UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JANAÍNA SILVEIRA DA SILVA

**Avaliação da suplementação parenteral de cobre e zinco em vacas
e bezerros Nelore**

Pirassununga
2015

JANAÍNA SILVEIRA DA SILVA

**Avaliação da suplementação parenteral de cobre e zinco em vacas
e bezerros Nelore
“Versão corrigida”**

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador:

Prof. Dr. Marcus Antonio Zanetti

Pirassununga
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo

Silva, Janaína Silveira da

S586a   Avaliação da suplementação parenteral de cobre e
zinco em vacas e bezerros Nelore / Janaína Silveira
da Silva.-- Pirassununga, 2015.

70 f.

Dissertação (Mestrado)-- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.

Departamento de Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Antonio Zanetti.

1. Atividade fagocitária 2. Gado de corte
3. Imunoglobulinas 4. Minerais. I.Título.

DEDICATÓRIA

À minha família:

*Mamãe **Soloni**, papai **Antônio**, minha irmã **Talita** e minha afilhada **Vitória**,
Por todo amor, apoio, incentivo, compreensão e confiança;*

Ao meu namorado:

***Murilo Trettel**,
Por todo o seu amor, carinho, conselhos, paciência e proteção;*

Aos meus avós:

***Olívia e Omar** (in memorian),
Minha imensa gratidão.*

AGRADECIMENTOS

À Deus por esta sempre presente na minha vida, iluminando e guiando meus caminhos.

A Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao Prof. Dr. Marcus Antonio Zanetti por sua orientação, ensinamentos e por ser uma inspiração devido a sua competência e dedicação à FZEA.

À minha família, tios, primos e amigos pela torcida e estímulo.

À minha amiga Quel pelo incentivo em realizar o mestrado e todo o apoio, compreensão e amizade durante a realização deste.

À Day por suas broncas, conselhos, amizade e momentos agradáveis com a sua família.

Aos funcionários da Bovinocultura de Corte (Ismael, Ricardo, Paulinho, Valdir e Macarrão) pela competência e grande ajuda na execução deste projeto.

Ao Cunha e a Roberta, pelo apoio na análise de minerais.

Às amigas Carol, Dani, Lisia, Renata e Susana pela colaboração nas análises.

Ao pessoal do CEBER e demais companheiros da pós-graduação pelos momentos de descontração.

A professora Catarina Abdalla Gomide, por disponibilizar equipamentos e o laboratório para realizar algumas das análises, e também a Rosilda, Roseli e ao Rafael pela assistência e boa vontade no laboratório.

Ao Rodrigo, Daniela e o Milton pela ajuda, apoio e disponibilidade em algumas análises.

A professora Rachel Santos Bueno pela paciência e disponibilidade em me ensinar e ajudar com as análises estatísticas.

RESUMO

SILVA, J. S. **Avaliação da suplementação parenteral de cobre e zinco em vacas e bezerros Nelore**. 2015. 75f. Dissertação – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

O presente estudo avaliou o efeito da suplementação mineral injetável de cobre (Cu) e zinco (Zn) sobre a resposta imunológica e o desempenho de bovinos de corte a pasto, foram avaliadas vacas no período pré-parto (experimento I) e seus bezerros até pós desmama (experimento II). O experimento foi realizado na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, Campus de Pirassununga-SP. No experimento I, foram avaliadas sessenta vacas prenhas por inseminação, distribuídas aleatoriamente em delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos (T e S). No tratamento testemunha (T), as vacas receberam soro fisiológico como placebo, e no tratamento suplementado (S) receberam mineral injetável via subcutânea (75 mg de cobre e 250 mg de zinco), com aproximadamente 75 dias antes do parto. Foram avaliados os teores de Cu e Zn séricos, IgG e IgM, ceruloplasmina e a atividade fagocitária. Os dados experimentais foram analisados utilizando-se o PROC MIXED do SAS (SAS, 2009), com o nível de significância de 5% para interpretação estatística de todos os testes. Os teores de cobre, zinco, IgM, IgG, ceruloplasmina e a atividade fagocitária das vacas não apresentaram diferença ($p>0,05$) entre os tratamentos. Da mesma forma, não houve influência ($p>0,05$) das vacas nos teores de Cu e Zn séricos, na resposta imunológica e no desempenho dos bezerros aos 70 dias de idade (primeira coleta de sangue). O fornecimento de Cu e Zn injetável aos 75 dias antes do parto não alterou os teores de zinco, cobre e ceruloplasmina sérica, bem como a resposta imunológica até 30 dias após o parto. Como não houve diferença significativa entre as mães, foi considerado que os bezerros eram provenientes de vacas homogêneas. Assim, no experimento II, cinquenta e quatro bezerros filhos destas vacas, foram distribuídos aleatoriamente em delineamento inteiramente casualizado em 2 tratamentos: **(T)** - bezerros não suplementados, que receberam soro fisiológico como placebo; **(S)** - bezerros suplementados com cobre (15 mg aos 70 dias, 45 mg aos 140 dias e 60 mg aos 210 dias) e zinco (50 mg aos 70 dias, 150 mg aos 140 dias e 200 mg aos 210 dias). Foram realizadas colheitas de sangue com aproximadamente 70, 140, 170, 210 e 240 dias de idade, para avaliação dos teores de Cu e Zn sérico, ceruloplasmina, IgG

e IgM e a atividade fagocitária. A suplementação parenteral de Cu e Zn aos 70, 140 e 210 dias não alteraram ($p>0,05$) os teores de Cu e Zn séricos, a resposta imunológica, o desempenho, a atividade da enzima superóxido dismutase e a atividade fagocitária de bezerros Nelore. A falta de resposta ao suplemento mineral injetável deveu-se possivelmente ao fato dos bezerros já estarem recebendo as quantidades adequadas de cobre e de zinco nas suas dietas.

Palavras-chave: atividade fagocitária, gado de corte, imunoglobulinas, minerais.

ABSTRAT

SILVA, J. S. **Evaluation of copper and zinc parental supplementation on Nelore cows and calves.** 2015. 75f. Dissertação – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

This study evaluated the effect of injectable Cu and Zn on the immune response and performance of beef cattle on pasture, cows were evaluated in the antepartum period (experiment I) and their calves to post weaning (experiment II). The experiment was performed at the Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Campus Pirassununga. In experiment I, sixty pregnant Nelore cows by insemination were divided in a completely randomized design in two treatments. In the control treatment (T), the 30 cows received saline as placebo, the supplemented (S) received mineral injection subcutaneously (75 mg of copper and 250 mg of zinc), 75 days prior to parturition, when also received clostridiosis vaccine. It were evaluated the serum levels of Cu and Zn, IgG, and IgM, ceruloplasmin, SOD and phagocytic activity. Experimental data were analyzed using PROC MIXED of SAS (SAS, 2009), with 5% significance level for statistical interpretation of all tests. The levels of copper, zinc, IgM, IgG, ceruloplasmin and the phagocytic activity of the cows had no statistical difference ($p>0.05$) between treatments. Similarly, there wasn't influence ($p>0.05$) of cows for Cu and Zn serum, immune response and performance of calves at 70 days of age (first blood sample). The supply of Cu and Zn injection at 75 days before delivery did not change the levels of zinc, copper and serum ceruloplasmin and the immune response 30 days after delivery. Since there was no significant difference between the mothers, it was considered that the calves were from homogeneous cows. In experiment II, fifty four calves born from these cows were distributed completely randomized design with 2 treatments: **(T)** – calves not supplemented that receive solution saline as placebo and **(S)** – calves supplemented with injectable mineral applied subcutaneously containing copper (15 mg at 70 days, 45 mg at 140 days and 60 mg at 210 days) and zinc (50 mg at 70 days, 150 mg at 140 days and 200 mg at 210 days). Blood samples were realized with approximately 70, 140, 170, 210 and 240 days of age. Were assessed levels of serum Cu and Zn, ceruloplasmin, IgG and IgM and the phagocytic activity. Parenteral supplementation of Cu and Zn at 70, 140 and 210 days didn't alter ($p>0.05$) the contents of Cu and Zn serum, the immune response, performance, activity of superoxide dismutase and the phagocytic activity of Nelore calves. The lack of

response to injectable mineral supplement possibly was due to the fact that the calves were already taking adequate amounts of copper and zinc in their diets.

Key-words: beef cattle, immunoglobulins, minerals, phagocytic activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Médias mensais de temperatura (°C) e precipitação (mm).....	32
Figura 2. Vacada utilizada no experimento	33
Figura 3. Tubos de sangue centrifugados e análise de Cu e Zn por Espectrometria de Absorção Atômica.....	35
Figura 4. Análise da Atividade fagocitária em Citômetro de fluxo (FSC Canto I) da Unesp de Araraquara-SP.....	36
Figura 5. Médias mensais de temperatura (°C) e precipitação (mm) durante o período experimental.	52
Figura 6. Pesagem do bezerro ao nascimento.....	54
Figura 7. Manejo dos bezerros ao nascimento.....	55
Figura 8. Identificação dos bezerros e tratamentos por brincos	55
Figura 9. Manejo de Desmama dos bezerros aos 210 dias de idade	56
Figura 10. Análise da atividade da SOD em analisador bioquímico automático	58
Figura 11. Peso médio (kg) dos bezerros dos 140 aos 270 dias de idade, em função dos diferentes tratamentos (T = bezerros testemunhas; S = bezerros suplementados).....	61
Figura 12. Ganho de peso médio (kg/dia) dos bezerros dos 140 aos 300 dias de idade, em função dos diferentes tratamentos (T = bezerros testemunhas; S = bezerros suplementados).	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição centesimal do suplemento proteinado na matéria seca	34
Tabela 2. Níveis de garantia do núcleo mineral	34
Tabela 3. Médias e erros padrões das concentrações séricas ($\mu\text{g/mL}$) de cobre (Cu) e zinco (Zn) das vacas suplementadas (S) e testemunhas (T).....	37
Tabela 4. Médias e erros padrões das concentrações séricas de Ceruloplasmina (U/L) de vacas suplementadas (S) e testemunhas (T) nos diferentes períodos.	39
Tabela 5. Médias e erros padrões dos teores séricos (mg/dL) de imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM) das vacas suplementadas (S) e testemunhas (T).	40
Tabela 6. Médias e erros padrões da atividade fagocitária (%), aos 30 dias pós parto, de vacas suplementadas e testemunhas.	41
Tabela 7. Níveis de garantia do suplemento mineral	56
Tabela 8. Composição centesimal do suplemento energético, na matéria seca.....	57
Tabela 9. Médias e erros padrões das concentrações séricas de cobre e zinco ($\mu\text{g/mL}$) dos bezerros suplementados (S) e testemunhas (T) nos diferentes períodos.....	60
Tabela 10. Médias e erros padrões (EP) dos teores séricos (mg/dL) de imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM) dos bezerros suplementados (S) e testemunhas (T).....	63
Tabela 11. Médias e erros padrões da atividade da enzima superóxido dismutase (U/g Hb) dos bezerros suplementados (S) e testemunhas (T) nos diferentes períodos.....	64
Tabela 12. Médias e erros padrões da atividade fagocitária (%) dos bezerros suplementados (S) e testemunhas (T) nos diferentes períodos.	65

SUMÁRIO

CAPITULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	14
1.1INTRODUÇÃO	14
1.2 REVISÃO DE LITERATURA	16
1.2.1 Cobre, importância e funções.....	16
1.2.2 Metabolismo do cobre	17
1.2.3 Zinco, importância e funções.....	18
1.2.4 Metabolismo do zinco.....	19
1.2.5 Influências do cobre e do zinco no sistema imunológico.....	19
1.2.6 Cobre e Zinco nas Pastagens	21
1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CAPITULO 2. SUPLEMENTAÇÃO PARENTERAL DE COBRE E ZINCO	
PARA VACAS NELORE NO PERIODO PRÉ-PARTO	28
2.1 INTRODUÇÃO	30
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	32
2.2.1 Animais e Tratamentos.....	32
2.2.2 Procedimento Experimental	33
2.2.3 Procedimento Analítico.....	34
2.2.4 Delineamento Experimental	36
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
2.3.1 Cobre e Zinco séricos.....	37
2.3.2 Ceruloplasmina	39
2.3.3. Imunoglobulinas G e M.....	40
2.3.4. Atividade fagocitária	41
2.4 CONCLUSÃO.....	43
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
CAPITULO 3. SUPLEMENTAÇÃO PARENTERAL DE COBRE E ZINCO	
PARA BEZERROS NELORE DO NASCIMENTO A DESMAMA	49
3.1 INTRODUÇÃO	51
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	52
3.2.1 Animais e Tratamentos.....	52
3.2.2 Procedimento Experimental	53

3.2.3 Procedimento Analítico.....	57
3.2.4 Delineamento Experimental	59
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
3.3.1 Cu e Zn séricos	60
3.3.2 Desempenho	61
3.3.3 Imunoglobulinas	63
3.3.4 Superóxido Dismutase	64
3.3.5 Atividade Fagocitária	65
3.4 CONCLUSÃO.....	67
3.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

CAPITULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

O Brasil detém o segundo maior rebanho mundial de bovinos, com mais de 211 milhões de cabeças (IBGE, 2014). Em 2013, o país exportou 1.940 milhões de toneladas de equivalente carcaça bovina, ocupando a segunda posição no *ranking* mundial de exportações, com previsão de 8% de aumento em 2014 (USDA, 2014). Apesar disso, a bovinocultura de corte do Brasil possui baixos índices de zootécnicos de eficiência, comparados aos países concorrentes.

