP	Média	DP	
M1 - M0	54,5 <sup>B</sup>	13,9	60,1 <sup>A</sup>	11,7	0,006
M3 – M1	14,9	8,0	15,8	5,2	0,464
M3 – M0	68,1 <sup>B</sup>	17,3	74,6 <sup>A</sup>	14,7	0,037

Notas: Letras maiúsculas diferentes nas linhas significam diferença entre os grupos.

## 5.2 TEMPERAMENTO DOS BEZERROS NA DESMAMA

Tanto no M1 como no M2 um maior número de bezerros foram avaliados como bravos no grupo controle em relação aos suplementados com cromo (Tabela 4).

Tabela 4 - Avaliação do comportamento dos bezerros no M2, segundo presença de mansos e bravos\* - São Paulo – 2013

	Grupo controle		Grupo tratamento		P
	Nº Mansos	Nº Bravos	Nº Mansos	Nº Bravos	
M2	51	24 <sup>A</sup>	69	6 <sup>B</sup>	0,0001

Notas: \* Mansos: escore 1 e 2. Bravos: escore 3, 4 e 5.

Letras maiúsculas nas linhas significam diferença entre os grupos.

O número de bezerros machos e fêmeas avaliados como bravos no grupo controle foi superior aos suplementados com cromo no M2. Não existiram diferenças significativas na avaliação do comportamento entre machos e fêmeas dentro do mesmo tratamento (Tabela 5)

Tabela 5 - Avaliação do comportamento dos bezerros (machos e fêmeas) no M2, segundo presença de mansos e bravos\* - São Paulo – 2013

	Grupo controle		Grupo tratamento		P
	Nº Mansos	Nº Bravos	Nº Mansos	Nº Bravos	
Machos	26	11 <sup>A</sup>	35	2 <sup>B</sup>	0,006
Fêmeas	25	13 <sup>A</sup>	34	4 <sup>B</sup>	0,013
P	0,677		0,414		

Notas: \* Mansos: escore 1 e 2. Bravos: escore 3, 4 e 5.

Letras maiúsculas nas linhas significam diferença entre os grupos

Não existiram diferenças na avaliação do comportamento entre machos e fêmeas, quando retirada a influência do tratamento (Tabela 6).

Tabela 6 - Avaliação do comportamento dos bezerros (machos e fêmeas) no M2, sem influência do tratamento, segundo presença de mansos e bravos\* - São Paulo – 2013

	Machos		Fêmeas		P
	Nº Mansos	Nº Bravos	Nº Mansos	Nº Bravos	
	61	13	59	17	0,662

Notas: \* Mansos: escore 1 e 2. Bravos: escore 3, 4 e 5.

### 5.3 DETERMINAÇÃO DE CROMO SÉRICO E URINÁRIO

Não existiram diferenças significativas nos teores de cromo sérico, tanto entre tratamentos como nos momentos (Tabela 7).

Tabela 7 - Teores do cromo sérico (nM) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos do experimento – São Paulo - 2013

Momentos	Grupo Controle		Grupo Tratamento		P
	Média	DP	Média	DP	
M0	257,3	90,2	222,7	78,7	0,1200
M1	216,9	49,9	222,5	57,6	0,6897
M3	257,3	94,1	266,9	113,3	0,6943

Não existiram diferenças no índice de excreção urinária de cromo entre os tratamentos nos mesmos momentos, porém maiores índices de excreção urinária foram detectadas no M1 e M2 em relação ao M0 dentro de ambos tratamentos, no decorrer do experimento (Tabela 8).

Tabela 8 – Índice de excreção urinária (nM) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos do experimento – São Paulo - 2013

Momentos	Grupo controle	Grupo tratamento	P
	Mediana	Mediana	
M0	1,93 <sup>b</sup>	2,14 <sup>b</sup>	0,5725
M1	14,00 <sup>a</sup>	10,93 <sup>a*</sup>	0,3254
M2	9,24 <sup>a</sup>	19,28 <sup>a*</sup>	0,0735
P	0,0235	0,0218	

Notas: \* P=0,0791 (Mann-Whitney)

Letras minúsculas nas colunas significam diferença entre os momentos.

Não existiram diferenças nos teores excretados de cromo na urina entre os tratamentos nos mesmos momentos, porém maiores concentrações foram detectadas no M2 em relação ao M0 e M1 dentro de ambos tratamentos, no decorrer do experimento (Tabela 9).

Tabela 9 - Teores do cromo urinário (nM) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos do experimento – São Paulo - 2013

Momentos	Grupo controle		Grupo tratamento		P
	Média	DP	Média	DP	
M0	192,2 <sup>c</sup>	123,4	228,2 <sup>c</sup>	104,2	0,2920
M1	238,1 <sup>c</sup>	92,9	185,6 <sup>c</sup>	91,6	0,1130
M2	443,1 <sup>a</sup>	148,2	379,0 <sup>a</sup>	131,7	0,1780
M3	316,8 <sup>b</sup>	147,2	333,1 <sup>b</sup>	142,4	0,7480
P	0,0220		0,0311		

Notas: Letras minúsculas nas colunas significam diferença entre os momentos.

#### 5.4 TEORES DE CORTISOL SANGUÍNEO

Menores teores de cortisol foram detectados nos animais suplementados com cromo no M2 em relação ao controle. A análise dentro dos tratamentos indicou que o cortisol foi superior no M1 e M3 em relação ao obtido no M0 e M2 (Tabela 10).

Tabela 10 - Concentração de cortisol sanguíneo (nM) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos do experimento – São Paulo - 2013

Momentos	Grupo Controle		Grupo Tratamento		P
	Média	DP	Média	DP	
M0	64,03 <sup>b</sup>	21,25	66,79 <sup>b</sup>	3,03	0,4950
M1	110,4 <sup>a</sup>	41,44	99,63 <sup>a</sup>	4,69	0,1000
M2	76,45 <sup>Ab</sup>	28,98	63,73 <sup>Bb</sup>	3,03	0,0095
M3	98,25 <sup>a</sup>	36,43	106,53 <sup>a</sup>	5,79	0,3105
P	0,0025		0,0001		

Notas: Letras maiúsculas nas linhas significam diferença entre os grupos.  
Letras minúsculas nas colunas significam diferença entre os momentos.



## 5.5 VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS DO SANGUE

### 5.5.1 Glicose plasmática

Maiores concentrações de glicose plasmática dos bezerros foram detectados nos animais suplementados no M3. Em ambos grupos maiores teores de glicose foram encontrados no M0 em relação ao M2 (Tabela 11).

Tabela 11 – Concentração de glicose (mM) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos estudados – São Paulo - 2013

Momentos	Grupo Controle		Grupo Tratamento		P
	Média	DP	Média	DP	
M0	5,60 <sup>a</sup>	0,89	5,68 <sup>a</sup>	0,88	0,6350
M1	5,62 <sup>a</sup>	0,72	5,62 <sup>ab</sup>	0,75	0,5042
M2	5,22 <sup>b</sup>	0,63	5,30 <sup>b</sup>	0,58	0,4171
M3	4,80 <sup>Bb</sup>	0,62	5,47 <sup>Aa</sup>	1,03	0,0012
P	0,0258		0,0448		

Notas: Letras maiúsculas nas linhas significam diferença entre os grupos.  
Letras minúsculas nas colunas significam diferença entre os momentos.

### 5.5.2 Proteína total

Maiores teores de proteína total foram observados no M1 do grupo controle, em relação ao suplementado com cromo, ocorrendo o inverso no momento M3 nesses grupos. Dentro do grupo controle maiores valores foram encontrados no M1, seguido dos observados no M2 e M3, os quais foram superiores ao M0. No grupo tratado o teor de proteína total foi superior no M3 em relação aos demais tempos (Tabela 12).

