



**Universidade dos Açores**

Departamento de Ciências Agrárias

**Avaliação da Administração de  
Oligoelementos nas Performances  
Reprodutivas no Pós-Parto em Nulíparas**

**Helder Patrício Barcelos Nunes**

**Orientadores:**

Prof. Doutor Alfredo Emílio Silveira de Borba

Prof. Doutor Joaquim Fernando Moreira da Silva

**Mestrado em Engenharia Zootécnica**

**Angra do Heroísmo**

**2010**

*“Ninguém é tão grande que não possa aprender, nem tão pequeno que não possa ensinar”*

*Píndaro*

## **Agradecimentos**

Ao terminar este trabalho, gostaria de agradecer o apoio, a colaboração e a compreensão de todos aqueles que contribuíram, directa ou indirectamente, para que fosse possível terminar mais esta etapa.

Aos meus orientadores Professor Alfredo Borba e Professor Fernando Moreira da Silva. Ao Professor Alfredo Borba agradeço por ter aceitado ser meu orientador, pela sua disponibilidade e pela ajuda dada na elaboração e na correcção da tese. Ao Professor Moreira da Silva que, para além de orientador, foi um amigo fundamental para a concretização deste trabalho, pois muito me aturou e ajudou em tudo o que precisei, demonstrando ter uma enorme paciência e amizade para com os seus alunos. Um orientador não é um chefe, é um amigo em quem podemos confiar e que está sempre pronto a ajudar-nos nos momentos mais difíceis, esta foi a melhor definição que encontrei para descrever o Professor Moreira.

Ao Sr. Jorge Ávila, por facultar os animais para realização deste estudo, pela sua disponibilidade e boa disposição.

À Erica, pela ajuda no tratamento estatístico dos dados.

A todos os colegas que foram para o campo comigo (apanhando muitas vezes chuva!) mas que me ajudaram, quer na identificação dos animais, quer na recolha do sangue.

A toda a minha família, que sempre me aturou, ajudou e apoiou, não só no mestrado, mas em tudo o que precisei.

Aos meus pais, pelos mais diversos sacrifícios suportados, em especial à minha mãe pelo apoio, compreensão e encorajamento para terminar este trabalho.

À minha irmã, Daniela, que tanta paciência teve comigo ajudando-me e motivando-me para concluir este trabalho.

A todos, o meu muito OBRIGADO!

**Resumo**

Este trabalho tem como objectivo a avaliação da administração de oligoelementos nas performances reprodutivas no pós-parto em nulíparas da raça *Holstein Friesian*. Para isso, um total de vinte e seis novilhas gestantes, com 200 ( $\pm 21$ ) dias de gestação, foram distribuídas aleatoriamente por dois grupos, controlo e experimental. Aos animais pertencentes ao grupo experimental (n=13) foram administradas, sessenta dias antes do parto, duas cápsulas intra-ruminais de libertação lenta com oligoelementos. No grupo controlo não foi efectuado qualquer tratamento. Imediatamente antes da colocação dos oligoelementos, foi retirado sangue periférico, a partir da veia coccígea, a todos os animais, tendo sido determinados os valores de oligoelementos no soro, bem como os níveis plasmáticos de progesterona. Semanalmente, com início no dia a seguir ao parto e durante onze semanas foi retirado sangue para determinação, semanal da progesterona. Na primeira recolha a seguir ao parto e na oitava recolha após esta, foi ainda retirado sangue para a determinação dos oligoelementos. Após a recolha, as amostras foram congeladas a  $- 20^{\circ}\text{C}$  em microtubos de 2 ml até se proceder à sua análise: os oligoelementos foram determinados por espectrofotometria de absorção atómica e a progesterona pela técnica ELFA.

Aquando da primeira avaliação de oligoelementos, efectuada sessenta dias antes do parto, não se registaram diferenças significativas entre os dois grupos, quer para os oligoelementos, quer para a progesterona. Após o parto e passados sessenta dias, verificaram-se aumentos significativos ( $p < 0,05$ ) nas concentrações séricas do cobre e do selénio, no grupo experimental, quando

comparados com os valores obtidos antes do parto. Para os restantes oligoelementos não foram observadas diferenças significativas.

Relativamente aos valores de oligoelementos obtidos, verificou-se que antes do parto, todos os animais em estudo apresentavam carências em selênio, cobre e iodo e com valores normais para o manganês. Após o parto, para o grupo experimental observou-se que 71,43% dos animais apresentaram valores adequados para o cobre enquanto para o selênio nenhum animal apresentou valores adequados. Para o grupo controlo, apenas 50% dos animais atingiram valores considerados normais, e, tal como no grupo experimental nenhum dos animais apresentou valores adequados para o selênio.

Quanto aos aspectos reprodutivos, no grupo experimental, cinco semanas após o parto, observou-se que 70% das vacas estavam cíclicas, enquanto no grupo controlo, em igual período de tempo, apenas 33% dos animais tinham entrado em cio. Além disso, verificou-se uma tendência para o aumento dos valores de progesterona observados na fase luteínica no grupo controlo quando comparados com o grupo experimental.

Tendo em conta as condições em que este trabalho foi realizado, podemos concluir que a administração de duas cápsulas intra-ruminais de libertação lenta com oligoelementos, sessenta dias antes do parto, em nulíparas, reduz o período de anestro pós-parto, podendo aumentar a qualidade do corpo luteínico.

**Palavras-Chave:** Oligoelementos, Nulíparas, *Holstein Friesian*, Anestro pós-parto

## Abstract

This study aims to evaluate the administration of trace elements in the reproductive performance of postpartum nulliparous *Holstein Friesian* breed. For this, a total of twenty-six pregnant heifers, with 200 ( $\pm$  21) days of pregnancy were randomly assigned in two groups: control and experimental. In animals from the experimental group (n = 13) sixty days before the partum, two capsules intra-ruminal slow-release with trace elements were administrated, while in the control group no treatment was performed. Immediately prior to placement of trace elements, blood was collected from of all animals to evaluate the values of trace elements, namely Iodine, Manganese, Selenium and Copper as well as progesterone levels, respectively in serum and plasma. In the day subsequently to partum and weekly for eleven weeks, blood was collected to assess levels of progesterone. The values of trace elements were evaluated on the subsequent day to partum and after sixty days. After collection, samples were frozen at - 20°C in 2 ml microtubes to proceed with its analysis: trace elements were determined by atomic absorption spectrophotometry and progesterone by the ELFA technique.

At the first assessment of trace elements, made sixty days before calving, no significant differences between the two groups were observed, either for trace elements, or for progesterone. After delivery and after sixty days, significant increases ( $p < 0.05$ ) in serum copper and selenium were observed between both groups when compared with values obtained before partum. For the remaining trace elements no significant differences were observed.

For the values of trace elements, it was found that before partum, all animals in the study had deficiencies in selenium, copper and iodine and with

normal values for manganese. After delivery, the experimental group showed that 71.43% of the animals showed appropriate values for the copper while for selenium the animal had no proper values. For the control group, only 50% of animals reached normal limits, and, as in the experimental group of animals showed no appropriate values for selenium.