O desempenho reprodutivo do rebanho de cria é consequência da nutrição, sendo que a suplementação mineral inadequada ou a falta dela implicam em perda acentuada de peso e de condição corporal antes e após o parto, além de reduzir substancialmente o peso dos bezerros a desmama (VALLE et al., 1998). O período pré e pós-parto é uma fase crítica, com aumento da exigência nutricional, portanto, a nutrição adequada neste período é essencial para saúde e desempenho reprodutivo da vaca, além de garantir a nutrição necessária do feto.

A deficiência de Cu em certas áreas causa um declínio nos níveis hepáticos fetais após seis meses de gestação e o feto não atinge as necessidades do período pós-natal. A nutrição materna adequada é essencial para o desenvolvimento, saúde e crescimento pós-natal (SMART et al., 1983).

O estresse da desmama também é um ponto crítico da produção animal, podendo comprometer o sistema imune dos bezerros e atrasar o seu desenvolvimento. Uma análise do desempenho reprodutivo em sistemas de produção de gado de corte mostrou que a mortalidade de bezerros, do nascimento a desmama, representou 53,7% da mortalidade geral ocorrida no rebanho, sendo a categoria de maiores perdas por morte (CORRÊA et al., 2001).

Tokarnia et al. (1999) e Nicodemo et al. (2008), indicaram deficiência de Cu e Zn em pastagens no Brasil. Geralmente, as forragens são pobres em micronutrientes essenciais, portanto, é necessário o fornecimento adicional de minerais na dieta para garantir a produtividade animal.

Geralmente, a suplementação para bovinos criados a pasto é feita com misturas minerais em cochos, o que pode ocasionar consumo incerto e irregular, por nem sempre ter um manejo correto de abastecimento, por não se localizar em áreas

estratégicas, pelo fato dos cochos não serem cobertos ou ainda pelo dimensionamento incorreto. Além disso, os níveis e as proporções dos nutrientes na dieta podem interferir na biodisponibilidade dos minerais, alterando as quantidades necessárias para atender as exigências do animal.

Vários fatores podem alterar a absorção de íons minerais, entre eles, níveis de elementos ingeridos, idade, raça, sexo, estado fisiológico do animal, pH intestinal, condições ambientais, presença de antagonistas minerais ou outros nutrientes (CARVALHO; BARBOSA; McDOWELL, 2003).

O suprimento de minerais por meio de injeções assegura que todos os animais receberam as quantidades desejadas e contorna problemas de interações indesejáveis na dieta. Assim, em países como a Argentina, a principal via de suplementação de alguns minerais, principalmente o cobre, é a via parenteral (MINATEL et al., 1998).

Para animais adultos criados intensivamente a administração de minerais injetáveis no Brasil só tem sido feita em casos de deficiência muito grave, caso contrário, a suplementação é feita utilizando a mistura mineral completa “ad libitum”. Já para bezerros logo depois do parto, quando muitas vezes as exigências são altas em virtude da própria condição da mãe, a suplementação via mistura mineral não é efetiva devido às doses e principalmente à baixa ingestão da mistura. Neste caso a suplementação injetável é altamente recomendável, ressaltando a importância e a necessidade de mais estudos sobre o tema.

Algumas pesquisas relataram as vantagens da administração parenteral de minerais com benefícios na eficiência alimentar (CLARK et al., 2006); redução de mortalidade e dos tratamentos para doença (BERRY et al., 2000; RICHESON e KEGLEY, 2011), melhor resposta imune humoral (ARTHINGTON; HAVENGA, 2012).

O Cu e o Zn são elementos considerados essenciais para o bom funcionamento do sistema imunológico e das funções reprodutivas dos bovinos. O fornecimento de minerais injetáveis, pronto uso, pode atender às exigências dos animais e ainda minimizar o efeito prejudicial do estresse e melhorar a resposta à vacinação. Assim, faz-se necessário a avaliação do efeito da suplementação de Cu e Zn para compreender melhor o efeito destes minerais não só no desempenho animal como também na resposta imunológica humoral e celular.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 Cobre, importância e funções

O cobre (Cu) é um microelemento essencial das mais diversas funções biológicas e apresenta um metabolismo complexo, fundamental para os animais. Hart et al. (1928), foram os primeiros a demonstrarem a importância do Cu nos processos biológicos, relacionando-o à síntese de hemoglobina, sendo necessário para recuperação de anemia em ratos. Em 1931, ocorreu a demonstração da essencialidade do cobre para bovinos que apresentaram deficiência clínica na Flórida (McDOWELL, 1992).

Cerca de 90% do cobre no plasma encontra-se sob a forma de metaloproteínas, como a ceruloplasmina, que é responsável pelo transporte do Cu do fígado para os órgãos alvos (McDOWELL, 1992).

O fígado é o principal órgão de armazenamento do cobre, cuja concentração reflete a quantidade de cobre ingerido. Entretanto, a distribuição do Cu entre os tecidos do organismo varia com a espécie, estado nutricional do animal, idade, disponibilidade do cobre na dieta e também da variação individual dentro da mesma espécie.

De acordo com Xin et al. (1993), vacas em período de transição podem ter uma redução da capacidade de retenção mineral. Estes pesquisadores observaram diferença entre o fornecimento de 5 e 10 ppm de cobre para vacas em gestação quanto ao declínio de Cu no fígado, durante um período de oito semanas antes do parto. Entretanto, não houve diferença nos teores de Cu no plasma entre os tratamentos nos diferentes tempos, possivelmente devido os teores de Cu no fígado estar acima do limiar de deficiência.

Quando a reserva de Cu no fígado é superior a 30 mg/Kg, a concentração de cobre e a atividade da ceruloplasmina no plasma podem não apresentar alterações, devido a liberação de Cu hepático (MILLS, 1987). A ausência ou presença de antagonistas, a duração da suplementação, a concentração de Cu no suplemento, fatores ambientais e diferenças raciais são fatores que afetam a resposta animal à suplementação de cobre (ENGLE, 2001).

O cobre desempenha diversas funções metabólicas no organismo animal, é componente de varias enzimas como a citocromo oxidase, lisil oxidase, superóxido

dismutase, ceruloplasmina, dopamina β -hidroxilase, peptidiglicina α -monooxidase e tirosinase (UNDERWOOD e SUTTLE, 2010).

A citocromo oxidase é necessária no transporte de elétrons durante a respiração celular, realizando a redução de oxigênio em água. A lisil oxidase catalisa a produção de colágeno e de elastina. A superóxido dismutase protege as células dos efeitos dos radicais livres provenientes do metabolismo do oxigênio. A ceruloplasmina é fundamental na absorção e transporte do ferro necessário para a síntese da hemoglobina. A tirosinase participa da conversão de tirosina para melanina, demonstrando que o cobre também está envolvido na pigmentação. O cobre também é necessário para queratinização, atuando na formação e incorporação dos grupos dissulfeto durante a síntese de queratina (McDOWELL, 1992).

A deficiência de cobre pode afetar o sistema imune, prejudicando as células T e B, os neutrófilos e macrófagos, resultando em um decréscimo das células produtoras de anticorpos (McDOWELL, 1999). Além de influenciar no nível de vitaminas como A e E, e nos hormônios da tireóide (T3 e T4) (SHARMA et al., 2003).

1.2.2 Metabolismo do cobre

A absorção do cobre da dieta pelos ruminantes é de apenas 1 a 3%, sendo que a absorção intestinal é regulada pela metalotioneína na célula epitelial, de acordo com a necessidade do organismo (McDOWELL, 2003).

Diversos fatores podem influenciar a eficiência de absorção do cobre, segundo Spears (2003), antes do completo desenvolvimento do rúmen, a absorção é de 70 a 85%, entretanto, após o desmame a absorção reduz para até o máximo de 10%. Suttle (1975) trabalhando com ovinos, verificou uma absorção de 47% do Cu da dieta na fase de aleitamento contra 8-10% após o desmame.

Além disso, a disponibilidade de Cu é menor para ruminantes do que monogástricos, devido à formação de compostos insolúveis na presença de antagonistas. Dietas com alto teor de molibdênio e ou enxofre, resulta na formação de tiomolibdatos de Cu no rúmen, reduzindo a disponibilidade do Cu (SPEARS, 2003).

O NRC (1996) recomenda 10 mg/kg de Cu, em base de matéria seca, como nível nutricional adequado para gado de corte em todas as categorias. E a concentração máxima tolerável de Cu é de 40 mg/kg de MS (NRC, 2005).

Entretanto, Andriguetto et al.(1999) citou 100 mg Cu/kg de ração como concentração máxima tolerável de cobre no organismo de bovinos.

Teores no sangue inferiores a 0,5 mg/L de Cu são indicativos de deficiências (UNDERWOOD, 1969). McDowell (1999) considerou valores normais acima de 0,65 mg/L de Cu, já Fick (1979) considerou teores séricos normais valores entre 0,7 a 1,4 mg/L de Cu.

1.2.3 Zinco, importância e funções

O primeiro relato da importância do zinco ocorreu em 1869, quando Raulin (1869) percebeu que o crescimento de fungos *Aspergillus Níger* era muito dependente do zinco. Apenas em 1939 Keilin e Mann (1940), estabeleceram o primeiro papel bioquímico de zinco reconhecendo-o como componente integrante da enzima anidrase carbônica.

Desde então, foram descobertas diversas funções importantes, segundo Coleman (1992), o zinco é um co-factor para mais de 300 enzimas, que estão envolvidas na proliferação de células, na replicação do DNA e no sistema de transdução de sinais.

É um cátion bivalente, de número atômico 30, que desempenha funções catalíticas, estruturais e de regulação (McDOWELL, 2003). Em bovinos a deficiência de Zn se manifesta pela diminuição do crescimento e da eficiência alimentar, redução do consumo de alimentos, alterações cutâneas (dermatite), queda dos pêlos, diminuição da produção de leite e da fertilidade (ANDRIGUETTO et al., 1999). Também poder afetar a reprodução, o sistema imunológico e a expressão do gene em ruminantes (UNDERWOOD E SUTTLE, 2010).

O Zn também participa da pigmentação dos tecidos, manutenção da integridade pele, ossos e olhos, além de atividade catalisadora em uma série de enzimas (aldolase, enolase, fostafase, calatase dos rins, uricase e algumas peptidases) (ANDRIGUETTO et al., 1999). Desempenha um papel na produção, armazenamento e secreção de hormônios individuais (insulina, testosterona e adrenocorticóides), bem como na efetividade dos sítios receptores e na resposta dos órgãos alvos. Além de envolvido na espermatogênese, no desenvolvimento dos caracteres sexuais primários e secundários dos machos e em todas fases do processo reprodutivo das fêmeas (McDOWELL, 1999).

1.2.4 Metabolismo do zinco

O Zn está distribuído e estocado em diversos tecidos, sendo que a enzima metalotioneína representa a maior reserva de zinco no organismo animal, e está presente em altas concentrações no fígado, rins, pâncreas e intestino (McDOWELL, 2003).

A absorção de Zn ocorre principalmente no intestino delgado (duodeno) e é regulada pela necessidade do organismo. Alguns elementos como o magnésio, fosfatos e vitamina D, podem favorecer a absorção e o metabolismo pode ser afetado por interações com o cádmio, cálcio, cobre, ferro, manganês e selênio (ANDRIGUETTO et al., 1999).

O NRC (1996) recomenda 30 mg/kg de Zn, em base de matéria seca, como nível nutricional adequado para gado de corte em todas as categorias. Já a recomendação segundo McDowell (1999), é de 20 a 40 mg/kg de Zn na dieta total diária. A concentração máxima tolerável é muito superior ao nível recomendado, sendo de 500 mg/kg de matéria seca da dieta (NRC, 2005).

Segundo Underwood (1969), teores no sangue inferiores 0,4 mg/L de Zn são indicativos de deficiências. Para Fick (1979) teor sérico entre 0,5 a 1,2 mg/L de Zn são considerados normais para bovinos, já McDowell (1999) considera valores acima de 0,8 mg/L de Zn.

1.2.5 Influências do cobre e do zinco no sistema imunológico

O sistema imune necessita de um nível nutricional adequado de proteína, energia, minerais e vitaminas, sendo que alguns minerais se destacam em seus atributos funcionais ligados às defesas dos animais. São eles: Selênio, Zinco, Cobre e Manganês (CARVALHO; BARBOSA; MCDOWELL, 2003).

Em ruminantes, a placenta é do tipo sindesmocorial, o epitélio coriônico fica em contato direto com os tecidos uterinos, impossibilitando a passagem transplacentária total de moléculas de imunoglobulinas (Ig) (TIZARD, 2008), assim, a imunidade passiva em neonatos ocorre pela ingestão, imediatamente após o nascimento, e subsequente absorção de Ig (BUSH; STALEY, 1980).