Tabela 12 - Concentração sérica de proteína total (g/L) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos estudados – São Paulo - 2013

Momentos	Grupo Controle		Grupo Tratamento		P
	Média	DP	Média	DP	
M0	69,0 <sup>c</sup>	4,2	69,2 <sup>b</sup>	6,6	0,5914
M1	70,4 <sup>Aa</sup>	4,1	68,8 <sup>Bb</sup>	4,5	0,0177
M2	69,5 <sup>b</sup>	4,7	68,3 <sup>b</sup>	4,3	0,0992
M3	69,6 <sup>Bb</sup>	5,3	71,4 <sup>Aa</sup>	5,0	0,0193
P	0,0400		0,0085		

Notas: Letras maiúsculas nas linhas significam diferença entre os grupos  
Letras minúsculas nas colunas significam diferença entre os momentos.

### 5.5.3 Albumina sérica

Maiores teores de albumina sérica foram encontrados nos bezerros suplementados em relação aos controles no M3. Dentro do grupo controle maiores valores foram encontrados no M0, seguido dos observados no M2 e M3, os quais foram superiores ao M1. No grupo tratado maiores teores foram encontrados no M0, seguido do observado no M2, o qual foi superior ao M1 e M3 (Tabela 13).

Tabela 13 - Concentração de albumina (g/L) dos bezerros dos grupos controle e tratamento nos vários momentos estudados – São Paulo - 2013

Momentos	Grupo Controle		Grupo Tratamento		P
	Média	DP	Média	DP	
M0	36,4 <sup>a</sup>	1,6	36,6 <sup>a</sup>	1,7	0,5934
M1	34,1 <sup>c</sup>	2,1	33,9 <sup>c</sup>	1,6	0,5509
M2	35,2 <sup>b</sup>	2,1	35,2 <sup>b</sup>	1,8	0,9466
M3	31,9 <sup>Bb</sup>	1,8	33,5 <sup>Ac</sup>	2,4	0,0001
P	0,0162		0,0003		

Notas: Letras maiúsculas nas linhas significam diferença entre os grupos.  
Letras minúsculas nas colunas significam diferença entre os momentos.

## 5.6 COMPARAÇÃO DE VARIÁVEIS SÉRICAS E URINÁRIA NO M2, E PESO ACUMULADO APÓS A DESMAMA EM BEZERROS BRAVOS E MANSOS

Os bezerros classificados como bravos apresentaram em todas as seis variáveis apresentadas na tabela 14 maiores concentrações séricas ou urinária que os animais avaliados como mansos. O peso acumulado entre o M2 e M3 foi superior nos animais avaliados como mansos (Tabela 14).

Tabela 14 - Teores de algumas variáveis séricas e urinárias no M2 e peso acumulado após a desmama (M2 – M3) em bezerros bravos e mansos, independentemente do tratamento\* – São Paulo - 2013

Momentos	BRAVOS		MANSOS		P
	Média	DP	Média	DP	
Glicose (mM)	5,79 <sup>A</sup>	1,03	5,26 <sup>B</sup>	0,64	0,011
Cortisol (nM)	84,18 <sup>A</sup>	38,64	67,89 <sup>B</sup>	29,25	0,041
Proteína total (g/L)	71,3 <sup>A</sup>	4,0	68,5 <sup>B</sup>	4,1	0,013
Cromo urinário (nM)	498,5 <sup>A</sup>	163,4	336,7 <sup>B</sup>	87,1	0,041
IEUCr <sup>**</sup> (nM)	25,4 <sup>A</sup>	**	9,5 <sup>B</sup>	**	0,040
Peso acumulado (kg)	14,9	6,6	19,3	7,5	0,047

Notas: \* Mansos: escore 1 e 2. Bravos: escore 3, 4 e 5.

\*\* Índice de Excreção Urinária do Cromo (Mediana)

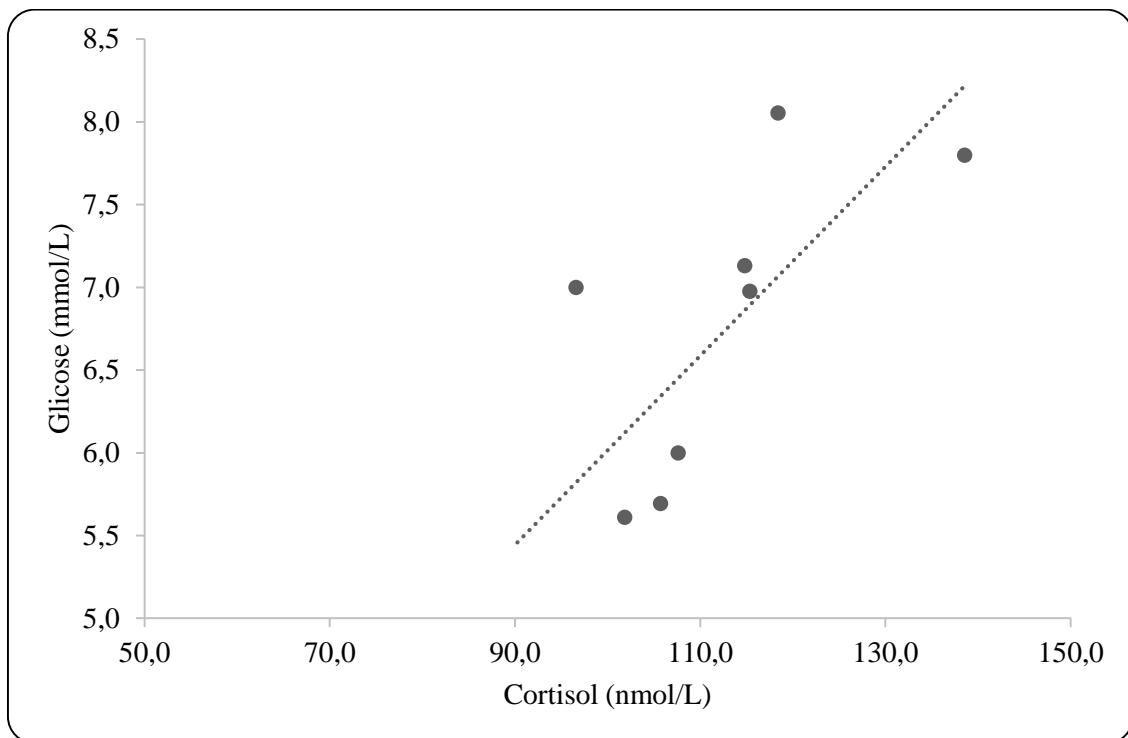
Letras maiúsculas nas linhas significam diferença entre os grupos.

## 5.7 RELAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS

### 5.7.1 Cortisol sanguíneo e glicose plasmática nos bezerros bravos no M2

Os coeficiente de correlação e determinação foram determinados entre essas variáveis no auge do estresse da desmama, encontrando-se um valor positivo com significância ( $r= 0,763$ ;  $R^2= 0,582$ ;  $P= 0,017$ ) (Figura 2).