Regarding reproductive characteristics, the experimental group, five weeks after partum, showed that 70% of cows were cyclic, while in the control group in the same period of time, only 33% of animals had come to estrus. Moreover, there was a trend for increased values observed in the luteal phase progesterone in the control group when compared with experimental group.

Given the conditions in which this work was performed, it can be concluded that the administration of two capsules intra-ruminal slow-release with trace elements, sixty days before delivery in nulliparous cows, reduces the period of postpartum anestrus, increasing moreover the quality of corpora lutea.

**Keywords:** Trace elements; Nulliparous; Holstein Friesian; Postpartum anestrus

---

---

## Índice Geral

<b>Agradecimentos</b> .....	<b>ii</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>iii</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>v</b>
<b>Índice de Quadros</b> .....	<b>x</b>
<b>Índice de Figuras</b> .....	<b>xi</b>
<b>Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos</b> .....	<b>xii</b>
<b>I – Introdução</b> .....	<b>1</b>
<b>II – Revisão Bibliográfica</b> .....	<b>5</b>
1 – Nutrição nos Bovinos .....	<b>5</b>
1.1 – Nutrição Mineral .....	<b>5</b>
1.1.1 - Classificação dos minerais .....	<b>5</b>
1.1.2 - Interação entre os minerais.....	<b>5</b>
1.1.3 - Noção de oligoelementos .....	<b>7</b>
1.2 – Papel dos Oligoelementos nos Bovinos .....	<b>8</b>
1.2.1 - Necessidades de oligoelementos .....	<b>8</b>
1.2.2 - Funções dos oligoelementos .....	<b>10</b>
1.2.3 - Oligoelementos e a reprodução .....	<b>12</b>
1.2.4 - Oligoelementos na gestação, parto e pós parto ....	<b>12</b>

---

1.3 – Oligoelementos com maior importância na reprodução.....	14
1.3.1- Cobre.....	14
1.3.1.1 - Deficiências de Cobre .....	20
1.3.1.2- Toxicidade do Cobre .....	21
1.3.1.3 - Cobre e a Reprodução .....	22
1.3.2 – Iodo .....	23
1.3.2.1 - Deficiências de Iodo .....	25
1.3.2.2 - Toxicidade do Iodo .....	27
1.3.2.3 - Iodo e a Reprodução .....	28
1.3.3 – Manganês.....	29
1.3.3.1 – Deficiências de Manganês.....	31
1.3.3.2 – Toxicidade do Manganês.....	32
1.3.3.3 – Manganês e a Reprodução.....	32
1.3.4 – Selênio .....	33
1.3.4.1 – Deficiências de Selênio.....	39
1.3.4.2 – Toxicidade do Selênio .....	40
1.3.4.3 – Selênio e a Reprodução .....	41
2 – Reprodução .....	43
2.1 – Anestro pós-parto.....	43
<b>III – Materiais e Métodos .....</b>	<b>48</b>
3.1 – Administração de cápsulas intra-ruminais de libertação lenta ( <i>All-Trace</i> <sup>®</sup> ) .....	48
3.2 – Recolha de dados.....	50
3.3 – Recolha de sangue.....	50

---

3.4 - Preparação e conservação das amostras.....	51
3.5 – Procedimentos analíticos para determinação das concentrações de progesterona e dos oligoelementos .....	51
3.6 - Análise estatística dos dados .....	52
<b>IV – Resultados.....</b>	<b>53</b>
4.1 – Concentração plasmática de progesterona.....	53
4.2 – Concentrações dos oligoelementos no soro sanguíneo .....	55
4.2.1 – Cobre .....	55
4.2.2 – Manganês .....	57
4.2.3 – Selênio .....	59
4.2.4 – Iodo.....	61
<b>V – Discussão .....</b>	<b>64</b>
<b>VI – Conclusões e Perspectivas Futuras.....</b>	<b>71</b>
<b>VII – Referências Bibliográficas .....</b>	<b>72</b>

---

**Índice de Quadros**

<b>Quadro 1</b> – Níveis recomendados de oligoelementos para bovinos pelos principais sistemas nutricionais (ppm) e o teor máximo permitido pela EU .....	<b>9</b>
<b>Quadro 2</b> – Funções das enzimas dependentes do cobre e efeitos patológicos nos animais.....	<b>18</b>
<b>Quadro 3</b> – Critérios de classificação dos níveis de manganês no sangue, soro e fígado de bovinos.....	<b>30</b>
<b>Quadro 4</b> – Valores da concentração de Se no sangue e no Soro.....	<b>38</b>
<b>Quadro 5</b> - Constituintes analíticos das cápsulas intra-ruminais de libertação lenta <i>All-trace</i> <sup>®</sup> .....	<b>49</b>
<b>Quadro 6</b> - Distribuição da percentagem de animais que apresentavam estatuto: deficiente (< 76 µg/dl) e adequado (76 a 154 µg/dl) em cobre.....	<b>57</b>
<b>Quadro 7</b> – Distribuição da percentagem de animais que apresentavam estatuto: Deficiente (< 5 µg/dl), Adequado (6 a 70 µg/dl) e Marginal (6 a 70 µg/dl) em manganês .....	<b>59</b>
<b>Quadro 8</b> – Distribuição da percentagem de animais que apresentavam estatuto: Deficiente (< 30 µg/L), Adequado (> 70 µg/L) e Marginal (30 a 70 µg/L) em Selénio.....	<b>60</b>
<b>Quadro 9</b> – Distribuição da percentagem de animais que apresentavam estatuto: Deficiente (< 54,05 nmol/L), Adequado (54,05 a 110,68 nmol/L) e Excesso (> 110,68 nmol/L) em Tiroxina.....	<b>62</b>

---

**Índice de Figuras**

<b>Figura 1</b> – Esquema da mobilidade do cobre pelo organismo .....	<b>16</b>
<b>Figura 2</b> – Dinâmica folicular, ovulação e concentração da hormona folículo estimulante (FSH), progesterona ( $P_4$ ), estradiol ( $E_2$ ) e a frequência dos pulsos da hormona lutinizante (LH) em bovinos de leite.....	<b>46</b>
<b>Figura 3</b> – Variação média dos níveis de progesterona plasmática desde a oitava semana antes do parto até à décima primeira semana após o parto.....	<b>53</b>
<b>Figura 4</b> – Percentagem acumulada de vacas que entraram em cio nas primeiras onze semanas após o parto .....	<b>54</b>
<b>Figura 5</b> – Níveis de cobre no soro sanguíneo em três fases: 60 dias antes do parto, no parto e 60 dias após o parto.....	<b>56</b>
<b>Figura 6</b> – Níveis de manganês no soro sanguíneo em três fases: 60 dias antes do parto, no parto e 60 dias após o parto .....	<b>58</b>
<b>Figura 7</b> – Níveis de selênio no soro sanguíneo em três fases: 60 dias antes do parto, no parto e 60 dias após o parto.....	<b>59</b>
<b>Figura 8</b> – Níveis de tiroxina no soro sanguíneo em três fases: 60 dias antes do parto, no parto e 60 dias após o parto.....	<b>62</b>