Os bovinos possuem quatro classes de imunoglobulinas: a IgG, IgM, IgA e IgE. A IgG é a imunoglobulina encontrada em maior quantidade no sangue e por isso é a principal imunoglobulina responsável pela defesa humoral. Já a IgM corresponde com menos de 10% das imunoglobulinas séricas, embora produzida

em pequena escala é considerada a principal imunoglobulina da resposta imune primária e é mais eficaz que a IgG para ativação do complemento e neutralização de vírus (TIZARD, 2008).

O cobre e o zinco participam ativamente do sistema imune, através da metaloenzima (Cu, Zn e Mn dependente), superóxido dismutase, que transforma o íon superóxido em peróxido, radical livre que a enzima Glutathione peroxidase eliminará do organismo durante a fagocitose (CARVALHO; BARBOSA; MCDOWELL, 2003).

Segundo Sharma et al. (2005), animais com deficiência de cobre têm uma diminuição de enzimas antioxidantes apresentando maior risco de infecções. Harmon (1998), trabalhando com novilhas Holandesas 84 dias pré-parto e 105 dias pós-parto, recebendo 20 ppm de cobre (além da dieta basal, aproximadamente 7 ppm de Cu), observou redução da infecção intramamária e tendência de menor número de células somáticas (após desafio com endotoxina nos dias 1 e 4 pós parto), em relação ao grupo controle (sem adição de cobre). Woolliams et al. (1986), avaliando ovelhas geneticamente selecionadas em pastagem melhorada, também observaram evidências de que a deficiência de Cu diminui a resistência à infecção clínica.

Xin et al. (1991) trabalhando com bovinos holandeses recebendo 20 mg de Cu/kg (CuSO_4) ou dieta deficiente em Cu com o uso de 10mg de Mo /kg (Molibdato de amônio), observaram redução da atividade da SOD nas células vermelhas do sangue, neutrófilos polimorfonucleares e no sangue total do grupo Cu-deficiente. A redução da SOD com a função dos neutrófilos prejudicada em animais Cu-deficientes, pode aumentar a susceptibilidade a infecções patogênicas.

Segundo Carvalho; Barbosa; McDowell (2003), a contagem de linfócitos circulantes no sangue e o peso do timo diminuem quando há deficiência de zinco, prejudicando a resposta imune e o efeito protetor das vacinações, devido sua importante função na replicação e proliferação celular.

Mandal et al. (2007), avaliaram a resposta imune de bovinos machos mestiços recebendo uma dieta basal com 32,5 mg de Zn/ kg de MS e outros dois tratamentos suplementados com 35 mg de Zn / kg MS de fonte inorgânica (sulfato) e orgânica (propionato). Não houve efeito significativo no desempenho, entretanto, o tratamento com zinco orgânico apresentou melhor resposta imune celular ($p < 0,01$) e humoral ($p < 0,05$).

Machado et al. (2013), relataram menor incidência de mastite, diminuição da contagem de células somáticas e menor incidência de endometrite em vacas multíparas suplementadas com uma solução mineral injetável contendo Zn, Cu, Mn, e Se.

Prasad e Kundu (1995), avaliaram vinte bezerros mestiços, desmamados aos 5 dias de idades, divididos em quatro tratamentos: um controle (T1) que recebeu apenas leite, e outros três que receberam leite suplementado, com cobre (T2 com 25 ppm de Cu); zinco (T3 recebeu 100 ppm de Zn) ou ambos (T4 - 25 ppm de Cu e 100 ppm de Zn). Os bezerros foram desafiados com glóbulos vermelhos de ovelhas (SRBC) aos 35 e 65 dias, os teores séricos de IgG e IgM foram mais elevados nos grupos T3 e T4, sugerindo que a suplementação com zinco melhora a resposta imune humoral, provavelmente sob a interação entre as células T auxiliares e as células B.

1.2.6 Cobre e Zinco nas Pastagens

Tokarnia et al. (1999) apresentaram uma revisão de estudos realizados no Brasil durante o período de 1987 a 1998, mostrando que as deficiências de fósforo, cobre e cobalto foram as mais frequentes, entretanto, a deficiência subclínica de zinco também ocorre com bastante constância nas forrageiras do país. Nicodemo et al. (2008) também indicaram deficiências de fósforo (P), zinco (Zn), cobre (Cu) e sódio (Na) para bovinos produzidos em área de forrageiras cultivadas nos cerrados do Brasil Central.

A concentração de minerais nas forragens depende de diversos fatores como: solo, espécie forrageira, o estado de maturidade, o rendimento, o manejo das pastagens e o clima. Formações geológicas jovens e alcalinas contêm maior quantidade de microelementos em relação a formações antigas, mais ácidas, grosseiras e arenosas (McDOWELL, 1999).

Plantas herbáceas e leguminosas são mais ricas em vários minerais do que as gramíneas, e à medida que amadurecem, o conteúdo mineral declina devido o processo natural de diluição e translocação de nutrientes para o sistema radicular. A pressão de pastejo também pode alterar o conteúdo mineral da pastagem, devido modificações na relação colmo/folha (McDOWELL, 1999).

O pH do solo também altera a composição mineral da planta forrageira, solos com pH mais baixo aumenta a absorção de cobre, zinco, enquanto solos com pH

mais elevado possibilitam maior absorção de molibdênio (UNDERWOOD E SUTTLE, 2010).

Pastagens produzidas em solos arenosos, pobres em matéria orgânica e muito desgastados podem apresentar baixa quantidade de Cu. Outra questão importante para se avaliar, é a disponibilidade do elemento, pois mesmo em quantidade suficiente nem sempre é absorvido pelo organismo devido à presença de antagonistas (RIET-CORRÊA, 2001).

Souza et al. (1980) estudaram as inter-relações do cobre e do molibdênio no solo, nas forragens e no tecido de bovinos mestiços Nelore durante os períodos de seca e de chuva. Durante a estação seca a concentração média de cobre (2,1 mg/kg) foi superior a época chuvosa (1,5 mg/kg). Nas forragens, a concentração de cobre foi maior nas águas em plantas novas e verde. Já os valores de cobre hepático dos animais foram maiores na seca (250 mg/kg) do que nas águas (196 mg/kg), sugerindo maior necessidade de cobre no período chuvoso, quando os animais apresentam melhor desempenho.

Souza e Darsie, (1985), em um levantamento das deficiências minerais em bovinos em seis regiões do nordeste de Roraima, encontraram deficiência de zinco nas forrageiras de todas as regiões estudadas. Sendo que o *Panicum maximum* Jaeq (Colonião) foi o que apresentou a maior concentração de Zn (11,8 mg/kg) e o *Andropogon* sp a pior (2,4 mg/kg). A concentração de Zn no solo na época chuvosa e na seca foram de 1,3 e 9,7 mg/kg, respectivamente, entretanto, na forragem ocorreu o contrário com teores de 6,2 mg/kg na chuva e 2,6 mg/kg na seca. Os teores de Zn no fígado dos animais foram baixos e com deficiências mais pronunciadas na época das águas.

1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRIGUETTO, J. M. et al. **Nutrição animal**. São Paulo: Nobel, 1999. 395p. v.1.

ANUALPEC: **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2013.

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

BERRY, B. A. et al. Efficacy of Multimin TM improving performance and health in receiving cattle. Oklahoma State University. **Animal Science Research Report**, p.61-64, 2000.

BUSH, L.J.; STALEY, T. E. Absorption of colostral immunoglobulins in newborn calves. **Journal of Dairy Science**, v.63, n. 4, p.672-680, 1980.

CARVALHO, F. A. N.; BARBOSA, F. A.; McDOWELL, L. R. **Nutrição de bovinos a pasto**. Belo Horizonte: Papelform, 2003, 438p.

CLARK, J. H. et al. Effects of respiratory disease risk and a bolus injection of trace minerals at receiving on growing and finishing performance by beef steers. **Professional Animal Scientist**, v.22, p.1-7, 2006.

COLEMAN, J. E. Zinc proteins: enzymes, storage proteins, transcription factors and replication proteins. **Annu. Rev. Biochem.** v.16, p.897-946, 1992.

CORRÊA, E. S. et al. **Desempenho reprodutivo em um sistema de produção de gado de corte**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 2001, Documentos, 13.

ENGLE, T. E. Effects of mineral nutrition of immune function and factors that affect trace mineral requirements of beef cattle. In: RANGE BEEF COW SYMPOSIUM, 2001, Nebraska. **Proceedings... Nebraska : University of Nebraska**, 2001.

FICK, K. R.; MCDOWELL, L. R.; MILES, P. H.; WILKINSON, N. S.; FUNK, D. J.; CONRAD, J. H. **Methods of mineral analysis for plant and animals tissues**. 2.ed. Gainesville: Dept. Anim. Sci., Univ. of Florida, 1979. 90p.

HARMON, R.J. Trace minerals and dairy cattle: Importance for udder health. In: Biotechnology in the Feed industry. Eds. T.P. Lyons and K.A. Jacques. Nottingham University Press, U.K. p.485-495, 1998.

HART, E.B., H. STEENBOCK, J.WADDELL AND C.A. ELVEHJEM. Iron in nutrition. VII. Copper as a supplement to iron for hemoglobin building in the rat. **J. Biol. Chem.** p.777-797, 1928.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Estatística da Produção Pecuária. Março de 2014. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abat-e-leite-couro-ovos_201304_publ_completa.pdf>. Acesso em 04 de dezembro de 2014.

MACHADO, V. S. et al. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and production of lactating Holstein cows. **The Veterinary Journal.** v.197, p.451–456, 2013.

MANDAL, G.P.; DASS, R.S.; ISORE, D. P.; GARG, A.K.; RAM, G.C. Effect of zinc supplementation from two sources on growth, nutrient utilization and immune response in male crossbred cattle (bos indicus X bos Taurus) bulls. **Anim. Feed Sci. and Technology**, v.138, p. 1-12, 2007.

McDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**, Academic Press, San Diego: 1992, 424 p.

McDOWELL, L.R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil**. 3 ed., University of Florida, 92 p., 1999.

McDOWELL, L.R. 2003. **Minerals in animal and human nutrition**. 2. ed., Elsevier Amsterdam, 2003, 660 p.

MILLS, C.F. Biochemical and physiological indicators of mineral status in animals: copper, cobalt and zinc. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 65, p. 1702-1711, 1987.

MINATEL, L.; BUFFARINI, M.A.; DALLORSO, M.E.; SILVA, E.; CARFAGNINI, J.C. Evaluación de la administración de glicionato de cobre sobre los niveles plasmáticos y hepáticos de cobre em novillos. **Revista Argentina de Produccion Animal**, Buenos Aires, v.18, n.1, p.316-317, 1998.

KEILIN, D. AND MANN, T. Carbonic anhydrase. Purification and nature of the enzyme. **Biological Journal**, v.34, p.1163–1176, 1940.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient Requirements of beef cattle**. National Academy Press, 7ed., Washington, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Mineral tolerance of animals**. National Academy Press, Washington, 2005.

NICODEMO, M.L.F.; SERENO, J.R.B.; AMARAL, T.B. **Minerais na eficiência reprodutiva de bovinos**. Documento 80, São Carlos: Embrapa, 2008.

PRASAD, T.; KUNDU, M. S. Serum IgG and IgM responses to sheep red blood cells in weaned calves fed milk supplemented with Zn and Cu. **Nutrition**, v.11, p.712-715, 1995.

RAULIN, J. **Ann. Sci. Bot. Bioi. Veg.** p. 11-93, 1869.

RICHESON, J. T.; KEGLEY, E. B. Effect of Supplemental trace minerals from injection on health and performance of highly stressed, newly received beef heifers. **The Professional Animal Scientist**. v. 27, p. 461–466, 2011.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M. C.; LEMOS, R. A. A. D. **Doenças de ruminantes e equinos**. 2 ed., Pelotas: Varela, 2001. 574p.

SHARMA, M.C., RAJU, S., JOSHI, C., KAUR, H., VARSHNEY, V.P. Studies on serum micromineral, hormone and vitamin profile and its effect on production and therapeutic management of buffaloes in Haryana state of India. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v.16, n.4, p.519-528, 2003.

SHARMA, M.C.; JOSHI, C.; PATHAK, N.N.; KAUR, H. Copper status and enzyme, hormone, vitamin and immune function in heifers. **Research Veterinary Science**, v.79, p.113-123, 2005.

SMART, M.E.; CHRISTENSEN, D.A.; SHORGOOL, M. The liver copper (Cu) and Zinc (Zn) concentrations of the bovine fetus and its dam during pregnancy. **Can. J. Anim. Sci.**, Ottawa, v.63, p.1021-1028, 1983.

SOUZA, J. C., CONRAD J. H., McDOWELL, L. R., AMNERMAN, C. B., BLUE, W. G. Inter-relações entre minerais no solo, plantas forrageiras e tecido animal. 2. Cobre e molibdênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.15, n.3, p.335- 341, 1980.

SOUZA, J.C., DARSIE, G. Deficiências minerais em bovinos de Roraima, Brasil. I. Zinco e cobalto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.20, p.1309- 1316, 1985.

SPEARS, J. W. Trace mineral bioavailability in ruminants. **Journal of Nutrition**, v.133, p.1506S–1509S, 2003.