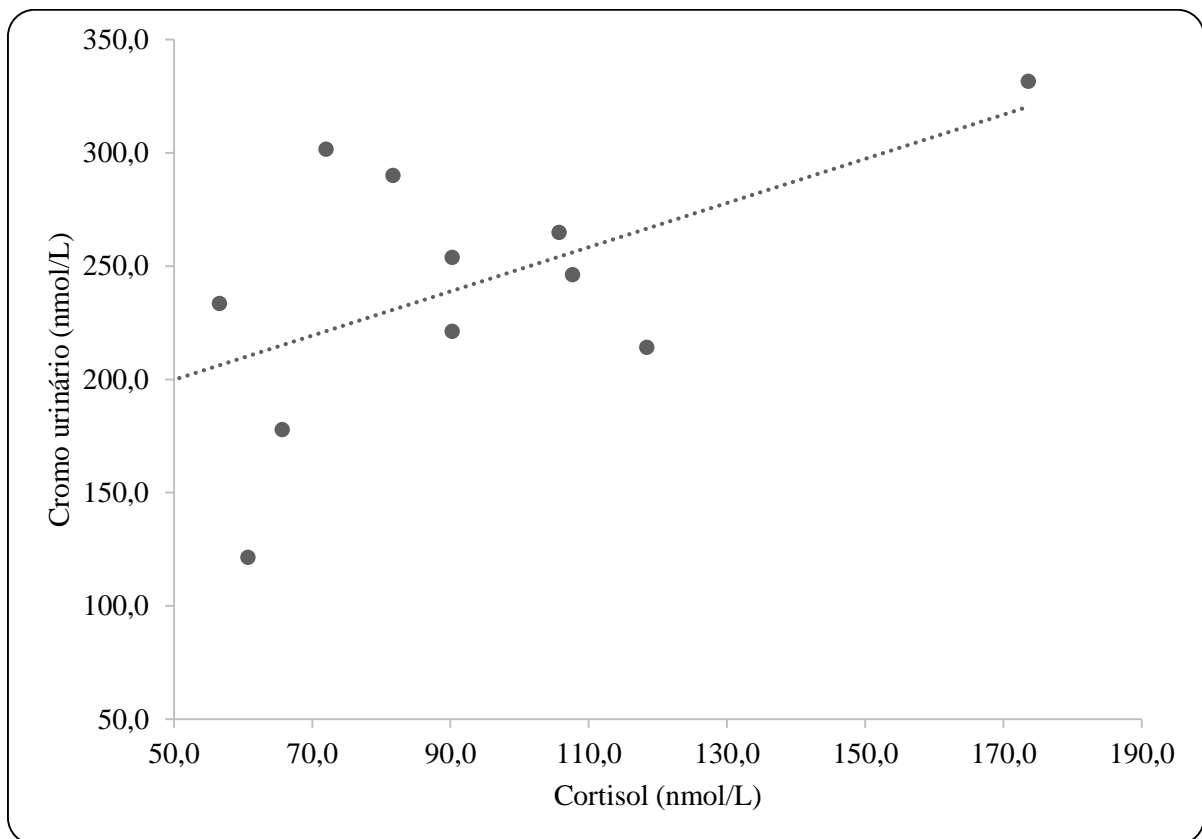
Figura 2 – Relação entre cortisol sanguíneo (nmol/L) e glicose (mmol/L) nos bezerros bravos no M2



### 5.7.2 Cortisol sanguíneo e cromo urinário nos bezerros bravos no M2

Os coeficiente de correlação e determinação foram determinados entre essas variáveis no auge do estresse da desmama, encontrando-se um valor positivo com significância ( $r= 0,611$ ;  $R^2= 0,373$ ;  $P= 0,035$ ) (Figura 3).

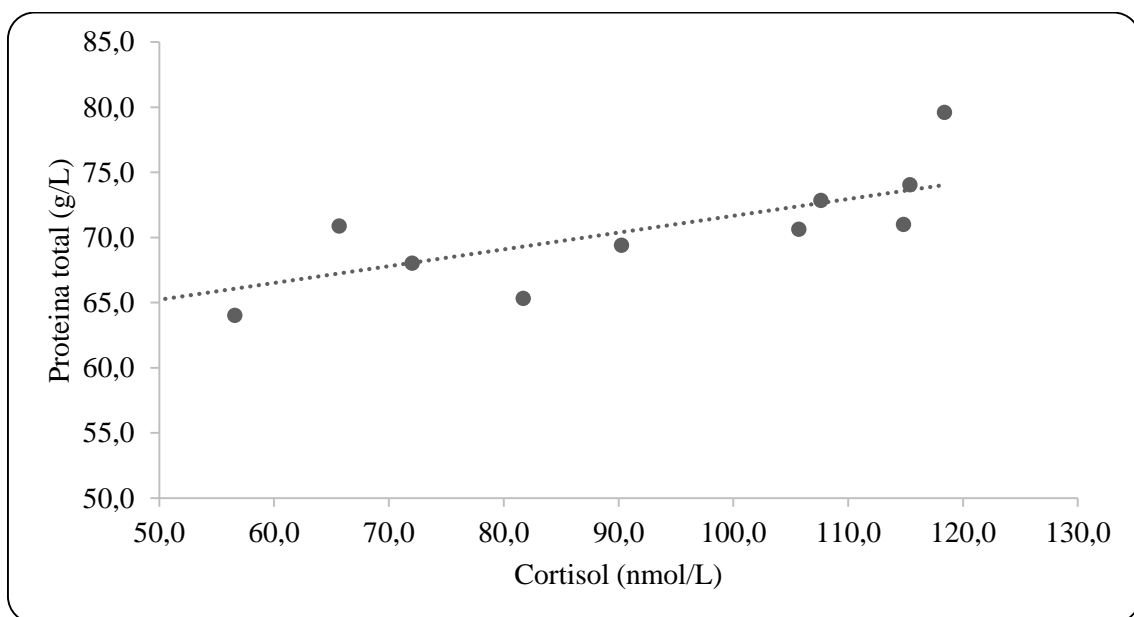
Figura 3 – Relação entre cortisol sanguíneo (nmol/L) e cromo urinário (nmol/L) nos bezerros bravos no M2



### 5.7.3 Cortisol sanguíneo e proteína total nos bezerros bravos no M2

Os coeficiente de correlação e determinação foram determinados entre essas variáveis no auge do estresse da desmama, encontrando-se um valor positivo e com significância ( $r=0,829$ ;  $R^2=0,687$ ;  $P=0,001$ ) (Figura 4).

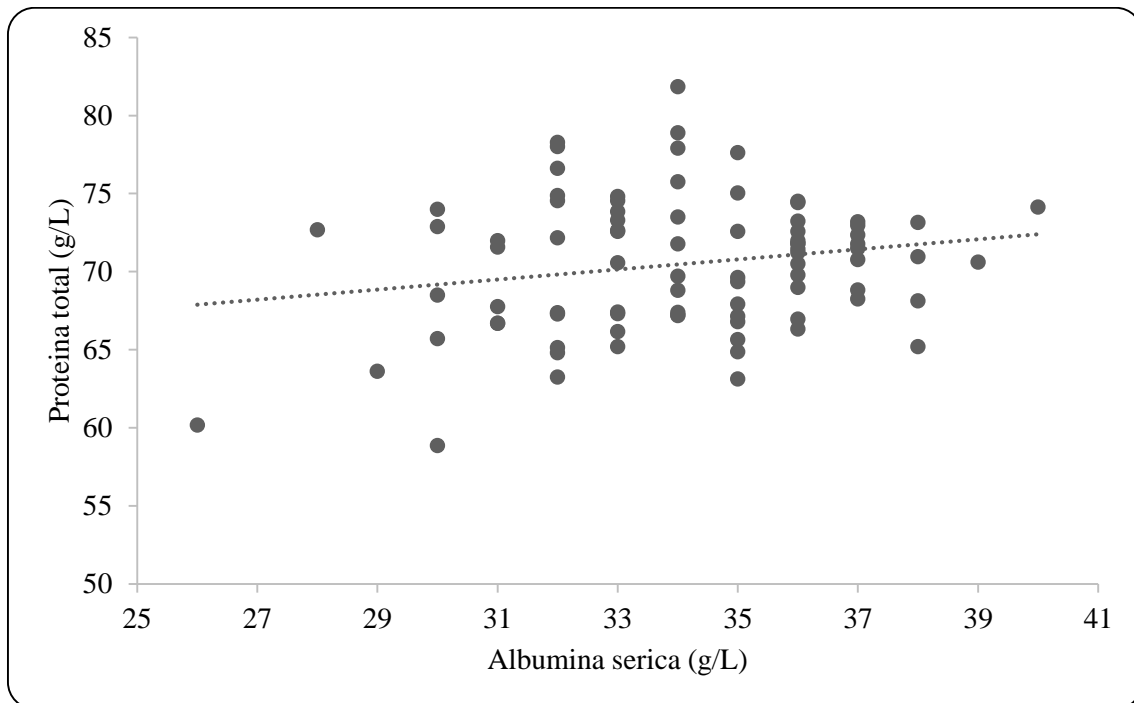
Figura 4 – Relação entre cortisol sanguíneo (nmol/L) e proteína total (g/L) nos bezerros bravos no M2



### 5.7.4 Proteína total e albumina sérica nos bezerros controle no M1

Os coeficiente de correlação e determinação foram determinados entre essas variáveis no início do estresse da desmama, encontrando-se um valor positivo, mas não significativo ( $r=0,196$ ;  $R^2=0,0075$ ;  $P=0,073$ ) (Figura 5).