## Lista de Abreviaturas, siglas e símbolos

BEN – Balanço Energético Negativo

Ca – Cálcio

CC – Condição corporal

CCS – Contagem de Células Somáticas

CIRLL – Cápsulas intra-ruminais de Liberação Lenta

Cu – Cobre

ELFA- Enzyme Linked Fluorescent Assay

Fe – Ferro

FSH - Hormona Estimuladora dos Folículos

g – Grama

GSH-pxe – Glutathione peroxidase

I – Iodo

Kg – Quilograma

L – Litro

LH – Hormona Luteinizante

mg – Miligrama

ml – Mililitro

Mn – Manganês

Mo – Molibdênio

MS – Matéria Seca

Na – Sódio

ng – Nanograma

nmol – Nanomoles

NRC – National Research Council

OE – Oligoelementos

P – Fósforo

P<sub>4</sub> – Progesterona

pH – Potencial Hidrogeniônico

ppm – partes por milhão

## Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

---

S – Enxofre

Se – Selénio

T<sub>3</sub> – Triiodotironina

T<sub>4</sub> – Tetraiodotironina (Tiroxina)

TM's – Tiomolibdatos

Zn – Zinco

µg – Micrograma

µmol – micromoles

### I - Introdução

A Produção Animal possui, nos Açores, uma enorme importância na economia regional, uma vez que grande parte da indústria depende, directa ou indirectamente, desta actividade.

Com o intuito de rentabilizar as explorações, muitos agricultores, optaram por aumentar a produção de leite, a qual tem sido possível através de uma forte selecção genética bem como através da optimização dos programas de nutrição dos animais. Não só a produção de leite por si só tem sofrido um significativo aumento desde então, como também a forma da curva de lactação tem-se alterado significativamente, uma vez que a maior produção se concentra no início do período de lactação. Relativamente ao melhoramento genético, para além de importação de animais principalmente da Europa, a inseminação artificial, recorrendo a sémen de touros de elevado valor genético, importado dos Estados Unidos da América e do Canadá, é a técnica mais utilizada para o melhoramento genético de praticamente a totalidade das explorações Açorianas.

Diversos estudos têm demonstrado que vacas de alta produção estão associadas a um declínio nas performances reprodutivas, originando perdas económicas importantes para os produtores de leite. Para além dos factores genéticos, Smith e Akinamilo (2000) e Lucy (2007), apresentaram a nutrição como outra das principais causas para o declínio da fertilidade nos bovinos, para além da idade, condição corporal, período de gestação e a fase de lactação, entre outros. Apesar da importância da alimentação durante o período de produção, os últimos dois meses de gestação (período de secagem da vaca) e o início da lactação são os mais importantes no que se refere ao

manejo nutricional dos animais. Uma alimentação bem equilibrada no período em que a vaca se encontra seca, satisfazendo as necessidades em energia, proteína, vitaminas e minerais, para além de evitar distúrbios metabólicos no periparto, as vacas obtêm uma condição corporal adequada, evitando que haja um acentuado balanço energético negativo nas primeiras semanas de lactação, o que é prejudicial para as performances reprodutivas dos bovinos (Roche, 2006). Nas últimas semanas de gestação verifica-se um declínio na capacidade de ingestão de matéria seca (MS), o que resulta num baixo consumo de vitaminas e minerais, tornado os animais ainda mais sujeitos à imunossupressão que caracteriza o periparto (Mulligan *et al.*, 2006; Wilde, 2006).

Em vacas de alta produção, aproximadamente 70% da produção de leite ao longo da lactação ocorre nas primeiras semanas após o parto (Moreira da Silva *et al.*, 1997) o que exige dos animais um grande dispêndio de energia, ficando os animais em balanço energético negativo (BEN), isto é, as vacas não são capazes de suprimir as suas próprias necessidades em energia, para a manutenção e para a produção de leite. Vários estudos, como os de Butler (2000), verificaram que o balanço energético nas três primeiras semanas após o parto está altamente correlacionado com o intervalo de tempo entre o parto e a primeira ovulação. Foi observado que vacas gordas, ou seja, com uma condição corporal superior a 4 (numa escala de 1 a 5) na altura do parto muitas vezes apresentam uma redução do apetite, acabando por ter um BEN mais elevado quando comparadas a animais que apresentam uma condição corporal normal (entre 3 a 3,5), além de estar também associada a problemas na fertilidade no pós-parto (Rukkwamsuk *et al.*, 1998; Roche, 2006).

O manejo das vacas secas e das novilhas, é diferente do das vacas em lactação. As vacas secas, bem como as novilhas são normalmente separadas da restante manada, realizando, apenas o pastoreio directo, sendo comum verificar-se subnutrição, provocando desequilíbrios minerais responsáveis pela diminuição das suas performances produtivas e reprodutivas, uma vez que em muitos casos a pastagem não contém os níveis suficientes de oligoelementos. Esta situação, agrava-se ainda mais nos Açores, devido aos solos serem de origem vulcânica que, por norma, são pobres em iodo, selénio, cobre, cobalto e zinco (Pinto *et al.*, 2007<sup>a</sup>).

Apesar de os minerais serem exigidos em quantidades mínimas quando comparados com outros componentes da dieta do animal, estes desempenham funções vitais tanto na fermentação do rúmen, como no metabolismo dos animais. Sabe-se hoje que dentro dos minerais, os oligoelementos têm uma maior influência que os macroelementos, isto porque os oligoelementos são componentes de diversas funções, tais como crescimento, imunidade e sobretudo a reprodução (Smith e Akinamilo, 2000), sendo constituintes activos de diversos sistemas enzimáticos, de hormonas e de vitaminas, contribuindo, inclusive, para que não ocorram alterações homeostáticas no organismo. A deficiência de oligoelementos pode causar diversas desordens reprodutivas, das quais destaca-se as manifestações deaios fracos após o parto, podendo mesmo alguns serem silenciosos e de baixa fertilidade (Alves, 2009).

Deste modo a suplementação com oligoelementos em bovinos deve ser utilizada como uma ferramenta para aumentar os índices de produtividade, os quais passam necessariamente pelo melhoramento do desempenho reprodutivo, e não somente para evitar sinais de carência de minerais.

Neste sentido este trabalho tem como objectivos avaliar a influência da administração de oligoelementos nas performances reprodutivas de novilhas, nomeadamente no tempo de anestro pós-parto, na qualidade do corpo lúteo, na duração do ciclo ovárico e na manifestação dos cios após o parto.

## **II - Revisão Bibliográfica**

### **1 - Nutrição nos Bovinos**

#### **1.1 – Nutrição Mineral**

##### **1.1.1 - Classificação dos minerais**

Os minerais podem ser classificados de diversas formas. Por norma, na nutrição, utiliza-se as classificações que tem como base a interpretação das necessidades e/ou as regras nutricionais (McDowell, 2003).