SUTTLE, N.F. Effects of age and weaning on the apparent availability of dietary copper to young lamb. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.84, n.2, p.255-261, 1975.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária uma introdução**. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008

TOKARNIA, C.H., DÓBEREINER, J., MORAES, S.S., et al. Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos. Revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987-1998. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v.19, p.47-62, 1999.

UNDERWOOD, E.J. **Los minerales en la alimentación del ganado**. Zaragoza, Acríbia, 1969. 320p.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The Mineral Nutrition of Livestock**. 4.ed. New York: CAB International, 2010, 587 p.

USDA. Livestock and Poultry: World Markets and Trade. United States Department of Agriculture, 2014.

VALLE, E. R.; ANDREOTTI, R.; THIAGO, L. R. L. S. **Estratégias para aumento da eficiência reprodutiva e produtiva em bovinos de corte**. Campo Grande: EMBRAPACNP GC, 1998. 80p. (EMBRAPA-CNP GC. Documentos, 71).

WOOLLIAMS, C. et al. Studies on lambs from lines genetically selected for low and high copper status. **Animal Production**, Cambridge, v.43, n.2, p.293-301, 1986.

XIN, Z.; WATERMAN, D.F.; HEINKEN, R.W.; HARMON, R.J. Effect of copper status on neutrophil function, superoxide dismutase and copper distribution in steer. **Journal Dairy Science**, Savoy, v.74, n.9, p.3078-3085. 1991.

XIN, Z. et al. Copper status and requirement during the dry period and early lactation in multiparous Holstein cows. **Journal Dairy Science**, Savoy, v.76, n.9, p.2711-2716, 1993.

CAPITULO 2. SUPLEMENTAÇÃO PARENTERAL DE COBRE E ZINCO PARA VACAS NELORE NO PERÍODO PRÉ-PARTO

RESUMO: O presente estudo avaliou o efeito da suplementação mineral injetável de cobre (Cu) e zinco (Zn) sobre a resposta imunológica de vacas Nelore no período pré-parto, o experimento foi realizado na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, Campus de Pirassununga-SP. Foram avaliadas sessenta vacas prenhas, distribuídas aleatoriamente em delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos. No tratamento testemunha (T), as vacas receberam soro fisiológico como placebo, e no tratamento suplementado (S) receberam mineral injetável via subcutânea (75 mg de cobre e 250 mg de zinco), com aproximadamente 75 dias antes do parto, quando todas as vacas receberam vacina contra clostridiose. Os animais foram manejados no mesmo grupo para evitar possíveis efeitos da pastagem. Foram retiradas amostras do sal mineral proteinado mensalmente para determinação dos minerais Cu e Zn, e efetuado o controle da ingestão média pelos animais. Simulações de pastejo também foram feitas mensalmente, a fim de estimar o cobre e zinco presente nas pastagens e ingerido pelos animais. Foram realizadas colheitas de sangue aos -75, -10 e 30 dias em relação à data esperada do parto, para avaliação dos teores de Cu e Zn sérico, ceruloplasmina, IgG e IgM e a atividade fagocitária. Os dados experimentais foram analisados utilizando-se o PROC MIXED do SAS (SAS, 2009), com o nível de significância de 5%. Os teores de Cu, Zn, IgM, IgG, ceruloplasmina e a atividade fagocitária das vacas não sofreram influencia dos tratamentos ($p>0,05$). Nas condições deste experimento, o fornecimento de Cu e Zn injetável aos 75 dias antes do parto não alterou a resposta imunológica até 30 dias após o parto.

Palavras-chave: atividade fagocitária, gado de corte, imunoglobulinas.

PARENTERAL SUPPLEMENTATION OF COPPER AND ZINC IN NELLORE COWS IN PRE-PARTUM PERIOD

ABSTRACT: This study evaluated the effect of injectable mineral supplementation of copper (Cu) and zinc (Zn) on the immune response of Nellore cows in pre-partum period, the experiment was performed at the Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Campus Pirassununga. Sixty pregnant beef cows were divided in a completely randomized design with two treatments. In the control treatments (T), the 30 cows received saline as placebo, the treatment supplemented (S) received mineral injection subcutaneously (75 mg of copper and 250 mg of zinc), 75 days prior to parturition, when also received clostridiosis vaccine. The animals were housed in the same pasture group to avoid possible effects of grazing. Monthly mineral mixture and pasture were sampled for copper and zinc analysis and was done the control of mineral mixture intake. Simulations pasture intake have also been made in order to estimate the copper and zinc present in grass and eaten by the animals. The blood was sampled at -75, -10 and 30 days of the date of partum. We evaluated the serum levels of Cu and Zn, ceruloplasmin, IgG, and IgM, and phagocytic activity. The experimental data were analyzed using the SAS PROC MIXED of (SAS, 2009), with 5% significance level. The amounts of copper, zinc, IgM, IgG, ceruloplasmin and the phagocytic activity of the cows had no statistical difference ($p>0.05$) between treatments (supplemented and control). In this experiment, the supply of Cu and Zn injection at 75 days before delivery did not alter the immune response 30 days after delivery.

Keywords: beef cattle, immunoglobulins, phagocytic activity.

2.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um importante exportador de carne e a produção de bovinos de corte, sendo a maioria criada a pasto. Dessa forma, a forragem constitui o principal alimento para os ruminantes e diversas pesquisas mostraram que há deficiência mineral de cobre e zinco em várias regiões do país.

O cobre (Cu) e o zinco (Zn) desempenham funções essenciais no organismo, sendo que o Cu é componente de várias enzimas e está envolvido em diversas funções como: respiração celular, transporte do ferro, pigmentação, queratinização, desenvolvimento de tecido conjuntivo, além da formação e manutenção da integridade do sistema nervoso central. O Zn também é fundamental para diversos sistemas enzimáticos, está envolvido na síntese de aminoácido, proteínas, DNA e RNA, pigmentação e regulação do apetite (McDOWELL, 1999).

Tanto o Cu como o Zn possuem funções no sistema imunológico, são componentes da enzima superóxido dismutase que tem papel importante no sistema fagocitário dos macrófagos (URIU-ADAMS; KEEN, 2005). A deficiência de cobre pode afetar o sistema imune, prejudicando as células T e B, os neutrófilos e macrófagos, resultando em um decréscimo das células produtoras de anticorpos (McDOWELL, 1999). A deficiência de Zn prejudica células que estão em constante proliferação como as do sistema imune, dessa forma, prejudica a imunidade celular e humoral (KEUSCH, 1994).

A absorção dos minerais depende de diversos fatores, como a idade, a raça, o sexo, as condições ambientais, o pH intestinal e o estado fisiológico animal (McDOWELL, 2003). Assim, a complementação mineral para vacas de corte utilizando uma solução injetável pode ser um método mais confiável de garantir o status mineral adequado (MUNDELL et al. 2012).

A suplementação injetável de 5ml de uma mistura de mineral composta por Zn, Cu, Mn e Se foi eficaz para aumentar o teor de Cu no fígado de bovinos (DAUGHERTY et al. 2002; POGGE et al. 2012).

Fader e Marro (2001) suplementaram vacas leiteiras com cobre e selênio parenteral durante três anos consecutivos, e observaram que os animais tratados apresentaram menores intervalos do parto à primeira cobertura, da parição à concepção e entre partos.

O desempenho reprodutivo das fêmeas é fundamental para a eficiência da bovinocultura de corte. Segundo Nicodemo (2001), vacas em gestação que recebem suplementação mineral adequada parem bezerros com reserva de alguns minerais, prevenindo a ocorrência de deficiência e contribuindo para a saúde da cria, assim, diminui a taxa de mortalidade do rebanho e aumenta a taxa de desmame.

O uso de mineral injetável pode ser uma forma eficaz de melhorar o status de minerais em vacas de corte, portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação mineral injetável de cobre e zinco em vacas Nelore no período pré-parto, sobre a resposta imunológica e as alterações nos teores destes minerais no soro.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP), certificado nº 13.1.2229.74.3.

O experimento foi realizado no setor de bovinocultura de corte da Prefeitura do Campus Administrativo da Universidade de São Paulo em Pirassununga - SP, a 21° 59' de latitude sul, 47° 25' de longitude oeste e 634 m de altitude. O clima da região é subtropical do tipo Cwa com inverno seco e verão quente e chuvoso, segundo a classificação climática de Koppen (OLIVEIRA e PRADO, 1984). As médias de temperatura e precipitação durante o período experimental encontram-se na Figura 1.

Figura 1. Médias mensais de temperatura (°C) e precipitação (mm)

Fonte: Estação meteorológica da Prefeitura do Campus de Pirassununga

2.2.1 Animais e Tratamentos

Foram utilizadas sessenta vacas da raça Nelore (Figura 2.), primíparas e múltiparas com diagnóstico de prenhez positivo por IATF. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois tratamentos: (T) - testemunha, receberam soro fisiológico como placebo, e o (S) - suplementado- receberam mineral injetável via subcutânea (75 mg de cobre e 250 mg de zinco), em média 75 dias antes do parto. Estas fêmeas estavam identificadas na anca por numeração com ferro quente e

brinco na orelha. Todas as vacas foram vacinadas contra clostridiose aos 75 dias antes do parto.

Figura 2. Vacada utilizada no experimento

2.2.2 Procedimento Experimental

As vacas receberam o mesmo manejo nutricional, permaneceram juntas em pastagem de *Brachiaria decumbens* durante todo o período experimental. Os animais foram simultaneamente transferidos de pasto de acordo com disponibilidade, avaliada visualmente por altura de entrada e saída.

O rebanho recebeu mistura mineral proteinada à vontade em cochos cobertos. A composição centesimal da mistura está apresentada na Tabela 1 e os níveis de garantia do núcleo mineral na Tabela 2.

Foram retiradas amostras do sal mineral proteinado mensalmente para determinação dos minerais cobre e zinco, e controle da ingestão média pelos animais.

O consumo médio do proteinado foi de 290 g/dia por animal. O fornecimento de água ocorreu por meio de bebedouros de cimento, ou aguadas naturais.

Tabela 1. Composição centesimal do suplemento proteinado na matéria seca

Ingredientes	Quantidade (kg)
Milho grão moído	40,00
Uréia pecuária	12,50
Farelo de algodão 38%	20,00
Sal branco	20,00
Núcleo mineral	7,50
Total	100,00

Tabela 2. Níveis de garantia do núcleo mineral

Nutriente	Níveis
Cálcio (mín.)	208 g
Cálcio (máx.)	218 g
Cobalto (mín.)	148 mg
Cobre (mín.)	2.664 mg
Enxofre (mín.)	64 g
Flúor (máx.)	1.600 mg
Fósforo (mín.)	160 g
Iodo (mín.)	141 mg
Manganês (mín.)	2.220 mg
Selênio (mín.)	37 mg
Zinco (mín.)	7.992 mg
Monensina Sódica (mín.)	4.000 mg

A qualidade da forragem disponível foi mensurada durante o período do experimento mensalmente, por meio da colheita, ao acaso, de amostras observando-se o hábito e a altura de pastejo (simulando pastejo), conforme sugerido por Euclides (1992) e foram determinados os minerais cobre e zinco.

Foram realizadas 3 colheitas de sangue, duas antes do parto (-75 e -10 dias) e outra realizada 30 dias após o parto. As amostras foram colhidas de manhã, em tubos de *vaccuntainer* e imediatamente encaminhadas ao laboratório. Foram centrifugadas a 3.000 rpm durante 15 minutos e o soro pipetado e acondicionado em *eppendorfs* de plástico e congelado a - 20°C, para posteriores análises de Cu e Zn séricos; IgG e IgM, e ceruloplasmina.

Para avaliar a atividade fagocitária foi realizada coleta aos 30 dias pós parto, em tubos à vácuo com heparina, e imediatamente processado.

2.2.3 Procedimento Analítico

Os minerais cobre e zinco presentes no soro, na pastagem e no suplemento mineral proteinado, foram determinados no Laboratório de Minerais do

Departamento de Zootecnia da FZEA-USP, segundo metodologia descrita por Fick et al. (1979), com espectrometria de absorção atômica (Figura 3.).

As análises de imunoglobulinas foram avaliadas no Laboratório DAC (Diagnóstico de Análises Clínicas) de Pirassununga-SP por nefelometria.

Na análise da capacidade fagocítica dos neutrófilos, o sangue total foi processado e utilizado o kit pHrodo™ E. coliBioParticles® Phagocytosis (Invitrogen, Eugene, Oregon, USA), de acordo com as orientações do fabricante. As amostras foram analisadas utilizando o citômetro de fluxo FACS Canto I do Núcleo de Proteômica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Unesp de Araraquara (Figura 4.).

Figura 3. Tubos de sangue centrifugados e análise de Cu e Zn por Espectrometria de Absorção Atômica

Figura 4. Análise da Atividade fagocitária em Citômetro de fluxo (FSC Canto I) da Unesp de Araraquara-SP

A atividade da ceruloplasmina no soro foi determinada pelo método de Schosinsky et al. (1974), usando *o-Dianisidine dihydrochloride* como substrato, reagente que é convertido em um produto amarelo na presença de ceruloplasmina e oxigênio. Após adição de ácido sulfúrico, essa reação enzimática cessa, havendo formação de uma solução rosada estável, cuja absorbância foi lida a 540nm em espectrofotômetro.