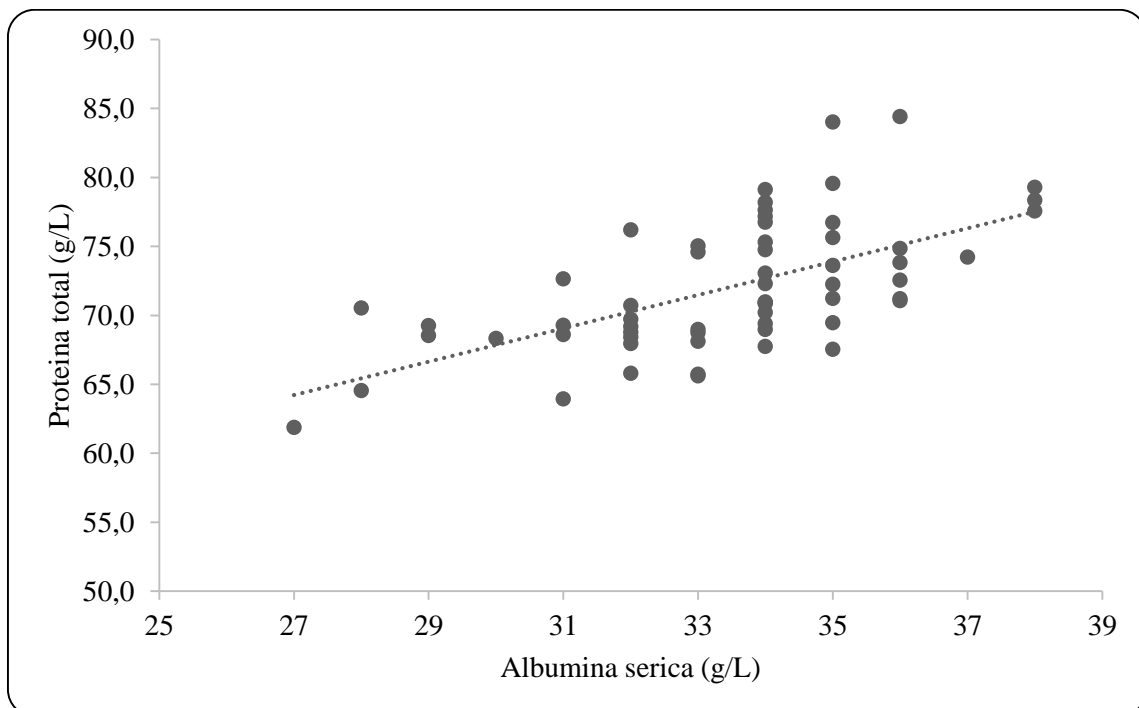
Figura 5 – Relação entre proteína total (g/L) e albumina (g/L) nos bezerros controle no M1



### 5.7.5 Proteína total e albumina nos bezerros tratados no M3

Os coeficiente de correlação e determinação foram determinados entre essas variáveis no término do experimento, encontrando-se um valor positivo e significativo ( $r= 0,611$ ;  $R^2= 0,373$ ;  $P= 0,0001$ ) (Figura 6).

Figura 6 – Relação entre proteína total (g/L) e albumina (g/L) nos bezerros controle no M3

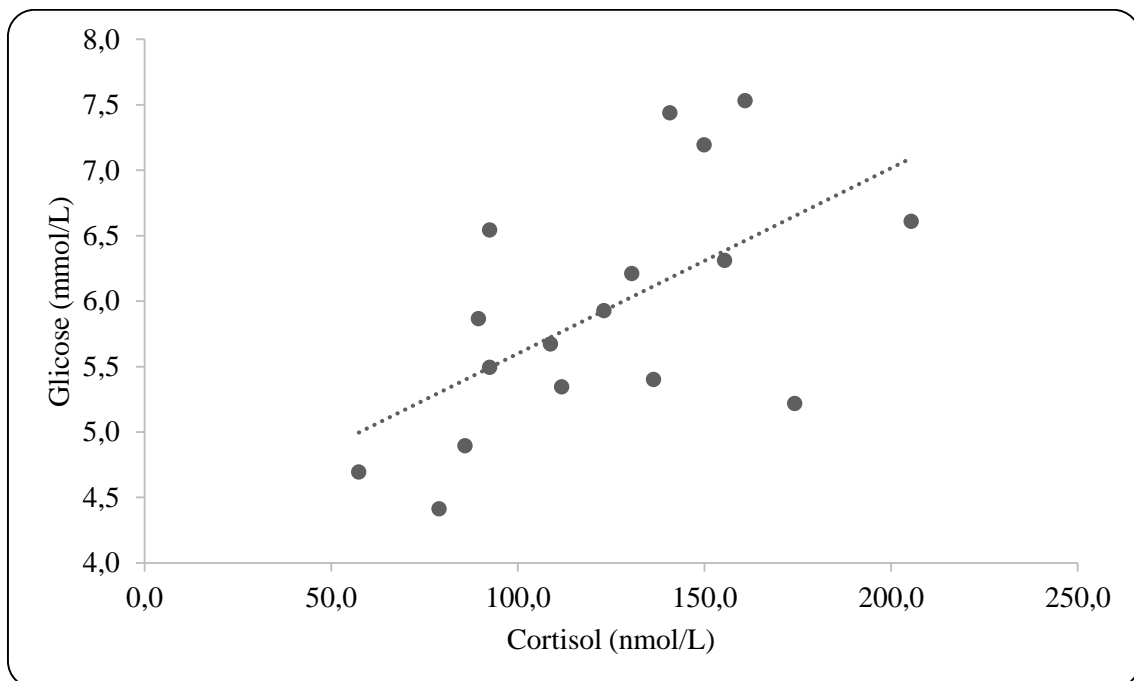




### 5.7.6 Cortisol sérico e glicose plasmática nos bezerros tratados no M3

Os coeficiente de correlação e determinação foram determinados entre essas variáveis no término do experimento, encontrando-se um valor positivo e significativo ( $r= 0,593$ ;  $R^2= 0,351$ ;  $P= 0,012$ ) (Figura 7).

Figura 7 – Relação entre cortisol sérico (nmol/L) e glicose plasmática (mmol/L) nos bezerros tratados no M3



## 6 DISCUSSÃO

Semelhante, ao descrito na literatura, este trabalho indicou que o cromo atuou de forma muito satisfatória, num dos momentos mais críticos da criação dos animais, a desmama, mitigando de alguma forma o estresse e trazendo benefícios aos animais.

Embora nesse experimento existisse grande variabilidade na constituição dos bezerros empregados, quer seja pelo sexo, pela raça ou idade, procurou-se diminuir tal efeito aumentando-se o número de animais por grupo (n= 75).

Não existiu diferença entre o peso vivo dos animais no decorrer do experimento (Tabela 2), semelhante ao descrito por grande parte da literatura consultada (CHANG; MOWAT, 1992; ZANETTI et al., 2003; PECHOVA; PAVLATA, 2007, YANCHEV et al., 2008; KUMAR et al., 2013). Deve ter contribuído para esse fato a variabilidade dos bezerros empregados, em especial o peso vivo inicial dos mesmos. Contudo, a despeito, desse resultado, a suplementação com cromo proporcionou um aumento no ganho de peso acumulado, tanto no período prévio como posterior a desmama (Tabela 3). Provavelmente, esse resultado, diferente dos outros trabalhos supracitados, pode ter ocorrido primeiro pela retirada do efeito da variabilidade do peso vivo, assim como ao grande número de animais empregados, aumentando assim os graus de liberdade e favorecendo o surgimento desse resultado.