Tendo como base a quantidade de mineral requerida na dieta dos animais pode-se dividir os minerais em duas categorias, os macromelementos, necessários em quantidades elevadas (gramas por Kg de MS) quando comparados com microelementos ou oligoelementos (OE), sendo estes também fundamentais aos animais, mas em quantidades mais pequenas (miligramas por Kg de MS) (Nielsen, 1991; NRC, 2001). Schroeder (2004), refere que os macromelementos, são geralmente expressos em percentagem por Kg de MS, enquanto os oligoelementos são expressos em partes por milhão (ppm).

##### **1.1.2 - Interacção entre os minerais**

A suplementação de minerais aos bovinos não é tão linear como possa parecer. Pois a absorção dos minerais vai depender de diversos factores, nomeadamente, a idade, a raça, o sexo, as condições ambientais, o pH intestinal e o estado fisiológico animal (McDowell, 2003).

Para além dos factores apresentados, sabe-se que no metabolismo dos animais os minerais podem interagir entre si ou com outros factores. Estas interacções podem ser antagónicas ou sinérgicas, ocorrendo no próprio alimento, no tracto digestivo, nos tecidos ou mesmo no metabolismo celular, potencializando ou diminuindo a absorção dos minerais pelos animais (McDowell, 1999; Underwood e Suttll, 1999).

O antagonismo define-se como o efeito contrário produzido por um elemento sobre o outro ou sobre uma função bioquímica no organismo (Filappi *et al.*, 2005).

Interacções sinérgicas são aquelas em que os elementos aumentam mutuamente a sua absorção no tracto digestivo, desempenhando as suas funções ao nível metabólico, quer no tecido ou quer na célula. A interacção sinérgica entre os elementos pode ser directa ou indirecta. Um exemplo de uma interacção directa é a relação entre Ca/P, Na/Cl ou o Zn/Co em que o nível de absorção é que determina as proporções na dieta. Wellington *et al.* (1998) verificaram que a absorção do cobre pelo fígado diminui 41% em 90 dias quando foi adicionado, diariamente, 90 ppm zinco na dieta do animal.

Uma interacção sinérgica indirecta é realizada entre elementos com a mesma função estrutural, exemplo desta situação é as interacções entre o Ca/P ou a interacção entre o Cu e o Fe na formação da hemoglobina. Pode-se verificar outro exemplo de interacção sinérgica indirecta no centro activo de algumas enzimas, com a participação em simultâneo de dois elementos minerais, como é o caso do Fe e Mo na xantina oxidase ou do Cu e Fe na citocromo oxidase (Andrade, 2009).

### 1.1.3 – Noção de oligoelementos

Os minerais no organismo representam cerca de 4 a 5% do peso total dos animais (Domingues *et al.* 2001). Contudo, os oligoelementos, essenciais ao metabolismo dos animais, estão presentes nos tecidos mas em doses infinitesimais, representando apenas cerca de 0,01% do peso vivo de um organismo.

Um mineral pode ser considerado essencial quando se verifica que a carência deste provoca uma deficiência ou um impedimento no desenvolvimento de uma determinada função biológica ou quando induz disfunções estruturais ou fisiológicas no organismo (Unger *et al.*, 2008).

Na União Europeia (UE) os oligoelementos que podem ser administrados aos bovinos são o Cu, o Co, o Mn, o Zn, o Se, o Fe, o I e o Mo, tal como consta da directiva comunitária nº 1334/2003. A regulamentação vigente na EU tem como argumentos principais proteger a saúde do consumidor final, proteger a saúde dos animais e proteger o meio ambiente, uma vez que os limites entre os níveis essenciais e tóxicos de oligoelementos são bastantes estreitos, isto porque elevadas concentrações de micro minerais podem causar graves danos na saúde dos humanos e animais, podendo também prejudicar severamente o ambiente, em casos extremos pode mesmo levar à morte dos organismos (Valle, 2002)

Para além dos oligoelementos essenciais, fundamentais para o bom funcionamento dos organismos, existem outros que são indesejados na alimentação dos animais, tais como o Arsénico, Vanádio, Cádmio, Flúor, Chumbo, Mercúrio, Alumínio, Bromo, Estrôncio, Cromo e Níquel, que mesmo em pequenas quantidades podem ser tóxicos para os seres vivos.

Os oligoelementos são constituintes de hormonas, de vitaminas e de sistemas enzimáticos, actuando de diferentes maneiras, como componentes estruturais das enzimas ou como co-factores das mesmas. Estes também podem participar em interacções iónicas que afectam a permeabilidade celular actuando como catalizadores directos de algumas reacções biológicas (Moro *et al.*, 1999; Unger *et al.*, 2008).

Uma adequada ingestão e absorção de oligoelementos é necessária para inúmeras funções metabólicas como o crescimento, a imunidade e a reprodução, uma vez que é mais comum os oligoelementos estarem envolvidos em distúrbios reprodutivos do que os macroelementos (Boland, 2003).

As deficiências severas em oligoelementos provocam uma diminuição da eficácia das vias metabólicas, em situações em que a carência é severa pode mesmo ocorrer o bloqueio das mesmas, com repercussões sobre a saúde do animal, reflectindo-se na produtividade dos animais. As carências severas são facilmente reconhecidas, contudo é difícil reconhecer as deficiências marginais ou os excessos, isto quando não ocorre a toxicidade, esta situação acontece devido à inexistência de sinais clínicos característicos e à existência de muitas interacções, principalmente entre os oligoelementos.

## **1.2 – Papel dos Oligoelementos nos Bovinos**

### **1.2.1 - Necessidades de oligoelementos**

Nos ruminantes, as necessidades dos oligoelementos não são conhecidas de um modo exacto, isto deve-se à interacção entre os diferentes

oligoelementos que alteram a eficiência da absorção, como já foi referido no ponto interacção entre minerais.

As exigências das vacas leiteiras em minerais são afectadas por diversos factores, nomeadamente: idade, gestação, nível de produção e taxa de crescimento, no caso das novilhas (NRC, 2001).

Não existe um consenso, entre os diferentes sistemas nutricionais, sobre quais as reais necessidades de oligoelementos em bovinos.

O NRC (2001) é o único sistema nutricional de ruminantes que tem em conta a biodisponibilidade dos oligoelementos no organismo, nas suas recomendações (Devant e Bach, 2004).

O teor máximo de oligoelementos permitido pela UE é superior aos recomendados pelos principais sistemas nutricionais (Quadro 1).