2.2.4 Delineamento Experimental

O delineamento foi inteiramente casualizado com dois tratamentos. Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o pacote estatístico do SAS (SAS, 2009), sendo que os dados individuais de atividade fagocitária foram analisados pelo PROC GLM, já os dados de Cu, Zn, IgG e IgM, foram analisados como medidas repetidas no tempo de colheita, utilizando o PROC MIXED, com o nível de significância de 5%.

Os dados foram analisados em relação à presença de outliers e normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk). Quando a premissa de normalidade não foi atendida, a transformação logarítmica em base 10 foi realizada. As comparações de médias entre os tratamentos foram realizadas por meio do teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Cobre e Zinco séricos

As concentrações médias de cobre e zinco no soro das vacas dos diferentes tratamentos durante o período experimental estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Médias e erros padrões das concentrações séricas ($\mu\text{g/mL}$) de cobre (Cu) e zinco (Zn) das vacas suplementadas (S) e testemunhas (T).

Item	- 75		p-valor	- 10		p-valor	30		p-valor
	T	S		T	S		T	S	
Cobre	0,60 $\pm$ 0,02	0,59 $\pm$ 0,02	0,7366	0,49 $\pm$ 0,02	0,45 $\pm$ 0,02	0,2423	1,07 $\pm$ 0,03	1,07 $\pm$ 0,03	0,1561
Zinco	1,08 $\pm$ 0,04	1,14 $\pm$ 0,04	0,3327	0,84 $\pm$ 0,04	0,87 $\pm$ 0,03	0,5444	1,07 $\pm$ 0,03	1,09 $\pm$ 0,03	0,6857

T - testemunha (soro fisiológico); S - Suplementar (75 mg de cobre e 250 mg de zinco)

EPM = erro padrão da média

- 75: 75 dias antes do parto; - 10: 10 dias antes do parto e 30: 30 dias após o parto.

Não houve efeito significativo ($p>0,05$) da suplementação injetável de cobre e zinco sobre os teores destes minerais no soro. Os teores médios de minerais na pastagem e no suplemento mineral proteinado foram de 3,96 e 205mg/kg de MS de Cu e de 13,63 e 608 mg/kg de MS de Zn, respectivamente. Estimando uma ingestão de volumoso de 2,2% do peso vivo médio de 450 kg e considerando o consumo médio de proteinado de 0,290 kg/dia, para uma exigência de 30 mg de Zn/kg e de 10 mg de Cu/kg de MS (NRC, 1996), verifica-se que os animais estavam ingerindo 98,77 mg/kg de Cu (praticamente o recomendado, 99 mg/kg) e 311,35 mg/kg de Zn, ou seja, 4,8% superior ao recomendado (297 mg/kg).

Os teores médios de cobre sérico do tratamento testemunha e suplementar (0,728 e 0,721 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) foram semelhantes e estão acima do nível indicativo de deficiência para Puls (1988) e González (2000), que consideram níveis abaixo de 0,50 $\mu\text{g/mL}$ como deficiência de cobre. Também para Bavera e Bocco (1987), McDowell (1992) e Underwood e Suttle (2010) que consideram deficientes quando os níveis de cobre estão abaixo de 0,6 $\mu\text{g/mL}$.

No presente trabalho, não foi realizado análise de cobre hepático para uma avaliação mais precisa do estado nutricional do animal. Mill (1987) observou que a concentração de cobre e a atividade da ceruloplasmina no plasma podem não apresentar alterações, devido à liberação de Cu hepático. Segundo Claypool et al.

(1975), apenas valores séricos de cobre abaixo de 0,5 µg/mL são acompanhados de baixos valores hepáticos. Esses autores observaram que vacas de corte com valores hepáticos acima de 40 mg/kg/MS não apresentam diferença significativa nos níveis plasmáticos de cobre.

Os valores de cobre deste trabalho foram superiores a 0,5 µg/mL, apenas no período próximo ao parto o valor foi abaixo (0,49 e 0,45 µg/mL), sugerindo que as reservas hepáticas foram capazes de manter em homeostasia o teor de cobre para o animal. Assim como neste trabalho, Daugherty et al. (2002), trabalhando com suplementação injetável de minerais (Cu, Zn, Se e Mn) e vitamina E em vacas de corte no pré-parto e no pré-acasalamento, observaram aumento apenas da concentração de cobre no fígado das vacas suplementadas, a concentração de Cu e Zn no plasma não foram alteradas ($p>0,05$) entre os tratamentos.

Os teores médios de zinco sérico do tratamento testemunha e suplementar (0,895 e 0,930 µg/mL, respectivamente) foram semelhantes e estão acima do nível indicativo de deficiência de 0,6 µg/mL, segundo Puls (1988), McDowell, 1992 e Underwood e Suttle (2010). Acima também de 0,8 µg/mL, limite de deficiência considerado por Bavera e Bocco (1987), Ewing e Charlton (2005) e González (2000).

Batista et al. (2012), avaliaram o uso de mineral complexado e mineral iônico para vacas Holandesas no período pré-parto e também não observaram alterações significativas no teor de Zn no soro das vacas dos diferentes grupos.

Diversos fatores podem afetar a concentração do cobre no plasma, a quantidade de zinco na dieta pode alterar o metabolismo de outros cátions divalentes. De acordo com Kincaid (1999), o consumo elevado de Zn reduz a concentração de Cu no plasma e no fígado de bovinos e carneiros. Wellington et al. (1998) verificaram que a adição diária de 90 mg de Zn/kg de MS na dieta animal reduz 41% a absorção do cobre pelo fígado. No presente trabalho, o alto teor de Zn no início do experimento conciliado com a suplementação injetável e o teor de consumo de Zn estimado acima da exigência podem ter condicionado a redução do cobre por interferência na absorção.

2.3.2 Ceruloplasmina

Os valores referentes às médias da atividade da ceruloplasmina em função dos tratamentos nos diferentes períodos experimentais estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Médias e erros padrões das concentrações séricas de Ceruloplasmina (U/L) de vacas suplementadas (S) e testemunhas (T) nos diferentes períodos.

Parâmetros	- 75		p- valor	- 10		p- valor	30		p- valor
	T	S		T	S		T	S	
Ceruloplasmina	12,21 ± 0,94	11,37 ± 0,92	0,73	8,11 ± 0,83	7,49 ± 0,78	0,59	6,84 ± 0,91	8,67 ± 0,89	0,15

T - testemunha (soro fisiológico); S - Suplementar (75 mg de cobre e 250 mg de zinco)

EPM = erro padrão da média

- 75: 75 dias antes do parto; - 10: 10 dias antes do parto e 30: 30 dias após o parto.

A concentração de ceruloplasmina esta correlacionada com a concentração de cobre, podendo ser utilizada como indicador do status de cobre no animal (BLAKLEY e HAMILTON, 1985; PAYNTER, 1982).

Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) da suplementação injetável de cobre e zinco sobre a atividade sérica da ceruloplasmina. Assim como o cobre sérico, a atividade da ceruloplasmina reduziu próximo ao parto, entretanto, os valores não acompanharam o aumento de cobre aos 30 dias pós parto.

Apesar da alta correlação entre a ceruloplasmina e o cobre, como valor de 0,83 observado por Blakley e Hamilton (1985), alguns trabalhos encontraram correlação média, como $r = 0,55$ por Telfer (1996) e $r = 0,50$ por Amorim (2002) em bezerros com 30 dias de idade. Problemas no controle de qualidade e na padronização dos ensaios enzimáticos podem explicar a variação nos resultados.

Segundo Paynter (1982), as concentrações de ceruloplasmina no plasma são maiores que no soro, devido à coagulação sanguínea com a formação de fibrina e o consequente sequestro da ceruloplasmina. Outro fator de alteração é a ocorrência de processos inflamatórios que podem aumentar a concentração de ceruloplasmina (COUSINS, 1985).

2.3.3. Imunoglobulinas G e M

Os valores referentes às médias de IgM e IgG em função dos tratamentos nos diferentes períodos experimentais estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Médias e erros padrões dos teores séricos (mg/dL) de imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM) das vacas suplementadas (S) e testemunhas (T).

Parâmetro	Períodos	Tratamentos		Média	CV (%)	p-valor
		T	S			
IgG	-75 dias	863,07	859,16	861,19	7,42	0,8278
	10 dias	1038,45	1072,32	1055,39	12,19	0,3892
	30 dias	789,39	787,15	788,31	10,32	0,9207
IgM	-75 dias	62,71	64,65	63,65	14,88	0,4573
	10 dias	184,61	202,52	193,56	19,36	0,1057
	30 dias	323,43	344,23	333,44	24,90	0,3625
Parâmetro	Tratamentos		EPM	p-valor		
	T	S		Trat.	Tempo	Trat.*Tempo
IgG	886,12	906,55	13,59	0,4699	< 0,0001	0,5215
IgM	190,90	203,52	10,09	0,1819	< 0,0001	0,4247

T - testemunha (soro fisiológico); S - Suplementar (75 mg de cobre e 250 mg de zinco).
 - 75: 75 dias antes do parto; - 10: 10 dias antes do parto e 30: 30 dias após o parto.

Não houve efeito significativo ($p>0,05$) para imunoglobulinas G e M entre os tratamentos testemunha e suplementar nos diferentes períodos. As concentrações médias de IgG do tratamento testemunha e suplementar (887,2 e 880,3 mg/dl, respectivamente) foram semelhantes e estão abaixo do nível normal para bovinos de 1.120,0mg/dl citado por Pastoret et al. (1998).

As concentrações médias de IgM do tratamento testemunha e suplementar (192,6 e 197,3 mg/dl, respectivamente) também foram semelhantes e estão abaixo do nível normal para bovinos de 305 mg/dl citado por Pastoret et al. (1998).

Após receberem vacina contra clostridiose, aos 75 dias antes do parto, a concentração de IgG aumentou até o período de 10 dias antes do parto, seguido de uma redução 30 dias pós-parto. A concentração de IgM aumentou linearmente até os 30 dias pós-parto.

O aumento de imunoglobulinas nos animais vacinados era esperado, pois a exposição a um antígeno estimula a produção de anticorpos. Ward et al. (1993) avaliando a resposta imune humoral de novilhos alimentados com cobre orgânico e

inorgânico, não observaram diferença na produção de anticorpos entre os grupos mas houve uma resposta linear de 7 a 21 dias após injeção

Cerone et al. (1995), constataram que novilhas suplementadas com Mo e S e vacinadas contra *Brucella abortus*, apresentaram menor concentração de IgG no soro por deficiência de Cu. Gengelbach e Spears (1998) também relataram maiores concentrações de IgG e IgM em animais suplementados com cobre.

2.3.4. Atividade fagocitária

Os valores referentes às médias da atividade fagocitária das vacas aos 30 dias pós-parto, em função dos tratamentos, estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Médias e erros padrões da atividade fagocitária (%), aos 30 dias pós parto, de vacas suplementadas e testemunhas.

Tratamentos	Fagocitose (%)	EPM	p-valor
Testemunha	24,57	1,26	0,7317
Suplementar	23,96	1,22	

Não houve efeito significativo ($p>0,05$) para a atividade fagocitária entre os tratamentos testemunha e suplementar com cobre e zinco. Boyne e Arthur (1986), verificaram redução da fagocitose e a capacidade bactericida contra *Candida albicans*, em bezerros com deficiência de cobre induzida pela administração de uma dieta contendo 5 mg/Kg de molibdênio ou 500 mg/Kg de ferro. No presente experimento, não houve diferença significativa do teor do cobre sérico, dessa forma, não alterando a atividade fagocitária entre os tratamentos.

O tempo de conservação da amostra é fundamental para obtenção de resultados confiáveis. Bohland et al. (2008), estudaram diferentes tempos (2, 4, 6, 12 e 24 horas) de estocagem (em banho de gelo) e observaram que a intensidade de fluorescência, ou seja, número de bactérias fagocitadas foi maior no momento t6, entretanto, não houve diferença significativa entre os demais tempos de análise.

Como foi utilizado o citômetro de fluxo da Unesp de Araraquara, as amostras foram preparadas imediatamente após a coleta de sangue e o tempo de incubação (0 a 6°C, para amostra negativa e 34 a 38°C, para amostra positiva) foi realizado durante a viagem, para dessa forma tentar evitar resultados falsos.

A suplementação mineral injetável em animais com níveis adequados de minerais pode ter efeitos negativos. Vanegas et al. (2004) avaliando suplementação mineral injetável de Cu, Se, Zn e Mn sobre o desempenho reprodutivo de vacas leiteiras, observaram menor taxa de concepção no grupo que recebeu duas doses de mineral injetável (primeira dose com 2 a 3 semanas pré-parto e a segunda dose com 38 a 45 dias de lactação) . Estes autores sugeriram que a suplementação de minerais, acima dos requisitos do animal, podem ter efeitos negativos sobre a reprodução.

2.4 CONCLUSÃO

Nas condições deste experimento, as vacas estavam recebendo teores de Cu e Zn adequados, a suplementação parenteral destes minerais com aproximadamente 75 dias antes do parto, não alterou os teores de zinco, cobre e ceruloplasmina sérica, bem como na resposta imunológica até 30 dias após o parto.