O maior ganho de peso acumulado durante todo experimento (M3- M0; Tabela 3) demonstra que a suplementação do cromo no decorrer do final de lactação e período pós-desmama atua diminuindo o número de animais estressados (Tabela 4), visto que comprovadamente animais estressados no processo apresentam maior perda de peso que os mansos (Tabela 14) (ENRIQUES et al., 2011). No presente experimento, o cromo além de diminuir o número de bezerros estressados na desmama, demonstrado por uma menor secreção de cortisol no M2 (Tabela 10), atuou possivelmente diminuindo a reação inflamatória nesses animais (Tabela 12; Figura 5), processo este que aumenta o consumo de energia, por desvio de aminoácidos dos tecidos para a produção de proteínas de fase aguda e piora o desempenho produtivo (ARTHINGTON et al., 2005). Contudo, não existem dados plausíveis para explicar o motivo do maior ganho acumulado do início do experimento até a desmama (M1- M0; Tabela 3). Segundo Roginski; Mertz (1969), a suplementação de cromo em ratos intensificou a incorporação de aminoácidos às proteínas cardíacas e nos tecidos musculares.

Segundo Enriques et al. (2011), o conceito de desmama é mais amplo do que se pensa e inicia quando o animal jovem atinge quatro vezes o seu peso de nascimento em que a

quantidade de nutrientes fornecido pelo leite já não atende os 50% dos requerimentos exigidos, obrigando o bezerro a complementar esse déficit por meio de um aumento de consumo de matéria seca. A propósito, o peso inicial dos bezerros nesse experimento estava em torno de quatro vezes o peso ao nascimento. O manejo adotado permitiu que os bezerros pudessem aumentar o consumo de matéria seca pelo oferecimento de sal proteinado, via *creep feeding*, porém isso obrigou os animais jovens a terem maior relacionamento social entre eles e de alguma forma competirem pelo alimento, gerando algum tipo de estresse, principalmente quando animais “não familiares” estão convivendo com o grupo (ENRIQUES et al., 2011). Embora não fosse acompanhado no trabalho, sugere-se o cromo tenha de alguma forma modulado este processo, mitigando esse estresse que antecede a desmama.

A suplementação com cromo não foi eficiente para promover o ganho de peso acumulado após a desmama até o final do experimento (M3- M1; Tabela 3). Advoga-se que passado o período de estresse máximo da desmama alguns animais controle, que até então tinham um peso inferior aos suplementados, possam ter entrado num processo de ganho compensatório que proporcionou uma recuperação do peso dos mesmos. Enquanto a médio de ganho de período foi de 14,9 kg três animais controle mansos tiveram ganhos de peso que ultrapassaram os 27 kg no período.

Foi escolhido como teste de avaliação do estresse o comportamento dos bezerros no interior da balança, identificado por Silveira et al. (2008) como um teste muito eficiente (Tabela 4). Empregou-se também neste experimento o teste de velocidade de saída da balança, que segundo Curley et al. (2006) é mais acurado entre os teste de comportamento, porém como na saída da balança utilizada neste experimento, num local coberto, havia súbita luminosidade isso interferiu na eficiência do teste, visto que alguns animais reconhecidamente bravos ou mansos não saíam em alta ou baixa velocidade nessa fuga, respectivamente, como o esperado. Segundo, Grandin (1993) mudanças súbitas de luminosidade no ambiente de manejo no curral levam o gado a empacar.

Mesmo assim, o teste empregado no presente experimento se mostrou eficiente e permitiu diferenciar o gado bravo do manso no auge do estresse (M2) (Tabela 4). Alguns desses animais reconhecidos como muito bravos, vocalizaram mais durante os dois dias de desmama, visitaram menos o cocho, permaneceram em pé e aumentaram a caminhada em círculos, sintomas estes característicos do estresse de desmama, enquanto que alguns bezerros muito mansos tiveram comportamento diferenciado do descrito (ENRIQUES et al., 2011).

O teste de avaliação de estresse por meio do comportamento identificou que o cromo atuou tanto em machos como em fêmeas de forma indiferenciada e que o temperamento bravo

foi idêntico entre os machos e fêmeas não suplementados (Tabela 5) ou quando foi feita uma análise geral, sem influência do tratamento (Tabela 6). Segundo Voisinet et al. (1997), num estudo com bovinos cruzados com gado Brahma identificou-se que as fêmeas são mais indóceis que os machos, fato este não observado no presente experimento e também verificado por Burdick et al. (2011) em gado zebu.

Vários autores são unânimes em citar que a suplementação com cromo em bezerros desmamados diminuí o estresse e a morbidade de broncopneumonias por meio da diminuição da agitação, devidamente comprovado ou pela redução nos teores sanguíneos de cortisol, glicose, proteínas de fase aguda, ou pelo aumento da resposta imune do animal e pela melhora no desempenho produtivo, porém curiosamente nenhum deles empregou em seus trabalhos teste comportamental que indicasse, na prática, a presença de estresse nos animais (CHANG; MOWAT, 1992; MOWAT et al., 1993; WRIGHT et al., 1995; PECHOVA; PAVLATA, 2007; BERNARD et al., 2012; KUMAR et al., 2013). Assim, o presente trabalho avalia, pela primeira vez, e comprova também pelos resultados obtidos pelo escore composto da balança que o cromo interfere positivamente na diminuição do estresse.

O presente trabalho avaliou a concentração sérica de cromo nos animais suplementados ou não no decorrer do experimento (Tabela 7). Esperava-se que a suplementação desse microelemento pudesse incrementar significativamente seus valores séricos, porém não foi o que se verificou na prática. Poucos trabalhos com bovinos avaliaram esses teores no sangue, identificando que os intervalos variam de 57,7 a 1.769 nM, dependendo da quantidade de cromo nos alimentos, sendo que num deles estas eram excessivas e estavam ligadas a quadros de toxidez (SAHIN et al., 1996; PECHOVA; PAVLATA, 2007; TONZA-MARCINIÁK et al., 2011). Os teores de cromo no sangue total são, em média, duas a três vezes maiores que no plasma, devido a maior concentração deste microelemento no interior da hemácia (PECHOVA; PAVLATA, 2007). Os valores encontrados neste trabalho se encontram dentro deste intervalo e nem de longe representam quadros de toxidez (Tabela 7). Trabalho recente indicou que apenas quando se suplementa bezerros com altos teores de cromo na dieta (iguais ou superiores a 4 mg/dia) é que leva a um aumento significativo das concentrações de cromo no soro (KUMAR et al., 2013). No presente trabalho estimou-se que os animais mais pesados, no final do experimento, ingeriram no máximo 2,5 mg de Cr por dia, não interferindo assim na concentração sérica. O presente trabalho identifica, tal qual a revisão de Pechova e Pavlata (2007), que as concentrações no soro não são boas indicadora do status de cromo em bovinos normais.

Muitos estudos em seres humanos, revisados por Pechova e Pavlata (2007), identificaram que as várias formas de estresse provocam aumento na excreção de cromo pela urina na ordem de até 10 vezes mais. Até o momento, nenhum trabalho utilizando ruminantes identificou a maior excreção de cromo urinário em situações de estresse. O presente experimento identificou que no auge do estresse (M2), em relação ao tempo M0, ocorreu em aumento no índice de excreção de cromo urinário na ordem de 380 % até 800 %, nos grupos controle e suplementado, respectivamente (Tabela 8). Por meio dessa variável ainda foi possível detectar que a suplementação dietética com cromo tende a aumentar esse índice ( $P= 0,0791$ ; Tabela 8) em relação ao grupo controle, sugerindo que mesmo nos casos de estresse o animal perde esse microelemento das suas reservas orgânicas, que provavelmente foram maiores no grupo suplementado.

Embora os teores de cromo urinário (Tabela 9), sem a devida correção pela creatinina deste fluido, fossem também superiores no momento M2 e em relação ao M0 existiu uma diferença numérica entre tempos dentro de cada tratamento, (130,5% a 66% para o grupo controle e suplementado, respectivamente) muito inferior em relação ao índice de excreção de cromo urinário (Tabela 8). Tal comparação indica que o índice é mais expressivo em identificar a excreção urinária além de tecnicamente ser mais correta, pois corrige os resultados de forma mais adequada pela creatinina urinária, visto que muito animais sobre o estresse ficam mais desidratados, urinando menos, o que tende a concentrar a urina e mascarar os resultados.