**Quadro 1** – Níveis recomendados de oligoelementos para bovinos pelos principais sistemas nutricionais (ppm) e o teor máximo permitido pela UE

<b>Oligoelementos</b>	<b>Teor máximo de OE permitidos na EU</b>	<b>ARC (1980)</b>	<b>INRA (1989)</b>	<b>NRC (2001)</b>
<b>Iodo</b>	10	0,5	0,8	0,45
<b>Cobalto</b>	2	0,08-0,1	0,10	0,11
<b>Cobre</b>	35	12-19	10	16
<b>Manganês</b>	150	20-25	50	17
<b>Zinco</b>	150	48	50	30
<b>Selénio</b>	0,5	0,03-0,05	0,10	0,3

Adaptado de Devant e Bach (2004)

### 1.2.2 - Funções dos oligoelementos

Os minerais essenciais podem desempenhar diversas funções, contudo Underwood e Suttle (1999) defende que existem quatro funções principais: a nível estrutural, fisiológico, catalítico e regulador em que é fundamental a presença de minerais, no entanto, estas funções não são exclusivas de um elemento em particular, podendo um único elemento desencadear mais do que uma função no mesmo animal. Um exemplo ao nível estrutural é a contribuição do zinco para manter a estabilidade das membranas moleculares, quanto à função fisiológica podemos referir os fluidos e tecidos corporais que agem como electrólitos para manter a pressão osmótica.

Larson (2005) refere que oligoelementos são essenciais como componentes estruturais de metaloenzimas. A actividade enzimática baixa consideravelmente, ou deixa de funcionar por completo, quando existe a falta de um oligoelemento ou estes aparecem apenas em níveis vestigiais. As metaloenzimas são fundamentais para o funcionamento do organismo, sendo necessárias para as mais diversas actividades metabólicas, tais como a produção de energia, digestão de proteínas, replicação celular, actividade antioxidante e cicatrização.

Os minerais estão presentes em todo o organismo, sob diferentes formas funcionais, combinações e concentrações. As concentrações dos minerais são reguladas por diversos mecanismos de forma a garantir a estrutura e o bom funcionamento dos tecidos e das células, reflectindo-se assim no crescimento, na saúde e na produtividade animal (Andrade, 2009).

Os oligoelementos presentes no organismo nem sempre estão nas concentrações mais indicadas, existindo situações em que o desequilíbrio

mineral pode ser agudo, causando graves problemas ao animal. Contudo, uma deficiência subclínica ou marginal, poderá ser mais grave, uma vez que os sintomas clínicos não são tão evidentes para que leve o produtor a reconhecer a deficiência, fazendo com que o animal não alcance as performances desejadas durante um longo período de tempo (Larson, 2005).

Contudo, Mohebbi-Fani *et al.* (2009) defendem que a deficiência de oligoelementos, nomeadamente do cobre, por vezes é mais uma consequência secundária de doenças debilitantes do que falta destes na dieta. Estes mesmos autores verificaram que, em animais estabulados, os níveis de oligoelementos eram mais baixos em bovinos de carne do que em vacas leiteiras.

Nas situações em que os níveis de oligoelementos não são os adequados, alguns dos mecanismos do organismo são activados de modo a minimizar as perdas e aumentar a absorção dos minerais. Porém, existe um limite fisiológico em que o organismo consegue superar a falta dos minerais, a partir daí existem funções que começam a ser afectadas. Em primeiro lugar são afectadas as funções imunitárias e enzimáticas, em seguida verifica-se uma redução no máximo da produção e de fertilidade, por fim o crescimento, a produção e a fertilidade são severamente afectados, ficando apenas o organismo em manutenção de modo a garantir a sua sobrevivência (Larson, 2005; Mulligan *et al.*, 2006).

### 1.2.3 - Oligoelementos e a reprodução

As performances reprodutivas dos bovinos podem ser comprometidas, quando se verifica deficiências de oligoelementos nos animais (Boland, 2003). Frequentemente associa-se a falta de oligoelementos, nomeadamente cobre, zinco, manganês e selênio, a alguns problemas reprodutivos, tais como o atraso ou a supressão do estro, diminuição da taxa de concepção, infertilidade, morte embrionária, abortos, alteração na contratilidade miometrial, retenção de placenta e dificuldades no parto (Maas 1987; Phillip *et al.*, 1987; Corah e Ives, 1991).

### 1.2.4 - Oligoelementos na gestação, parto e pós parto

Hostetler *et al.* (2003) provaram que os oligoelementos atravessam a barreira placentária e mamária, verificando-se que elevados níveis de oligoelementos no sangue das fêmeas gestantes está correlacionado positivamente com os níveis destes no feto. Contudo, Pavlata em 2004 refere que os oligoelementos chegam ao feto em níveis residuais desempenhando funções importantes para o desenvolvimento intra-uterino.

A carência de oligoelementos, nesta fase, pode implicar um risco na gravidez, podendo ter um impacto negativo na saúde e no crescimento normal do feto. Em situações de carências severas o desenvolvimento do feto, independentemente da fase em que se encontra, pode ser paralisado em qualquer fase podendo mesmo levar à morte embrionária ocorrendo reabsorção fetal. Também já foram verificados abortos, natimortos e neonatos com baixo peso tendo poucas hipóteses de sobrevivência (McDoweel, 1992; Underwood e Suttle, 1999; Pavlata, 2004).

Após o parto a única fonte de oligoelementos para o recém-nascido é o colostro sendo que a qualidade deste, assim como a saúde do úbere, vai depender directamente dos níveis de oligoelementos durante a gestação (Engle *et al.* 2001). Knowles *et al.* (1999) observaram que animais suplementados com selénio, o colostro e o leite apresentaram elevados níveis deste oligoelemento e uma maior concentração de imunoglobulinas, registando também uma menor incidência de mamites.

Pechová *et al.* (2006) realizaram um estudo onde verificaram que vacas leiteiras suplementadas com zinco apresentavam um menor número de células somáticas. Scalleti *et al.* (2003) observaram que administrando cobre aos animais, ocorria uma diminuição nas infecções do úbere tendo como consequência um abaixamento na contagem de células somáticas.

### 1.3 – Oligoelementos com maior importância na reprodução

#### 1.3.1 - Cobre

O cobre apresenta um metabolismo muito complexo fundamental para os animais, por ser um componente essencial nas mais diversas funções fisiológicas.