Novas pesquisas precisam ser realizadas a fim de verificar o efeito do cobre e zinco injetável em vacas recebendo teores inadequados destes minerais na dieta.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKHTAR, M.S., FAROOQ, A.A., MUSHTAQ, M. Serum trace minerals variation during pre and post –partum period in nili-ravi buffaloes. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v.19, n.4, p.182-184, 2009.

AMORIM, R.M. **Valores séricos e hepáticos de elementos minerais, atividade sérica da ceruloplasmina, hemograma, proteinograma e metabolismo oxidativo dos neutrófilos em bezerros da raça nelore, nascidos de mães com nutrição adequada ou inadequada em cobre e zinco**. 2002. 66 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.

BATISTA, C.G. ET al. Utilização de minerais iônicos ou complexos orgânicos de minerais no pré-parto de vacas Holandesas. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.5, p.1232-1238, 2012.

BAVERA, G. A.; BOCCO, O. **Suplementación mineral del bovino**, Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina, 1987, 88p.

BLAKLEY, B.R., HAMILTON, D.L. Ceruloplasmin as an indicator of copper status in cattle and sheep. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v.49, n.4, p. 405-408, 1985.

BOHLAND, E., SÁ-ROCHA, V. M., CYRILLO, F. C., BENESI, F. J. Efeito do tempo de conservação de polimorfonucleares do sangue de bezerros sobre o metabolismo oxidativo e a atividade de fagocitose de Escherichia coli. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 45, n. 1, p. 48-56, 2008.

BOYNE, R., ARTHUR, J. R. Effects of molybdenum or iron induced copper deficiency on the viability and function of neutrophils from cattle. **Research in Veterinary Science**, v.41, n.3, p.417-419, 1986.

CERONE, S.I., SANSINANE, A.S., AUZA, N.J. Copper deficiency alters the immune response of bovine. **Nutrition Research**, v.15, n.9, p.1333-1341, 1995.

CLAYPOOL, D.W.; ADAMS, F.W.; PENDELL, H.W. Relationship between the level of copper in the blood plasma and the liver of cattle. **Journal of Animal Science**, v.41, p.911-914, 1975.

COUSINS, R.J. Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. **Physiological Reviews**, v.65, p.238-309, 1985.

DAUGHERTY, S. R., G. E. CARSTENS, D. B. HERD, K. S. BARLING, AND R. D. RANDEL. Effects of prenatal and prebreeding trace mineral/vitamin E injections on calf health and reproductive performance of beef cows. **Beef Cattle Research in Texas**. Texas A & M Univ., College Station, p.39-43, 2002.

EUCLIDES, V.P.B. Avaliação de diferentes métodos de amostragem (para estimar o valor nutritivo de forragens) sob pastejo. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.21, n.4, p.691-702, 1992.

EWING W. N. e CHARLTON, S. J. **Minerals Directory**, British Library, London, England, 2005, 150p.

FADER, O. W., MARRO, O. Efecto de la administracion de cobre y selenio inyectable sobre el comportamiento reproductivo de bovinos lecheros deficientes em la region central de Córdoba. **Producción Bovina de Carne**, Córdoba, 2001.

FICK, K. R.; MCDOWELL, L. R.; MILES, P. H.; WILKINSON, N. S.; FUNK, D. J.; CONRAD, J. H. **Methods of mineral analysis for plant and animals tissues**. 2.ed. Gainesville: Dept. Anim. Sci., Univ. of Florida, 1979. 90p.

GENGELBACH, G. P.; SPEARS, J. W. Effects of dietary copper and molybdenum on copper status, cytokine production, and humoral immune response of calves. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.3286-3292, 1998.

GONZÁLEZ, F. H.D. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes, In: Perfil Metabólico em ruminantes. GONZÁLEZ et al., UFRS, RS, 2000, 106p.

KEUSCH, G. T. Nutrition and Infection. In ____ **Modern Nutrition in health and disease**. 8 ed. Baltimore: Williams & Wilkins.1994. v.1 p. 1241-58.

KINCAID, R.L. 1999. Assessment of trace minerals status of ruminants: A review. Department of Animal Sciences, Washington State University, Pullman.

McDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**, Academic Press, San Diego: 1992, 424 p.

McDOWELL, L.R. Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil. 3 ed., University of Florida, 92 p., 1999.

McDOWELL, L.R. 2003. **Minerals in animal and human nutrition**. 2. ed., Elsevier Amsterdam, 2003, 660 p.

MEHERE, Y. S., TALVELKAR, B. A., DESHMUKH, B. T., NAGVEKAR, A. S., INGOLE, S.D. 2002. Hematological and trace element profile during peripartum period in crossbred cows. **Indian Journal of Animal Science**, v.72, n.2, p.148-150.

MILLER, R. H.; PAAPE, M. J.; DULIN, A. M. Relationship between immunoglobulin concentration in milk and phagocytosis by bovine neutrophils. **American Journal Veterinary Research**, v. 49, n.1, p. 42-45, 1985.

MILLS, C.F. Biochemical and physiological indicators of mineral status in animals: copper, cobalt and zinc. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.65, p.1702-1711, 1987.

MUNDELL, L. R. et al. Effects of prepartum and postpartum bolus injections of trace minerals on performance of beef cows and calves grazing native range, **Professional Animal Scientist**, v.28, n.1, p.82-88, 2012.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1996. **Nutrient Requirements of beef cattle**. National Academy Press, 7ed., Washington, 242p.

NICODEMO, M.L.F. Suplementação mineral de bovinos na estação seca. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte. (Embrapa Gado de Corte. Comunicado Técnico, 66), 3 p.; 2001.

PASTORET, P.P; GRIEBEL, P.; BAZIN, H. **Handbook of Vertebrate Immunology**, XIII-Immunology of Cattle, Academic Press, 1998. 673p.

PATHAK, M.M., PATEL, A.V. E JANKIRAMAN, K. Blood serum copper at different stages of pregnancy in Surti buffaloes. **Indian Journal Animal Science**, 56: p.1202-1204, 1986.

PAYNTER, D. I. Differences between serum and plasma ceruloplasmin activities and copper concentrations: investigation of possible contributing factors. **Australian Journal Biology Science**., v.35, n.4, p.353-361, 1982.

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

PULS, R. **Mineral levels in animal health**, Sherpa International, Ontario, Canada, 1988, 240p.

SAS Institute Inc.2009. SASOnlineDoc® Version 9.2. SAS Institute Inc , Cary, NC (2009).

SCHOSINSKY, K.H.; LEHMANN, H.P.; BEELER, M.F. Measurement of ceruloplasmin from its oxidase activity in serum by use of o-Dianisidine Dihydrochloride. **Clin. Chem.**, v.20, n.12, p.1556-1563, 1974.

TELFER, S. B., MACKENZIE, A. M., ILLINGWORTH, D. V., JACKSON, D. W., 1996. The use of ceruloplasmin activities and plasma copper concentration as indicators of copper status in cattle. **Proceedings of the XIX World Buaitrics Conference Edinburgh**, vol. II. British Cattle Veterinary Association, Frampton-on Severn, p.402–404.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The Mineral Nutrition of Livestock**. 4.ed. New York: CAB International, 2010, 587 p.

URIU-ADAMS, J. Y.; KEEN, C. L. Copper, oxidative stress, and human health. **Molecular Aspects of Medicine**, Kidlington, v.26, p. 268-298. 2005

VANEGAS, J. A.; REYNOLDS, J.; ATWILL, E. R. Effects of an injectable trace mineral supplement on first-service conception rate of dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.87, p.3665- 3671, 2004.

WARD, J. D., SPEARS, J. W., KEGLEY, E. B. Effect of copper level and source (copper lysine vs copper sulfate) on copper status, performance, and immune response in growing steers fed diets with or without supplemental molybdenum and sulfur. **Journal of Animal Science**, v.71, p.2748-2755, 1993.

WELLINGTON, B.K. PATERSON, J.A. SWENSON, C.K. ANSOTEGUI, R.P. HATFIELD, P.G., JONHSON, A.B. 1998. The influence of supplemental copper and zinc on beef heifer performance and changes in liver copper. **Proceedings, Western Section**, American Society of Animal Science, 49: p. 323 – 326.

XIN, Z. et al. Copper status and requirement during the dry period and early lactation in multiparous Holstein cows. **Journal Dairy Science**, Savoy, v.76, n.9, p.2711-2716, 1993.

YOKUS, B. E CAKIR, U.D. Seasonal and physiological variations in serum chemistry and mineral concentrations in cattle. **Biological Trace Element Research**, v.109, p.255-266, 2006.

CAPITULO 3. SUPLEMENTAÇÃO PARENTERAL DE COBRE E ZINCO PARA BEZERROS NELORE DO NASCIMENTO A DESMAMA

RESUMO: O presente estudo avaliou o efeito da suplementação mineral injetável de cobre (Cu) e zinco (Zn) sobre o desempenho e a resposta imunológica de bezerros Nelore do nascimento ao pós-desmame, o experimento foi realizado na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, Campus de Pirassununga-SP. Cinquenta e quatro bezerros foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com 2 tratamentos: (T) - bezerros não suplementados que receberam soro fisiológico como placebo e (S) - bezerros suplementados com mineral injetável via subcutânea contendo cobre (15 mg aos 70 dias, 45 mg aos 140 dias e 60 mg aos 210 dias) e zinco (50 mg aos 70 dias, 150 mg aos 140 dias e 200mg aos 210 dias). Os animais foram manejados em mesmo grupo para evitar possíveis efeitos da pastagem. Foram retiradas amostras do suplemento mineral mensalmente, assim como, realizado simulações de pastejo para determinação dos minerais Cu e Zn, e controle da ingestão média pelos animais. Foram realizadas colheitas de sangue com aproximadamente 70, 140, 170, 210 e 240 dias de idade. Foi avaliado os teores de Cu e Zn sérico, ceruloplasmina, IgG e IgM e a atividade fagocitária. Os dados experimentais foram analisados utilizando-se o PROC MIXED do SAS (SAS, 2009), com nível de significância de 5%. Os teores de cobre, zinco, IgM, IgG, SOD e a atividade fagocitária do bezerros não tiveram diferença estatística ($p>0,05$) entre os tratamentos. Nas condições deste experimento, o fornecimento de Cu e Zn injetáveis aos 70, 140 e 210 dias de idade, não alterou os teores de cobre, zinco e superóxido dismutase séricos e na resposta imunológica até os 240 dias de idade, assim como no ganho de peso até os 300 dias de idade.

Palavras-chave: atividade fagocitária, desempenho, gado de corte, imunoglobulinas.

PARENTERAL SUPPLEMENTATION OF COPPER AND ZINC IN NELLORE CALVES FROM BIRTH TO WEANING

ABSTRACT: This study evaluated the effect of injectable mineral supplementation of copper (Cu) and zinc (Zn) on the immune response of Nelore calves from birth to weaning, the experiment was performed at the Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Campus Pirassununga. Fifty four calves were distributed completely randomized design with two treatments: T) – calves not supplemented that received saline as placebo and (S) – calves supplemented with injectable mineral applied subcutaneously containing copper (15 mg at 70 days, 45 mg at 140 days and 60 mg at 210 days) and zinc (50 mg at 70 days, 150 mg at 140 days and 200 mg at 210 days). The animals were kept in the same pasture group to avoid possible effects of pasture. Mineral supplement samples were taken monthly with the control of intake and was realized grazing simulation for analysis of Cu and Zn. Blood samples were realized with approximately 70, 140, 170, 210 and 240 days of age. Were assessed levels of serum Cu and Zn, ceruloplasmin, IgG and IgM and the phagocytic activity. The experimental data were analyzed using PROC MIXED of SAS (SAS, 2009), with 5% significance level. The amounts of copper, zinc, IgM, IgG, SOD and the phagocytic activity of the calves had no difference ($p>0.05$) between treatments. In this experiment, the provision of Cu and Zn injection at 70, 140 and 210 days of age did not affect the amounts of copper, zinc superoxide dismutase and serum immune response to the 240 days of age, and weight gain up to 300 days of age.

Keywords: beef cattle, immunoglobulins, performance, phagocytic activity.

3.1 INTRODUÇÃO

Ao nascimento, o sistema imunológico dos bezerros apesar de estar suficientemente desenvolvido, é incapaz de responder rapidamente e com eficiência às agressões do meio ambiente (TIZARD, 2008). Uma análise do desempenho reprodutivo em sistemas de produção de gado de corte mostrou que as maiores perdas ocorrerem do nascimento a desmama, sendo que a mortalidade de bezerros representou 53,7% da mortalidade geral ocorrida no rebanho (CORRÊA et al., 2001).

Em virtude da baixa condição nutricional da mãe, as exigências nutricionais de bezerros logo após o parto podem ser altas e a suplementação via mistura mineral não será efetiva devido à baixa ingestão da mistura mineral pelos bezerros e posteriormente, devido as possíveis interações e diferentes biodisponibilidades dos minerais. Neste caso, a suplementação injetável é altamente recomendável, ressaltando a importância e a necessidade de mais estudos sobre o tema.

Outro ponto crítico na produção animal é a desmama, o estresse nesse período pode comprometer o sistema imune dos bezerros e atrasar o seu desenvolvimento. Sabendo que o Cu e o Zn são elementos considerados essenciais para o bom funcionamento do sistema imunológico, o fornecimento destes minerais via injetável, pronto uso, pode atender às exigências dos animais e ainda minimizar o efeito prejudicial do estresse e melhorar a resposta à vacinação.