Assim como era esperado, os teores de cortisol sanguíneos (Tabela 10) foram menores dentro do tempo M2 nos bezerros suplementados com cromo que nos controles identificando que o cromo atuou mitigando a secreção excessiva de cortisol gerado durante o estresse, que normalmente provoca transtornos metabólicos nos animais. Os trabalhos mais clássicos estudando a adição de cromo na dieta também constataram os mesmos resultados (CHANG; MOWAT, 1992; MOWAT et al., 1993; YANCHEV, et al., 2008; KUMAR et al., 2013).

Constatou-se ainda que em ambos os grupos os valores de M2 foram menores que os obtidos no M0 (Tabela 10), indicando que a desmama realizada neste experimento promoveu certo estresse, a despeito do uso de cromo na dieta e do emprego de *creep feeding* anterior a desmama. Segundo Enriques et al. (2011), o *creep feeding* prévio a desmama, mesmo quando essa é feita mais tardiamente em relação as práticas usuais ao gado de leite, estimula os bezerros a comerem matéria seca, o que progressivamente reduz a dependência nutricional e social de sua mãe, tornando a desmama um processo menos agressivo.

As concentrações de glicose não foram alteradas pela suplementação com cromo, com exceção no M3, onde os teores no grupo suplementado foi superior ao controle (Tabela 11). O

aumento do teor de glicose nesse momento pode ser explicado por uma elevação de cortisol sanguíneo temporário, contraditório e de difícil explicação que é descrito em bovinos suplementados com cromo, que levaria um aumento na gliconeogênese e/ou uma menor utilização de glicose pelos tecidos periféricos, como observado por Yang et al. (1996) e Yanchev et al. (2008). De fato, quando se examina pontualmente a relação entre concentrações de cortisol e glicose no grupo tratado no M3 constata-se uma correlação positiva ( $r= 0,593$ ) (Figura 7).

O grupo suplementado com cromo teve os seus teores de proteína sérica menores no M1 em relação ao grupo controle, ocorrendo o inverso no M3 (Tabela 12). Como não ocorreu uma correlação favorável ( $r= 0,196$ ) entre albumina e proteína sérica no grupo controle no M1 (Figura 5) e considerando que o teor de proteína sérica nesse momento foi o maior que nos vários tempos estudados neste grupo (Tabela 12), especula-se que esse incremento de proteína tenha surgido da presença de proteínas de fase aguda. Tal hipótese vem do fato que o estresse da desmama gera um aumento imediato no teor de proteínas de fase aguda no sangue, que infelizmente não foram avaliadas neste estudo (WHIGHT et al., 1995; CARROLL et al., 2009).

O grupo suplementado apresentou maior concentração de proteína total que o grupo controle no M3 (Tabela 12) ocorrendo o mesmo fato com a concentração da albumina sérica neste tempo (Tabela 13). Analisando pontualmente a relação dessas variáveis no M3 constatou-se uma correlação positiva entre as mesmas ( $r= 0,611$ ), indicando que o incremento de proteína total neste tempo ocorreu por aumento de albumina, que é um indicador da síntese de proteína no organismo (KANEKO et al., 2008).

Como era esperado e foi encontrado neste experimento o cromo mitigou o estresse em bezerros desmamados. Independente disso, procurou-se comparar o perfil metabólico e hormonal dos animais de acordo com seu temperamento. Conclui-se examinando a tabela 14 que os bravios, no auge do estresse, apresentam teores de glicose e proteína séricos, cortisol sanguíneo, e índice de excreção de cromo urinário mais altos que os categorizados como mansos. Como já foi enfatizado acima na discussão, as variáveis sanguíneas alteradas nos animais bravos já foram classicamente descritas por muitos autores, porém o índice de excreção de cromo em ruminantes não, e o presente trabalho confirma especulações feitas por outros (CHANG et al., 1995; PECHOVA; PAVLAVA, 2007; YANCHEV et al., 2008). As altas correlação positivas entre o cortisol e glicose ( $r= 0,763$ ; Figura 2), cortisol e excreção de cromo urinário ( $r= 0,611$ ; Figura 3) e cortisol sérico e proteínas totais ( $r= 0,829$ ; Figura 4) confirmam a inter-relação entre estas variáveis e a causa: efeito que o grau de estresse influencia nas mesmas.

Na tabela 14 se apresenta também o ganho de peso acumulado a partir da desmama até os próximos 60 dias, comprovando que animais bravios tiveram um desempenho inferior aos mansos, o que reafirma as convicções do grupo da Professora Temple Grandin que bovinos temperamentais têm pior desempenho produtivo que os mansos, e que esta característica apresenta alta herdabilidade (0,37), devendo-se selecionar gado para mansidão (VOISINET et al., 1997; BURDICK et al., 2011).

## 7 CONCLUSÕES

O presente experimento permitiu concluir os seguintes fatos:

- A suplementação com cromo promoveu nos bezerros maior ganho acumulado de peso antes da desmama e no decorrer de todo o experimento, redução do número de animais com estresse e diminuição dos teores de cortisol e proteína séricos durante a desmama.
- O estresse da desmama provocou aumento da excreção de cromo pela urina, comparado com os animais ainda em lactação, sendo esta mais destacada nos animais bravios.
- O desconforto da desmama promoveu nos animais bravios as seguintes alterações, em relação aos mansos: aumento dos teores de cortisol, glicose, proteína total e diminuição no ganho de peso acumulado após a desmama



## REFERÊNCIAS

ANDERSON, R. A. Chromium. In: Mertz, W. **Trace Elements in Human and Animal Nutrition**. New York: Academic Press, v. 1, 1987. p. 225-244.

ANDERSON, R.A. Recent advances in the clinical and biochemical manifestation of chromium deficiency in human and animal nutrition. **Journal of Trace Elements Experimental Medicine**, v. 11, n. 2-3, p. 241-250, 1998.

ANDERSON, R.A.; POLANSKY, M. M.; BRYDEN, N. A.; CANARY, J. J. Supplemental chromium effects on glucose, insulin, glucagons, and urinary chromium losses in subjects consuming controlled low chromium diets. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 54, p. 909-916, 1991.

ARAGÓN, V. E. F.; GRAÇA, D. S.; NORTE, A. L.; SANTIAGO, G. S.; PAULA, O. J. Suplementação com cromo e desempenho reprodutivo de vacas zebu primíparas mantidas a pasto. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, p. 624–628, 2001.

ARTHINGTON, J. L.; CORAH, L. R.; MINTON, J. E.; ELSASSER, T. H.; BLECHA, F. Supplemental dietary chromium does not influence ACTH, cortisol, or immune responses in young calves. **Journal Animal Science**, v. 75, p. 217-223, 1997.

ARTHINGTON, J. D.; SPEARS, J. W.; MILLER, D. C. The effect of early weaning on feedlot performance and measures of stress in beef calves. **Journal of Animal Science**, v. 83; p. 933-939, 2005.

BERNHARD, B. C.; BURDICK, N. C.; ROUNDS, W.; RATHMANN, R. J.; CARROLL, J. A.; FINCK, D. N.; JENNINGS, M. A.; YOUNG, T. R.; JOHNSON, B. J. Chromium supplementation alters the performance and health of feedlot cattle during the receiving period and enhances their metabolic response to a lipopolysaccharide challenge. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 3879-3888, 2012.

BLANCO, M.; VILLALBA, D.; RIPOLL, G.; SAUERWEIN, H.; CASASÚS, I. Effects of pre- weaning concentrate feeding on calf performance, carcass and meat quality of autumn-born bull calves weaned at 90 or 150 days of age. **Animal**, v. 2, p. 779–789, 2008.

BREAZILE, J. E. The physiology of stress and its relationship to mechanisms of disease and therapeutics. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 4, p. 441-478, 1988.