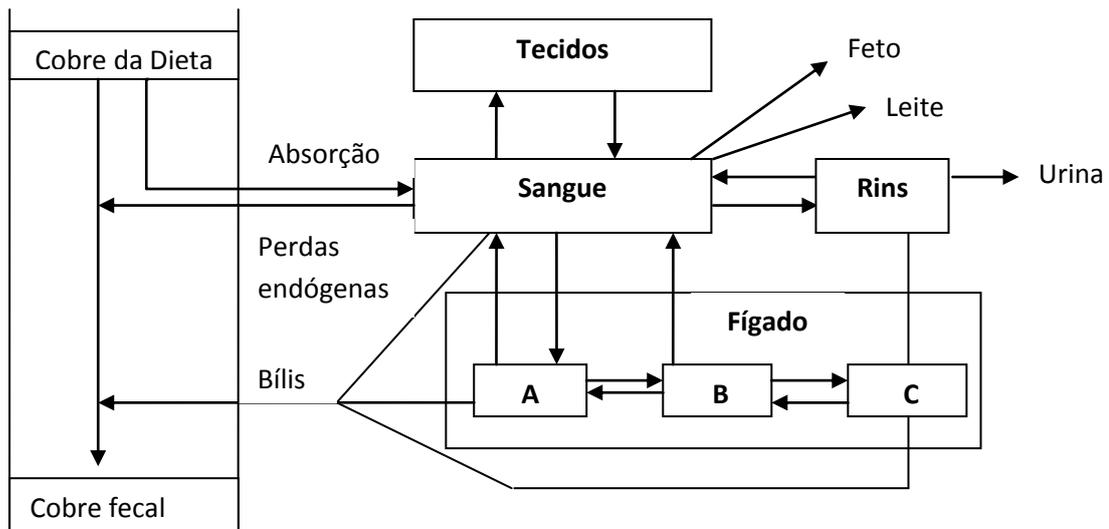
Os ruminantes podem apresentar deficiências em cobre mesmo que este seja suficiente na dieta, isto deve-se ao facto de existir interacções que se desenvolvem no sistema digestivo entre cobre e outros minerais, nomeadamente com o Mo e S, ocorrendo a formação dos tiomolibdatos (TMs ou  $\text{MoS}_4^{2-}$ ), quando o ambiente ruminal é rico em sulfeto. Os TMs ligam-se ao cobre proveniente da dieta formando cupro-tiomolibdatos (Cu-TMs) que são insolúveis provocando uma redução da absorção do cobre no intestino inibindo também o metabolismo normal deste oligoelemento (Smith e Akinbamijo, 2000; Vasquez *et al.*, 2001).

O cobre absorvido pelos ruminantes é de apenas 1 a 3% do cobre da dieta, embora no período de gestação a eficiência da absorção deste oligoelemento possa duplicar (McDowell, 1992). A absorção deste oligoelemento, no intestino delgado, depende da forma química do elemento e da quantidade fornecida na dieta, sendo absorvido essencialmente através de dois mecanismos, do transporte activo e da difusão simples (Underwood e Suttle, 1999; McDowell, 1992). A absorção de cobre nos ruminantes é relativamente baixa quando comparada com os monogástricos devido às razões referidas anteriormente (Spears, 2003).

Após a absorção do cobre pelo organismo este é transportado na corrente sanguínea, através da ceruloplasmina até ao fígado (Valle, 2002).

A distribuição do cobre pelos vários tecidos do organismo depende da espécie, da idade, dos níveis de cobre na dieta e do que é absorvido pelo organismo, verificando-se grandes variações dentro de indivíduos da mesma espécie (Grace, 1994).

O cobre circula pelo organismo com algumas proteínas, contudo, é no fígado que se encontra uma maior concentração de cobre dos bovinos, variando entre 50 a 70%. Do cobre que circula no plasma 90% encontra-se sob a forma de metaloproteínas, sendo o transporte deste oligoelemento realizado sob a forma de um complexo designado por ceruloplasmina. A ceruloplasmina é uma fracção  $\alpha$ -2-globulina do sangue, que contém três oligossacarídeos ligados por uma asparagina e oito átomos de cobre (Domingues *et al.* 2001). O fígado desempenha um papel fundamental no armazenamento e no controle homeostático do cobre no organismo (Valle, 2002), reflectindo o consumo e o nível de cobre no mesmo. De um modo teórico pode dividir-se o fígado em três zonas distintas de armazenamento do cobre, como se pode observar na figura 1, em que a zona A é o compartimento onde é armazenado temporariamente o cobre que se destina a trocas com o sangue e para a excreção pela biliar, a zona B é destinada para o armazenamento temporário do cobre para incorporação de ceruloplasmina, por fim a zona C é onde o cobre fica armazenado por mais longos períodos de tempo, de modo a garantir as necessidades mínimas deste oligoelementos no organismo (McDonald, 2002).



**Figura 1** – Esquema da mobilidade do cobre pelo organismo. Adaptado de McDonald (2002).

Quando a disponibilidade de cobre na corrente sanguínea é baixa, os níveis de ceruloplasmina e de superóxido dismutase dos eritrócitos são igualmente baixos, existindo uma correlação positiva entre ambos que poderá ser utilizada para a determinação do perfil do cobre nos bovinos. Com a redução destas proteínas no sangue a capacidade de reação do organismo contra a destruição de microrganismos invasores também diminui (Domingues *et al.*, 2001; Valle, 2002).

Durante a gestação, o fígado dos fetos e dos recém-nascidos apresenta valores superiores de cobre em relação à mãe, isto quando os valores na progenitora são os adequados (Kincaid, 1999).

O cobre é necessário na respiração celular, função cardíaca, no desenvolvimento do tecido conjuntivo, na mielinização do sistema nervoso central, queratinização e pigmentação dos pêlos e da lã. Sendo também

indispensável na formação de hemoglobina e na formação do tecido ósseo (McDowell, 1992).

A participação do cobre em diversas metaloenzimas é fundamental, garantindo que estas desempenham funções vitais para o organismo evitando desta forma o surgimento de algumas patologias (Quadro 2). Das diversas enzimas em que o cobre intervém destaca-se a citocromo oxidase, que é necessária ao transporte de electrões durante a respiração, realizando a redução de oxigénio em água, a lisil oxidase que é catalizadora do colagénio e de elastina, o superóxido dismutase que protege as células dos efeitos dos radicais livres provenientes do metabolismo do oxigénio e a ceruloplasmina que é fundamental na absorção e transporte do ferro necessário para a síntese da hemoglobina. O cobre participa ainda nas seguintes enzimas, dopamina  $\beta$ -hidroxilase, Peptidiglicina  $\alpha$ -monooxidase, tirosinase e na oxidase do ácido ascórbico, (NRC, 2001; Valle, 2002).

**Quadro 2** – Funções das enzimas dependentes do cobre e efeitos patológicos nos animais

<b>Enzima</b>	<b>Função</b>	<b>Significado patognomónico</b>
<b>Ceuloplasmina</b>	Transporte de ferro	Anemia
<b>Citocromo oxidase</b>	Cadeia respiratória	
<b>Dopamina β-hidroxilase</b>	Metabolismo catecolaminas	Comportamento
<b>Lisil oxidase</b>	Ligação dismosina do tecido conjuntivo	Ruptura da aorta, osteoporose
<b>Peptidiglicina α-monooxidase</b>	Síntese de moléculas biogénicas	Apetite
<b>Superóxido dismutase</b>	$O_2 \rightleftharpoons H_2O$	Peroxidação dos lípidos
<b>Tirosinase</b>	Tirosina $\rightleftharpoons$ Melanina	Despigmentação

Adaptado de Underwood e Suttle (1999)

O cobre é necessário, na síntese de hemoglobina, uma vez que este é o catalisador na formação da mesma. Desta forma as deficiências em cobre diminuem a maturação e reduzem o tempo de vida dos eritrócitos (McDowell, 1992).