Suplementação de minerais através de injeções, evitando antagonistas dietéticos do trato gastrointestinal, melhorou a concentração de Cu no fígado 15 dias após a aplicação (POGGE et al., 2012) e também a saúde e o desempenho de bovinos de corte (RICHESON e KEGLEY, 2011).

O período do desmame é crítico, além do estresse, o bezerro geralmente não ingere todos os nutrientes de que necessita, sendo que no caso dos minerais a situação é pior, em virtude de grande variação que há na ingestão do suplemento mineral. Portanto, a suplementação injetável neste período pode ser interessante. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho e a resposta imunológica humoral e celular de bezerros recebendo cobre e zinco injetável.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP), certificado nº 13.1.2229.74.3.

O experimento foi realizado no setor de bovinocultura de corte da Prefeitura do Campus Administrativo da Universidade de São Paulo em Pirassununga - SP, a 21° 59' de latitude sul, 47° 25' de longitude oeste e 634 m de altitude. O clima da região é subtropical do tipo Cwa com inverno seco e verão quente e chuvoso, segundo a classificação climática de Koppen (OLIVEIRA e PRADO, 1984). As médias de temperatura e precipitação durante o período experimental encontram-se na Figura 5.

Figura 5. Médias mensais de temperatura (°C) e precipitação (mm) durante o período experimental.

Fonte: Estação meteorológica da Prefeitura do Campus de Pirassununga

3.2.1 Animais e Tratamentos

Cinquenta e quatro bezerros de ambos os sexos (30 machos e 24 fêmeas), foram divididos em 2 tratamentos: **(S)** - bezerros suplementados com mineral injetável via subcutânea contendo cobre (15 mg aos 70 dias, 45 mg aos 140 dias e

60 mg aos 210 dias) e zinco (50 mg aos 70 dias, 150 mg aos 140 dias e 200mg aos 210 dias) e **(T)** - bezerros não suplementados que receberam soro fisiológico como placebo.

3.2.2 Procedimento Experimental

Logo após o nascimento foi realizado a cura do umbigo dos bezerros, com iodo 50%, para evitar possíveis infecções e miíases. Também foram pesados (Figura 6.), vermifugados e identificados por meio de tatuagem na orelha direita (Figura 7).

Aos 70 dias de idade receberam brinco de manejo com número de identificação e cor diferente para cada tratamento, sendo o brinco da cor vermelha para os animais que foram suplementados e o branco para os testemunhas, como podemos observar na Figura 8.

Com cerca de 140 dias de idade os bezerros receberam a primeira dose de vacina contra clostridiose e aos 170 receberam a segunda dose da vacina e as fêmeas também foram vacinados contra brucelose.

Ao completarem aproximadamente 210 dias de idade todos os bezerros foram desmamados, receberam marcação a fogo na anca com o número de manejo tatuado na orelha ao nascimento. Todas as fêmeas foram marcadas também, ao lado esquerdo da cara com a letra “V” de vacinado contra brucelose e o número quatro correspondente ao ultimo dígito do ano de vacinação, como podemos observar na Figura 9.

Figura 6. Pesagem do bezerro ao nascimento

Figura 7. Manejo dos bezerros ao nascimento

Figura 8. Identificação dos bezerros e tratamentos por brincos

Figura 9. Manejo de Desmama dos bezerros aos 210 dias de idade

Os animais receberam o mesmo manejo nutricional, suplemento mineral e pastagem de *Brachiaria decumbens*. Os animais foram simultaneamente transferidos de pasto de acordo com disponibilidade, avaliada visualmente por altura de entrada e saída.

Do nascimento até a desmama, os animais receberam suplemento mineral (Tabela 7) em cochos cobertos, respeitando o mínimo de 12 cm linear de cocho por unidade animal (UA) com no mínimo 15 cm linear por cabeça. Após a desmama receberam suplemento energético (Tabela 8.) em cochos com no mínimo 20 cm linear por UA.

Tabela 7. Níveis de garantia do suplemento mineral

Nutriente	Níveis
Cálcio (mín.)	78 g
Cálcio (máx.)	87 g
Cobalto (mín.)	40 mg
Cobre (mín.)	900 mg
Enxofre (mín.)	40 g
Flúor (máx.)	600 mg
Fósforo (mín.)	60 g
Iodo (mín.)	48 mg
Manganês (mín.)	750 mg
Selênio (mín.)	13 mg
Sódio	111 g
Zinco (mín.)	2.700 mg
Monensina Sódica (mín.)	1.000 mg

Tabela 8. Composição centesimal do suplemento energético, na matéria seca

Ingrediente	Quantidade (kg)
Milho grão moído	41,50
Uréia Pecuária	3,00
Farelo de algodão (38%)	48,00
Sal branco	5,00
Núcleo mineral	2,50
Total	100,00

A qualidade da forragem disponível foi mensurada durante o período do experimento mensalmente, por meio da colheita, ao acaso, de amostras observando-se o hábito e a altura de pastejo (simulando pastejo), conforme sugerido por Euclides (1992) e foram determinados os minerais cobre e zinco.

Foram retiradas amostras do suplemento mensalmente para determinação dos minerais cobre e zinco, e controle da ingestão média pelos animais.

As colheitas de sangue foram realizadas aos 70, 140, 170, 210 e 240 dias em relação ao nascimento, para posteriores análises de Cu, Zn, IgG e IgM. Os bezerros foram pesados em balança eletrônica em todos os períodos de colheita de sangue e também aos 270 e 300 dias de idade.

Para a realização da atividade fagocitária, foram utilizadas amostras de sangue dos períodos de 140 e 170 dias. Nestes mesmos períodos, também foi coletado sangue em tubo heparinizados para a quantificação da enzima superóxido dismutase (SOD), tomando-se o cuidado de iniciar o preparo da solução de eritrócitos em até 4 horas após a coleta de sangue.

3.2.3 Procedimento Analítico

Os minerais cobre e zinco presentes no soro, na pastagem e no suplemento mineral proteinado, foram determinados no Laboratório de Minerais do Departamento de Zootecnia da FZEA-USP, segundo metodologia descrita por Fick et al. (1979).

As análises de imunoglobulinas foram avaliadas no Laboratório DAC (Diagnóstico de Análises Clínicas) de Pirassununga-SP por nefalometria.

A avaliação da atividade fagocitária foi realizada em sangue total, com uso do kit pHrodo™ E. coliBioParticles® Phagocytosis (Invitrogen, Eugene, Oregon, USA), seguindo as orientações do fabricante. As amostras foram analisadas utilizando o

citômetro de fluxo FACS Canto I do Núcleo de Proteômica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Unesp de Araraquara.

Para avaliação da SOD, o plasma heparinizado foi centrifugado a 4 ° C e 2.000 g durante 15 minutos, as hemácias foram separadas em duas alíquotas e o restante da amostra foi descartado juntamente com leucócitos. Foi adicionado aos tubos de sangue a solução tampão e, novamente os tubos foram centrifugados, sendo esse procedimento repetido por mais 2 vezes até que a amostra não apresentasse mais placas de leucócitos. Estas amostras foram armazenadas em frascos âmbar em congelador a - 80 ° C, durante um período máximo de 35 dias. A dosagem da enzima superóxido dismutase (SOD) foi realizada em analisador bioquímico automático (Figura 10.), com o uso do kit de diagnóstico Randox (SD125).

Figura 10. Análise da atividade da SOD em analisador bioquímico automático

3.2.4 Delineamento Experimental

O delineamento foi inteiramente casualizado com dois tratamentos. O modelo estatístico utilizado incluiu os efeitos fixos devido ao tratamento (testemunha e suplementado), o período de colheita e as possíveis interações. Os termos de interação não significativos ($p > 0,05$) foram excluídos do modelo final.

$Y_{ijk} = \mu + T_i + I_j + TI_{ij} + e_{ij}$, em que:

Y_{ijk} = variáveis dependentes;

μ = média geral de todas as observações;

T_i = efeito do tratamento, sendo 0 = bezerros testemunhas, 1 = bezerros suplementados.

I_j = efeito do período de coleta;

TI_{ij} = interação entre o i-ésimo tratamento e j-ésimo período;

e_{ij} = erro associado a cada observação.

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o pacote estatístico do SAS (SAS, 2009), sendo que os dados individuais de atividade fagocitária foram analisados pelo PROC GLM, já os dados de Cu, Zn, IgG, IgM, SOD, peso e de ganho de peso médio diário total foram analisados como medidas repetidas no tempo de colheita, utilizando o PROC MIXED, com o nível de significância de 5%.

Os dados foram analisados em relação à presença de outliers e normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk). Quando a premissa de normalidade não foi atendida, a transformação logarítmica em base 10 foi realizada. As comparações de médias entre os tratamentos foram realizadas por meio do teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Cu e Zn séricos

As concentrações médias de cobre e zinco no soro dos bezerros nos diferentes tratamentos, aos 70, 210 e 240 dias de idade, estão na Tabela 9.

Tabela 9. Médias e erros padrões das concentrações séricas de cobre e zinco ($\mu\text{g/mL}$) dos bezerros suplementados (S) e testemunhas (T) nos diferentes períodos

Parâmetros	70 dias		210 dias		240 dias	
	T	S	T	S	T	S
Cobre	0,539 $\pm$ 0,012	0,510 $\pm$ 0,012	0,676 $\pm$ 0,015	0,687 $\pm$ 0,015	0,797 $\pm$ 0,018	0,768 $\pm$ 0,019
Zinco	0,816 $\pm$ 0,040	0,779 $\pm$ 0,042	0,921 $\pm$ 0,036	0,950 $\pm$ 0,035	0,890 $\pm$ 0,018	0,915 $\pm$ 0,018
	Tempo					
	70		210		240	
Cobre	0,545 ^C $\pm$ 0,01		0,681 ^B $\pm$ 0,01		0,774 ^A $\pm$ 0,01	
Zinco	0,798 ^B $\pm$ 0,03		0,935 ^A $\pm$ 0,02		0,909 ^A $\pm$ 0,01	

T - testemunha (soro fisiológico); S - Suplementar (cobre: 15 mg aos 70 dias, 45 mg aos 140 dias e 60 mg aos 210 dias) e zinco (50 mg aos 70 dias, 150 mg aos 140 dias e 200mg aos 210 dias).

Não houve efeito significativo ($p>0,05$) dos tratamentos das vacas sob os teores séricos de Cu e Zn dos bezerros aos 70 dias de idade. Resultado que era esperado, pois não houve alteração significativa ($p>0,05$) da suplementação injetável nos teores de minerais nas vacas. Além disso, Xin et al. (1993) observaram que ocorre um aumento na demanda do fígado fetal no final da gestação, sendo que a vaca deficiente prioriza os teores de Cu para o feto, portanto, a avaliação do status de Cu e Zn podem não expressar o real status mineral das mães.

Não houve efeito significativo ($p>0,05$) da suplementação injetável de cobre e zinco aos 70, 140 e 210 dias de idades sobre os teores destes minerais no soro dos bezerros. Richeson e Kegley (2011), trabalhando com minerais injetáveis, também não verificaram alterações significativas nos teores de Zn e Cu no plasma de novilhas aos 28 dias após a aplicação.

Yoshikawa (2009), trabalhando com minerais injetáveis (Zn, Cu, Se e Mn) para bezerros Nelores recém-desmamados, também não encontrou diferença significativa ($p>0,05$) nos teores séricos de Zn entre os tratamentos. Entretanto,

houve alteração significativa ($p < 0,05$) ao longo do tempo, com redução no teor de Zn no período de 28 dias pós-desmama, semelhante ao observado neste experimento.

Realizando uma estimativa da ingestão de minerais pelos bezerros no período pós desmama, observa-se que os bezerros não apresentaram carência destes elementos neste período, pois os teores médios de minerais na pastagem e no suplemento mineral proteinado foram de 1,99 e 78 mg/kg de MS de Cu e de 8,65 e 238 mg/kg de MS de Zn, respectivamente. Estimando uma ingestão de volumoso de 2,0% do peso vivo médio de 240 kg e considerando o consumo médio de proteinado energético de 0,720 kg/dia, para uma exigência de 30 mg de Zn/kg e de 10 mg de Cu/kg de MS (NRC, 1996), verifica-se que os animais estavam ingerindo 65,61 mg/kg de Cu, 36,69% acima do recomendado (48 mg de Cu/kg) e 212,92 mg/kg de Zn, ou seja, 47,86% superior ao recomendado (144 mg de Zn/kg).

3.3.2 Desempenho

Os pesos médios e os ganhos de peso dos bezerros do nascimento aos 300 dias de idade nos diferentes tratamentos estão apresentados nas Figuras 11 e 12.

Figura 11. Peso médio (kg) dos bezerros dos 140 aos 270 dias de idade, em função dos diferentes tratamentos (T = bezerros testemunhas; S = bezerros suplementados)

Figura 12. Ganho de peso médio (kg/dia) dos bezerros dos 140 aos 300 dias de idade, em função dos diferentes tratamentos (T = bezerros testemunhas; S = bezerros suplementados).