BUNTING, L. D.; FERNANDEZ, J. M.; THOMPSON, D. L.; SOUTHERN, L. L. Influence of chromium picolinate on glucose usage and metabolic criteria in growing Holstein calves. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 1591-1599, 1994.

BURDICK, N. C.; RANDEL, R. D.; CARROL, J. A.; WELSH JR, T. H. Interactions between Temperament, Stress, and Immune Function in Cattle. **International Journal of Zoology**, 2011. Disponível em:< <http://www.hindawi.com/journals/ijz/2011/373197/>>. Acesso em: 22 jan. 2014.

BURTON J. L.; NONNECKE B. J.; ELSASSER T. H.; MALLARD B. A.; YANG W. Z.; MOWAT D. N. Immunomodulatory activity of blood serum from chromium-supplemented periparturient dairy cows. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 49, p. 29–38, 1995.

BURTON, J.L.; MALLARD, B.A.; MOWAT, D.N. Effects of supplemental chromium on immune responses of periparturient and early lactation dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 1532-1539, 1993.

BURTON, J.L.; MALLARD, B.A.; MOWAT, D.N. Effects of supplemental chromium on antibody responses of newly weaned feedlot calves to immunization with infections bovine rhinotracheitis and parainfluenza 3 virus. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 58, p. 148-151, 1994.

BURTON, J.L. Supplemental chromium: its benefits to the bovine immune system. **Animal Feeding Science and Technology**, v. 53, p. 117-133, 1995.

CARROLL, J. A.; ARTHINGTON, J. D.; CHASE, C. C. JR. Early weaning alters the acute phase reaction to an endotoxin challenge in beef calves **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 2009-2016, 2009.

CHANG, X.; MALLARD, B. A.; MOWAT, D. N.; GALLO, G. F. Effect of supplemental chromium on antibody responses of newly arrived feeder calves to vaccines and ovalbumin. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 60, p. 140-144, 1996.

CHANG, X.; MOWAT, D. N. Supplemental chromium for stressed and growing feeder calves. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 559-565, 1992.

CHANG, X.; MOWAT, D.N.; MALLARD, B.A. Supplemental organic and inorganic chromium with niacin for stressed feeder calves. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 132, 1995.

CURLEY JR., K. O.; PASCHAL, J. C.; WELSH, T. H.; RANDEL, R. D. Exit velocity as a measurement of cattle temperament is repeatable and associated with serum concentration of cortisol in Brahman bulls. **Journal of Animal Science**, v. 84, p.3100-3103, 2006.

DANIELSON, D. A.; PEHRSON, B. Effects of chromium supplementation on the growth and carcass quality of bull fed a grain-based diet during the finishing period. **Journal of Veterinary Medicine**, Series A -Pathology and Clinical Medicine, v. 45, p. 219-224, 1998.

DEPEW, C.L.; BUNTING, L. D.; FERNANDEZ, J. M.; THOMPSON JR, D. L.; ADKINSON, R. W. Performance and metabolic responses of young dairy calves fed diets supplemented with chromium tripicolinate. **Journal Dairy Science**, v. 81, n. 11, p. 2916-2923, 1998.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Suplementação de bezerros de corte. Campo Grande - MS.: EMBRAPA, 1995. n. 11. Disponível em:<<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/divulga/gcd11.html>>. Acesso em: 22 jan. 2014.

- ENRIQUEZ, D.; HOTZEL, M.; UNGERFELD, R. Minimising the stress of weaning of beef calves: a review. **Acta Veterinaria Scandinavica**, 2011. Disponível em:<  
<http://www.actavetscand.com/content/pdf/1751-0147-53-28.pdf>>. Acesso em: 22 jan. 2014.
- FALDYNA M.; PECHOVA A.; KREJCI J. Chromium supplementation enhances antibody response to vaccination with tetanus toxoid in cattle. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 50, p. 326–331, 2003.
- FELMING, S.A.; HUNT, E.L.; RIVIERE, J.E.; ANDERSON, K.L. Renal clearance and fractional excretion of electrolytes over four 6-hour periods in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v. 52, p. 5-8, 1991.
- FLUHARTY, F. L.; LOERCH, S. C.; TURNER, T. B.; MOELLER, S. J.; LOWE, G. D. Effects of weaning age and diet on growth and carcass characteristics in steers. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1759–1767, 2000.
- GRANDIN, T. Behavioral agitation during handling of cattle is persistent over time. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 36, p. 1-9, 1993.
- GRASSO, F.; NAPOLITANO, F.; ROSA, G.; MIGLIORI, G.; BORDI, A. Effect of space allowance and chromium supplementation on buffalo. **Zootécnica e Nutrizione Animale**, v. 27, n. 2, p. 55-63, 2001.
- GUDEV, D.; RALCHEVA, S.; YANCHEV, I.; MONEVA, P.; PEEVA, T. Z.; PENCHEV, P.; ILIEVA, I. Effect of weaning on some plasma metabolites in buffalo calves fed diets with or without supplemental chromium picolinate. **Italian Journal of Animal Science**, v. 6, p. 547-550, 2007
- HADDAD, C. M.; MENDES, C. Q. Manejo da estação de monta, das vacas e das crias. In.: PIRES, A. V. **Bovinocultura de Corte**, v.1. Piracicaba - SP: Fealq, 2010. p.129-141.
- HALEY, D. B.; BAILEY, D. W.; STOOKEY, J. M. The effects of weaning beef calves in two stages on their behavior and growth rate. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 2205–2214, 2005.
- HAYIRLI, A.; BREMMER, D. R.; BERTICS, S. J.; SOCHA, M. T.; GRUMMER R. R. Effects of chromium supplementation on production and metabolic parameters in per parturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 5, p. 1218-1230, 2001.
- HUNT, C. D.; STOECKER, B. J. Deliberations and evaluations of the approaches, endpoints and paradigms for boron, chromium and fluoride dietary recomme. **Journal of Nutrition**, v. 126, p. 2441-2451, 1996. **International Journal of Zoology**, 2011. Disponível em:<  
<http://www.hindawi.com/journals/ijz/2011/373197/>>. Acesso em: 20 jan. 2014.
- JEEJEBHOY, K. N.; CHU, R. C.; MARLISS, E. B.; GREENBERG, G. R.; BRUCE-ROBERTSON, A. Chromium deficiency, glucose intolerance and neuropathy reversed by chromium supplementation in a patient receiving longterm total parenteral nutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 30, p. 531–538, 1977.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 6th ed. San Diego: Elsevier, 2008.

KEGLEY, E. B., SPEARS, J. W.; BROWN JR, T. T. Effect of shipping and chromium supplementation on performance immune response and disease resistance of steers. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 1956-1964, 1997a.

KEGLEY, E. B., SPEARS, J. W.; EISEMANN, J. H. Performance and glucose metabolism in calves fed a chromium-nicotinic acid complex or chromium chloride. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p.1744-1750, 1997b.

KEGLEY, E. B.; SPEARS, J. W. Immune response, glucose metabolism and performance of stresses feeder calves fed inorganic or organic chromium. **Journal of Animal Science**, v. 73, p.2721-2726, 1995.

KEGLEY, E.B.; SPEARS, J.W. Chromium and cattle nutrition. **Journal of Trace Elements in Experimental Medicine**, v. 12, n. 2, p. 141-147, 1999.

KUMAR, M.; KAURM, H.; TYAGI, A. K.; KEWALRAMANI, N. J.; MANI, V.; DEKA, R. S.; SHARMA, V. K.; CHANDRA, G.; DANG, A. K. Effect of feeding inorganic chromium on growth performance, endocrine variables, and energy metabolites in winter-exposed buffalo calves (*Bubalus bubalis*). **Biological Trace Element Research**, 2013. Disponível em:< <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12011-013-9808-3>>. Acesso em: 22 jan. 2014.