Foi também verificado em animais de laboratório, que carências de cobre no organismo afectavam as células T e B, assim como os neutrófilos e os macrófagos provocando um decréscimo de células produtoras de anticorpos (Underwood e Suttle, 1999).

Embora existam poucos estudos efectuados nesta área, alguns autores referem que com a suplementação de cobre na dieta de novilhas e vacas obtiveram uma ligeira melhoria nas infecções da glândula mamária, apresentando um menor número de quartos infectados. Concluíram, também,

que o cobre não tinha qualquer influência nas infecções provocadas por *Staphylococcus coagulase negativa* na altura do parto (Scaletti *et al.*, 2003; Heinrichs *et al.*, 2009).

Uma outra função do cobre é na síntese de fosfolípidos, não directamente, mas através da actividade da citocromo oxidase, uma vez que a mielina é composta por estes fosfolípidos. Uma deficiência na síntese destes pode provocar distúrbios neurológicos (McDowell, 1992).

O cobre endógeno e o fecal (que não são aproveitados pelo organismo), são excretados do organismo através das fezes. A quantidade de cobre excretado, pela via urinária é muito pequena, não sendo significativa em muitos dos casos (Grace, 1994; NRC, 2001). O cobre também está presente no leite e no colostro dos animais, sendo esta mais uma via de excreção do cobre. O teor de cobre no leite depende da espécie animal e do estado de lactação. Ao longo da lactação verifica-se um decréscimo progressivo no teor de cobre, sendo que o colostro e o leite no início da lactação apresentam valores mais elevados de cobre quando comparados com o leite da fase final da lactação (Domingues, 2001).

Não existe um consenso entre os diversos autores no que se refere aos valores adequados de cobre. Underwood e Suttle (1999) referem que os valores normais no plasma em ruminantes variam entre 9 a 15  $\mu\text{mol l}^{-1}$ , dependendo da idade, da dieta e de patologias apresentadas pelos animais. Valores de cobre inferiores a 9,42  $\mu\text{mol l}^{-1}$  podem indicar uma deficiência deste oligoelemento, níveis superiores a 12,56  $\mu\text{mol l}^{-1}$  indicam excesso de cobre na dieta, segundo Valle (2002). O NRC (2001) indica como limite mínimo a concentração de 0,5  $\text{mg l}^{-1}$  de cobre no plasma, referindo que no fígado a concentração normal de Cu varia entre 200 a 300  $\text{mg Kg}^{-1}$  de MS. Embora a presença de Mo e S na

dieta pode provocar a formação de TMs colocando os valores apresentados em causa.

#### 1.3.1.1 - Deficiências de Cobre

As carências de cobre nos tecidos dos animais dependem essencialmente de dois factores, da concentração na dieta e das interacções antagonistas existentes entre o cobre, molibdénio e o enxofre, interferindo com a absorção deste oligoelemento pelo organismo ficando os processos metabólicos comprometidos devido à falta do cobre (Vasquez *et al.*, 2001).

Teores baixos de cobre na dieta são normalmente responsáveis pela acromotriquia (despigmentação dos pêlos), particularmente em redor dos olhos, anormalidade na queratinização dos pêlos e lã, anemia, anormalidades esqueléticas e ataxia (Grace, 1994; NRC, 2001). A falta de cobre no organismo, que pode ser provocada pelas interacções antagónicas entre o Cu, Mo e S, podem provocar os seguintes sintomas: insuficiência cardíaca e de crescimento, anemia e osteoporose. Outros sintomas provocados pela deficiência do cobre são diarreias, desordens ósseas e nervosas (McDowell, 1992).

A nível reprodutivo baixos níveis de cobre estão associados a desordens que podem provocar morte embrionária e reabsorção fetal, supressão do estro, devido a uma baixa actividade dos ovários que após o parto pode provocar longos períodos de anestro, baixas taxas de concepção, distocia e retenção de placenta (Smith e Akinbamijo, 2000; NRC, 2001; Vasquez *et al.*, 2001).

Segundo autores citados pelo NRC (2001), um outro efeito provocado pela falta de cobre no é a redução da actividade do sistema imunitário, devido a uma menor capacidade fagocitária por parte dos neutrófilos.

### 1.3.1.2 – Toxicidade do Cobre

Embora a intoxicação crónica por cobre seja rara em bovinos, este mineral é o que apresenta uma maior susceptibilidade de se tornar tóxico, não só devido ao excesso na suplementação, mas também por causa da contaminação existente nos solos e por consequência nas plantas que os animais ingerem (Auza *et al.*, 1999; NRC, 2001)

O fígado é o primeiro órgão onde acumula-se o excesso de cobre, pois armazena a maior parte do cobre do organismo, evitando assim que ocorra uma intoxicação generalizada dos tecidos do organismo. Se existirem factores de stress para o animal, pode ocorrer uma libertação súbita do cobre armazenado no fígado provocando icterícia generalizada ou a uma hemólise que pode levar à morte do animal (NRC, 2001).

Níveis elevados de cobre na dieta de ruminantes podem afectar o metabolismo lípidico, embora ainda não seja claro qual o mecanismo que afecta (Engle, 2001).

O NRC (2001) indica como limite máximo de cobre na dieta  $40 \text{ mg Kg}^{-1}$ , isto se o Mo da dieta não for muito elevado. Mas autores citados por Engle (2001) referem que animais suplementados com cobre  $37,5 \text{ mg Kg}^{-1}$  de alimento durante dois anos começam apresentar uma intoxicação crónica por cobre.

### 1.3.1.3 - Cobre e a Reprodução

A nível reprodutivo existem autores que defendem que a eficiência reprodutiva é afectada devido à alteração dos complexos enzimáticos, provocado pela indisponibilidade de cobre.

Supressão ou atrasos no estro, a baixa actividade dos ovários, diminuição da libido, diminuição nas taxas de concepção, infertilidade, retenção da placenta, a necrose e morte embrionária são problemas que, de um modo geral, estão associados a deficiências de cobre (Vasquez *et al.*, 2002). Há que referir que elevados níveis de Fe, S e Mo na dieta ou no solo podem agravar ainda mais os sintomas da deficiência.

Os fetos de animais com carências em cobre, por norma nascem anémicos, o seu crescimento é mais lento e apresentam elevadas taxas de hemorragias, presumivelmente, por defeitos nas hemácias e mal formação do tecido conjuntivo, ocorrido durante o desenvolvimento embrionário (McDowell, 1992).

De acordo com Corah e Ives (1991) existe uma relação entre os níveis de cobre e os parâmetros reprodutivos. Estes autores verificaram que vacas com níveis adequados de cobre no soro apresentavam uma maior taxa de fecundação após a primeira inseminação e uma diminuição do número de serviços por cada concepção.

Domingues (2001) verificou que as fêmeas gestantes carentes em cobre estão associadas a um aumento da mortalidade dos bezerros, concluindo que é fundamental para os recém-nascidos que a mãe seja bem suplementada em cobre, durante a gestação, de modo a garantir as reservas necessárias para o feto.