Observando as Figuras 11 e 12, e os resultados da análise estatística, pode-se afirmar que o fornecimento de Cu e Zn injetável aos 70, 140 e 210 dias, não alteraram significativamente ($p>0,05$) o peso e o ganho de peso dos bezerros.

Berry et al. (2000), verificaram que o uso de 3 mL de um suplemento mineral injetável (Zn, Mn, Se e Cu) em bezerros mestiços na entrada do confinamento, os 60 mg de Zn e 30 mg de Cu (assim como os 15 mg de Se e 60 de Mn) não proporcionaram alterações significativas ($p>0,05$) no ganho de peso dos animais e na ocorrência de doenças.

Mora et al. (2010) e Luna et al. (2010), trabalhando com bovinos Brahman a pasto também não encontraram diferença significativa no peso vivo e no ganho de peso com o uso de cobre e zinco injetável.

Richeson e Kegley (2011) avaliaram o uso de dois minerais injetáveis em novilhas de corte altamente estressadas e observaram melhora no desempenho e na saúde destes animais. Entretanto, os autores comentaram sobre a inconsistência dos resultados dos estudos com minerais injetáveis, citando as possíveis diferenças

devido ao status mineral dos animais e também a variação no nível de mineral fornecido e dosagens utilizadas.

3.3.3 Imunoglobulinas

Os valores referentes às médias de IgM e IgG em função dos tratamentos nos diferentes períodos experimentais estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Médias e erros padrões (EP) dos teores séricos (mg/dL) de imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM) dos bezerros suplementados (S) e testemunhas (T).

Idade (dias)	Imunoglobulina G			Imunoglobulina M		
	T	S	EP	T	S	EP
70	342,77	338,32	12,6	125,94	128,34	5,10
140	424,60	391,27	15,9	108,16	112,50	4,49
170	452,59	441,17	19,1	97,82	97,54	4,52
210	564,92	527,51	16,9	63,44	65,07	3,36
240	597,18	571,12	23,9	34,87	40,50	2,54

T - testemunha (soro fisiológico); S - Suplementar (cobre: 15 mg aos 70 dias, 45 mg aos 140 dias e 60 mg aos 210 dias) e zinco (50 mg aos 70 dias, 150 mg aos 140 dias e 200mg aos 210 dias).

A suplementação injetável de cobre e zinco não alterou significativamente ($p>0,05$) a concentração de IgG e IgM no soro dos bezerros. Vilela et al. (2011a), avaliando fonte orgânicas e inorgânicas de Zn para bezerros recém desmamados, também não encontraram diferença significativas na produção de imunoglobulina G entre os tratamentos.

Moraes et al. (2001), avaliaram os efeitos de concentrações de zinco na mistura mineral de vacas em reprodução, sobre a resposta imune e a incidência de doenças em seus bezerros. Apesar de observarem maior incidência de doenças nos tratamentos sem Zn e com 30 mg/kg de Zn inorgânico em relação aos tratamentos com 30 mg/kg de Zn complexado e 60 mg/kg de Zn inorgânico, as concentrações de IgG e IgM não diferiram entre os tratamentos.

Houve efeito significativo ($p<0,05$) das concentrações de IgG e IgM ao longo do tempo. Independente do tratamento, os valores de IgM diminuíram em função do tempo, enquanto os valores de IgG aumentaram. Vilela et al. (2011b), verificaram que a concentração de IgM reduziu ou se estabilizou 28 dias após a desmama de

ovinos recebendo diferentes fontes e níveis de zinco, apenas os tratamentos com 200 mg/kg de zinco aminoácido e 400 mg/kg de zinco proteinado tiveram leve aumento. Já para a IgG, estes autores observaram que 600 mg/kg de óxido de zinco foi o que proporcionou curva de IgG acima dos demais tratamentos, e que ocorreu um pequeno aumento das concentrações de IgG no período avaliado.

3.3.4 Superóxido Dismutase

O resultado da análise da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD) nos bezerros aos 140 e 210 dias de idade estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Médias e erros padrões da atividade da enzima superóxido dismutase (U/g Hb) dos bezerros suplementados (S) e testemunhas (T) nos diferentes períodos.

Parâmetros	140 dias			170 dias		
	T	S	EP	T	S	EP
SOD	4.011,0	3.993,5	174,3	7.439,8	7.868,1	240,0

T - testemunha (soro fisiológico); S - Suplementar (cobre: 15 mg aos 70 dias, 45 mg aos 140 dias e 60 mg aos 210 dias) e zinco (50 mg aos 70 dias, 150 mg aos 140 dias e 200mg aos 210 dias).

Não houve efeito significativo ($p>0,05$) da suplementação injetável de cobre e zinco sobre a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) eritrocitária. Pode-se notar apenas uma tendência de aumento de 11,5% na atividade da SOD eritrocitária, no período de 140 para 170 dias de idade, no grupo S (3.874,62 U/g de Hb) em relação ao grupo T (3.428,87 U/g de Hb).

Prasad e Kundu (1995), observaram aumento da atividade da SOD no sangue dos bezerros desmamados que foram suplementados com Zn e Cu além do leite, em comparação aos animais não suplementados. Xin et al. (1991) trabalhando com bovinos holandeses, observaram que a atividade da SOD nas células vermelhas do sangue e no sangue total diminuiu no grupo deficiente (10mg/kg de Mo na forma de molibdato de amônio) em relação ao grupo suplementado com 20 mg/kg de Cu (CuSO_4).

Sharma et al. (2005), também observaram melhora significativa na atividade da SOD nas células vermelhas, nas células brancas e no sangue total, no prazo de 60 dias de tratamento para novilhas que receberam mistura mineral contendo Cu (CuSO_4) em relação ao grupo de novilhas Cu-deficientes.

Estes experimentos utilizaram animais Cu-deficientes, portanto, o resultado do presente experimento pode ter sido diferente devido ao fato dos bezerros estarem com teores séricos normais de Cu e Zn. Além disso, apesar de grande quantidade do Cu presente no eritrócito estar associados à SOD, Gengelbach e Spears (1998) observaram redução da atividade da SOD apenas no grupo de bezerros holandeses que receberam 5 mg/kg de Mo e após um período de 112 dias de suplementação. A atividade da SOD foi semelhante entre os grupos que receberam dieta sem suplementação, com 10 mg/kg de Cu ou com 5 mg/kg de Cu e 5 mg/kg de Mo.

3.3.5 Atividade Fagocitária

Os valores referentes às médias da atividade fagocítica em função dos tratamentos, estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Médias e erros padrões da atividade fagocitária (%) dos bezerros suplementados (S) e testemunhas (T) nos diferentes períodos.

Parâmetros	140 dias			170 dias		
	T	S	EP	T	S	EP
Fagocitose	73,12	74,21	3,31	65,81	61,63	3,30

T - testemunha (soro fisiológico); S - Suplementar (cobre: 15 mg aos 70 dias, 45 mg aos 140 dias e 60 mg aos 210 dias) e zinco (50 mg aos 70 dias, 150 mg aos 140 dias e 200mg aos 210 dias).

Não houve efeito significativo ($p > 0,05$) da suplementação injetável de cobre e zinco sobre a atividade fagocitária dos bezerros aos 140 e 170 dias de idade. Boyne & Arthur, (1986), verificaram redução da fagocitose e a capacidade bactericida contra *Candida albicans*, em bezerros com deficiência de cobre induzida pela administração de uma dieta contendo 5 mg/Kg de molibdênio ou 500 mg/Kg de ferro.

No presente experimento, não houve diferença significativa do teor do cobre sérico, dessa forma, não houve alteração da atividade fagocitária entre os tratamentos. Torre et al. (1996), verificaram que novilhas leiteiras recebendo 6-7 mg/kg de Cu na dieta basal ou 20 mg/kg de Cu, também não apresentaram diferença estatística tanto nos teores séricos de cobre como na fagocitose.

Sharma et al. (2005), observaram aumento significativo ($p < 0,01$) da atividade fagocitária dos neutrófilos contra *Candida albicans*, no prazo de 60 dias de

tratamento, entre o grupo de novilhas deficientes em cobre e o de novilhas suplementadas com Cu (CuSO_4). Entretanto, já com 30 dias de experimento, estes autores verificaram diferença significativa ($p < 0,01$) no teor de Cu no soro das novilhas, mas não houve diferença significativa no teor de Zn sérico.

3.4 CONCLUSÃO

Nas condições deste experimento, em que os bezerros estavam recebendo teores de Cu e Zn adequados, a suplementação parenteral destes minerais aos 70, 140 e 210 dias de idade, não alteraram os teores séricos de cobre, zinco e superóxido dismutase, a resposta imunológica até os 240 dias de idade, assim como no ganho de peso até os 300 dias de idade.

Novas pesquisas precisam ser realizadas a fim de verificar o efeito da suplementação parenteral de cobre e zinco em bezerros recebendo teores inadequados destes minerais na dieta.

3.5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERRY, B. A. et al. Efficacy of Multimin TM improving performance and health in receiving cattle. Oklahoma State University. **Animal Science Research Report**, p.61-64, 2000.

BOHMAN, V. R., E. L. DRAKE, AND W. C. BEHRENS. Injectable copper and tissue composition of cattle. **Journal of Dairy Science**, v.67, n.7, p.1468-1473, 1984.

BOYNE, R., ARTHUR, J. R. Effects of molybdenum or iron induced copper deficiency on the viability and function of neutrophils from cattle. **Research in Veterinary Science**, v.41, n.3, p.417-419, 1986.

CORRÊA, E. S. et al. **Desempenho reprodutivo em um sistema de produção de gado de corte**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 2001, Documentos, 13.

EUCLIDES, V.P.B. Avaliação de diferentes métodos de amostragem (para estimar o valor nutritivo de forragens) sob pastejo. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.21, n.4, p.691-702, 1992.

FICK, K. R.; MCDOWELL, L. R.; MILES, P. H.; WILKINSON, N. S.; FUNK, D. J.; CONRAD, J. H. **Methods of mineral analysis for plant and animals tissues**. 2.ed. Gainesville: Dept. Anim. Sci., Univ. of Florida, 1979. 90p.

GENGELBACH, G. P.; SPEARS, J. W. Effects of dietary copper and molybdenum on copper status, cytokine production, and humoral immune response of calves. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.3286-3292, 1998.

LUNA, R. E. E. et al. Suplementación parenteral con cobre y zinc em bovinos brahman en crecimiento en la región sur Occidental de Venezuela. **Revista Científica**, v. 20, n.5,p. 519-528, 2010.

MORA, R.; HERRERA, A.; SÁNCHEZ, D.; CHICCO, C.; GODOY, S.; DEPABLOS, L. Suplementación parenteral con cobre y zinc en vacunos machos mestizos Brahman en los Llanos Occidentales de Venezuela. **Revista de la Facultad de Agronomía**. v.36, n.3, p.83-94, 2010.

MORAES, S.S.; NICODEMO, M.L.F.; VAZ, E.C.; PIRES, P.P.; CATANANTE, M.C.; S.THIAIGO, L.R.L. de; VIEIRA, J.M.; FONSECA, E.M. Avaliação da deficiência subclínica de zinco em vacas de cria e a relação com a higidez de seus bezerros. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, (COT Nº 65), p.7, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1996. **Nutrient Requirements of beef cattle**. National Academy Press, 7ed., Washington, 242p.

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

PRASAD, T.; KUNDU, M. S. Serum IgG and IgM responses to sheep red blood cells in weaned calves fed milk supplemented with Zn and Cu. **Nutrition**, v.11, p.712-715, 1995.

RICHESON J. T., KEGLEY E. B. Effect of Supplemental trace minerals from injection on health and performance of highly stressed, newly received beef heifers. **The Professional Animal Scientist**. v. 27, p. 461–466, 2011.

SAS Institute Inc.2009. SAS Online Doc® Version 9.2. SAS Institute Inc , Cary, NC (2009).

SHARMA, M.C.; JOSHI, C.; PATHAK, N.N.; KAUR, H. Copper status and enzyme, hormone, vitamin and immune function in heifers. **Research Veterinary Science**, v.79, p.113-123, 2005.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária uma introdução**. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008

TORRE, P.M., HARMON, R.W.HEMKEN, CARK, D.S et al. Mild dietary copper, insufficiency depresses blood neutrophil function in dairy cattle. **Journal of Nutritional Immunology**, v.4, n.3, p.3-24, 1996.

VILELA, F.G. et al. Suplementação de dietas para bezerros nelore recém desmamados com fontes de zinco orgânica e inorgânica. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.12, n.4, p.1008-1015, 2011a.

VILELA, F.G. et al. Biodisponibilidade de fontes orgânicas e inorgânicas de zinco em ovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.2, p.448-455, 2011b.

XIN, Z.; WATERMAN, D.F.; HEINKEN, R.W.; HARMON, R.J. Effect of copper status on neutrophil function, superoxide dismutase and copper distribution in steer. **Journal Dairy Science**, Savoy, v.74, n.9, p.3078-3085. 1991.

XIN, Z. et al. Copper status and requirement during the dry period and early lactation in multiparous Holstein cows. **Journal Dairy Science**, Savoy, v.76, n.9, p.2711-2716, 1993.

YOSHIKAWA, C. Y. C. **Efeitos da suplementação mineral injetável em Bezerros Nelore na desmama**. 2009. 38 f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.