LAY, D. C. JR.; FRIEND, T. H.; RANDEL, R. D.; BOWERS, C. L.; GRISSOM, K. K.; NEUENDORFF, D. A.; JENKINS, O. C. Effects of restricted nursing on physiological and behavioral reactions of Brahman calves to subsequent restraint and weaning. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 56, p. 109–119, 1998.

LEE, P. C.; MAJLUF, P.; GORDON, I. J. Growth, weaning and maternal investment from a comparative perspective. **Journal of Zoology**, v. 225, p. 99–114, 1991.

LITTLE, T. M.; HILLS, F. J. **Agricultural experimentation: design and analysis**. New York: John Wiley, 1978. 350 p.

LOBERG, J. M.; HERNANDEZ, C. E.; THIERFELDER, T.; JENSEN, M. B.; BERG, C.; LIDFORS, L. Weaning and separation in two steps - A way to decrease stress in dairy calves suckled by foster cows. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 111, p. 222–234, 2008.

LOERCH, S. C.; FLUHARTY, F. L. Physiological changes and digestive capabilities of newly received feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 1113-1119, 1999.

LYNCH, E. M.; EARLEY, B.; MCGEE, M.; DOYLE, S. Effect of abrupt weaning at housing on leukocyte distribution, functional activity of neutrophils, and acute phase protein response of beef calves. **BMC Veterinary Research**, p. 6–39, 2010.

McDOWELL, L.R. **Minerals in animal and human nutrition**. London: Academic Press, 1992.

MERTZ, W. Chromium in human nutrition: a review. **Journal of Nutrition**, v. 123, p. 626-633, 1993.

MINITAB. **The student edition of MINITAB statistical software adapted for education: 13.0 release; user's manual**. New York: Wesley, 2000. 624 p.

MONTEMOR, C. H.; MARÇAL, W. S. Desempenho de bovinos da raça nelore suplementados com cromo orgânico. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, p. 701-708, 2009.

MOONSIE - SHAGEER, S.; MOWAT, D. N. Effect of level of supplemental chromium on performance serum constituents, and immune of stressed feeder calves. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 232-238, 1993.

MORAES, S. S. **Elementos minerais quelatados em suprimentos para bovinos de corte**. EMBRAPA Gado de Leite, n. 3, 2000. 62 p.

MOREIRA, P. S. A.; BERBER, R. C. A.; LOURENÇO, F. J.; PINA, D. S.; ROSA, J. R. P.; MOREIRA, C. D. A. Atividade reprodutiva e desempenho produtivo de novilhas nelore taurino submetidas a suplementação com cromo orgânico. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 2, p. 491-499, 2011.

MOWAT, D. N. Supplemental organic chromium reviewed for cattle. **Feedstuffs**, v. 6, n. 43, p. 12-19, 1997.

MOWAT, D. N.; CHANG, X.; YANG, W. Z. Chelated chromium for stressed feeder calves. **Canadian Journal of Animal Science**, v.73, p. 49-55, 1993.

NEWBERRY, R. C.; SWANSON, J. C. Implications of breaking mother-young social bonds. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 110, p. 3-23, 2008.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of beef cattle: Minerals**. 7. ed. Washington: National Academic Press, 1996. 577 p.

OLIVEIRA, R. L.; BARBOSA, M. A. A. F.; LADEIRA, M. M.; SILVA, M. M. P.; ZIVIANI, A. C.; BAGALDO, A. R. Nutrição e manejo de bovinos de corte na fase de cria. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 7, n. 1, p. 57-86, 2006.

PECHOVA, A.; PAVLATA, L. Chromium as an essential nutrient: A review. **Veterinarni Medicina**, v. 52, n. 1, p. 1-18, 2007.

PRICE, E. O.; HARRIS, J. E.; BORGWARDT, R. E.; SWEEN, M. L.; CONNOR, J. M. Fenceline contact of beef calves with their dams at weaning reduces the negative effects of separation on behavior and growth rate. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 116-121, 2003.

ROGINSKI, E. E.; W. MERTZ. Effects of chromium III supplementation on glucose and amino acid metabolism in rats fed a low protein diet. **Journal of Nutrition**, p. 497:525, 1969.

SAHIN, K.; SHAIN, N.; GULER, T.; CERCIM, I. H.; ERKAL, N. Effect of chromium on animals grazing around the elazig ferrokrom factory. **Saglik-Bilimleri-Dergisi**, v. 10, p. 259-263, 1996.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 2. ed. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 265 p.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**. Cary: SAS Institute, 2000. 956 p.

SCHWARZ, K.; MERTZ, W. Chromium (III) and the glucose tolerance factor. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 85, p. 292-295, 1959.

SIEGEL, S. **Estatística não-paramétrica**. São Paulo: McGraw-Hill, 1975. 350 p.

SILVEIRA, I. D. B.; FISCHER, V.; WIEGAND, M. M. Temperamento em bovinos de corte: Métodos de medida em diferentes sistemas produtivos. **Archivos de Zootecnia**, v. 57, p. 321-332, 2008.

SOARES, P. C. **Efeitos da intoxicação cúprica e do tratamento com tetratiomolibdato sobre a função renal e o metabolismo oxidativo de ovinos**. 2004. 117 f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2004.

TOMZA-MARCINIAK, A.; PILARCZYK, B.; BAKAWSKA, M.; PILARCZYK, R.; WOJCIK, J. Heavy metals and other elements in serum of cattle from organic and conventional farms. **Biological Trace Element Research**, v. 143, p. 863-870, 2011.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3. ed. Wallingford: Cabi Publishing, 1999. 614 p.

UNGERFELD, R.; HOTZEL, M. J.; SCARSI, A.; QUINTANS, G. Behavioral and physiological changes in early weaned multiparous and primiparous beef cows. **Animal**, v. 5, p. 1270–1275, 2011.

VALLE, E. R.; ANDREOTTI, R.; THIAGO, L. R. S. **Estratégias para aumento da eficiência reprodutiva e produtiva em bovinos de corte**. Campo Grande: Embrapa / CNPDC, 1998. (Documentos, 71).

VÁSQUEZ, E. F. A.; HERRERA, A. P. N. Concentração plasmática de cortisol, uréia, cálcio e fósforo em vacas de corte mantidas a pasto suplementadas com levedura de cromo durante a estação de monta. **Ciência Rural**, v. 33, n. 4, p. 743-747, 2003.

VEISSIER, I. L. E.; NEINDRE, P. Weaning in calves: Its effects on social organization. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 24, p. 43–54, 1989.

VOISINET, B. D.; GRANDI, T.; TATUM, J. D.; O'CONNOR, S. F.; STRUTHERS, J. J. Feedlot cattle with calm temperaments have higher average daily gains than cattle with excitable temperaments. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 892–896, 1997.

WATTS, J. M.; STOOKEY, J. M. Vocal behaviour in cattle: The animal's commentary on its biological processes and welfare. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 67, p. 15–33, 2000.

WEARY, D. M.; FRASER, D. Signalling need: costly signals and animal welfare assessment. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 44, p. 159-169, 1995.

WEARY, D. M.; JASPER, J.; HOTZEL, M. J. Understanding weaning distress. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 110, p. 24–41, 2008.

WRIGHT, A. J.; MALLARD, B. A.; MOWAT, D. N. The Influence of Supplemental Chromium and Vaccines on the Acute Phase Response of Newly Arrived Feeder Calves. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 59, p. 311-315, 1995.

YANCHEV, I.; MONEVA, P.; GUDEV, D.; POPOVA-RALCHEVA, S. PEEVA, T; PENCHEV, P.; ILIEVA, I. Effect of weaning on some plasma metabolites in black-and-white calves fed diets with or without supplemental chromium picolinate. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 154, p. 329-334, 2008.

YANG, W. Z.; MOWAT, D. N.; SUBIYATNO, A.; LIPTRAP, R. M. Effect of chromium supplementation on early-lactation Holstein cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 76, p. 221-1996.

ZANETTI, M. A.; SALLES, M. S. V.; BRISOLA, M. L.; CÉSAR, M. C. Desempenho e resposta metabólica de bezerros recebendo dietas suplementadas com cromo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 1532-1535, 2003.