### 1.3.2 - Iodo

Aproximadamente 80% do iodo (I) no organismo aparece associado à glândula da tiróide, onde são produzidas as hormonas Tetraiodotironina ou Tiroxina ( $T_4$ ) e a Triiodotironina ( $T_3$ ) (Grace, 1994), sendo que na  $T_3$  58,5% do seu peso é iodo, enquanto na  $T_4$  este valor é de 65,3% (Kaneko *et al.*, 1997). O iodo é essencial nesta glândula, pois desempenha um papel fundamental na síntese das hormonas  $T_3$  e  $T_4$ , que vão participar em processos fisiológicos dos ruminantes, dos quais destaca-se a regulação do metabolismo energético (NRC, 2001), o desenvolvimento corporal, a função reprodutiva e o crescimento de pêlos, lã e faneras. Outra função importante desempenhada por estas hormonas é o controlo da oxidação celular (Underwood e Suttle, 1999; Andrade, 2009). Valle (2000) e McDowell (2003) destacam também a importância do iodo no controle da taxa de oxidação celular. Os restantes 20% do iodo estão distribuídos pelos pulmões, fígado, rim, cérebro, músculos e nos órgãos reprodutivos (Grace, 1994; Underwood e Suttle, 1999).

McDowell (1992) refere que para medir o iodo no organismo deve ser através da análise do soro ou da  $T_4$ . Não se deve medir o iodo no plasma porque a concentração de iodo no plasma varia significativamente com a dieta. Uma outra razão para não se medir a concentração de iodo no plasma é o facto de que na semana antes do parto existe um aumento significativo da concentração de iodo no plasma, havendo um declínio súbito destes valores imediatamente após o parto (Aumont *et al.* 1989).

Os iões de iodo são muito permeáveis, por isso são rapidamente absorvidos no tracto digestivo dos ruminantes, sendo a maior parte absorvido no rúmen (70 a 80%) enquanto no abomaso são absorvidos entre 10 a 20%.

Após estes serem absorvidos, são transportados de duas formas pelo sangue: livremente ou ligado a proteínas do plasma. A maioria do iodo vai ser armazenado e utilizado na glândula da tiróide, outra parte vai-se acumular noutros tecidos, dos quais destaca-se os músculos e o fígado, sendo notória essa acumulação quando existe iodo em excesso no organismo dos animais. Contudo, quando o animal está em carência, verifica-se que a tiróide absorve praticamente todo o iodo disponível na circulação sanguínea (Enjalbert *et al.*, 2006).

Segundo o NRC (2001) as hormonas produzidas na tiróide de uma vaca leiteira, diariamente, são capazes de absorver, em média, 1,5 mg de iodo. Porém, estes valores variam consoante o estado de lactação e os meses de gestação, podendo em vacas de alta produção, no fim da gestação, atingir os 4 mg de iodo por dia. No caso de o animal apresentar carências de iodo severas pode provocar atrasos no desenvolvimento do feto. Nas novilhas os valores de iodo incorporados pelas hormonas tiroidianas são ligeiramente inferiores às das vacas, ficando-se pelos 1,3 mg de iodo por dia.

É nas últimas semanas de gestação que os níveis de iodo na mãe devem de ser os adequados, é nesse período que vai ocorrer a maior mobilização do iodo da mãe para o feto através da placenta. É importante que exista uma reserva fetal de iodo, pois é essa reserva que vai fazer com que as hormonas tiroidianas sejam sintetizadas no recém-nascido, sendo estas fundamentais para a sobrevivência da cria nos primeiros dias de vida. São estas hormonas que vão estimular os instintos de sobrevivência, mais concretamente, o de se levantar o mais depressa possível para poder ir mamar o colostro. A termorregulação também é condicionada através das hormonas

tiroidianas, evitando que ocorra um choque térmico, de um modo especial nos animais jovens (Kaneko *et al.*, 1997, Underwood e Suttle, 1999; Valle, 2002).

Dependentemente da ingestão de iodo na dieta e da fase de lactação em que o animal se encontra, uma parte do iodo é excretado para o leite, os níveis de iodo encontrados no colostro são superiores aos detectados posteriormente no leite (Garce, 1994). As vacas em lactação possuem necessidades de iodo superiores às não lactantes. Porque aproximadamente 10% do iodo ingerido por estes animais ser excretado no leite. Em média, o leite contém entre 30 a 300 µg de iodo por litro de leite dependendo da quantidade de iodo ingerido pelo animal (NRC, 2001).

Os vitelos, nas primeiras semanas de vida são muito sensíveis à falta de iodo. Neste período, as únicas fontes de iodo do vitelo são as reservas existentes na tiróide do recém-nascido e o colostro ingerido. A taxa de iodo no colostro é inicialmente muito elevada, isto é explicado através de um fenómeno de concentração de iodo mamário na altura do parto, dois dias após o parto a concentração de iodo diminui para metade (McCoy *et al.*, 1997).

O excesso de iodo é excretado do organismo, na sua maioria, através da urina, existindo pequenas quantidades que são excretadas pelas fezes e pelo suor (Grace, 1994), para além do que é excretado através do leite.

### **1.3.2.1 - Deficiências de Iodo**

A carência deste elemento, de um modo geral, está associada a solos com baixos níveis de iodo, a distância ao mar, a capacidade da planta absorver e reter iodo e a baixos níveis de pluviosidade, podendo apresentar diferentes graus de severidade.

Quando existe falta de iodo no organismo ocorre uma redução na produção de hormonas na tiróide afectando todos os órgãos em que esta intervém. Em casos extremos de carência de iodo, esta pode ser visível fisicamente, quer nos humanos e nos animais, através de um aumento da tiróide, o qual é designado de bócio (Underwood e Suttle, 1999).

A carência de iodo na tiróide é denominada por hipotiroidismo. A fraqueza muscular, redução da taxa metabólica, redução do crescimento, o ritmo cardíaco reduzido, alterações na pele e faneras são sintomas de hipotiroidismo.

O hipotiroidismo pode ser classificado em primário e secundário. É designado por primário quando os níveis de iodo na dieta não são os mais adequados. O hipotiroidismo secundário ocorre quando existe um consumo de plantas que possuem glicosídeos cianogénicos, por exemplo *Trifolium repens*, que ao degradarem-se vão dar origem ao ácido cianídrico, designado também de cianetos, que interagem com o iodo formando tiocianetos insolúveis no rúmen, estes em elevadas quantidades competem com o iodo nos processos metabólicos impedido desta forma absorção do iodo pelo intestino (Contreras *et al.* 1999).

A falta de iodo pode causar também problemas dermatológicos e problemas no desenvolvimento dos pêlos e das faneras, este problemas é importante nos ovinos, pois é uma espécie muito sensível às deficiências de iodo, sendo que a lã dos ovinos é um produto muito valorizado.

Nos bovinos, a carência de iodo está referenciada como a causa da dermatose (Doherty e Mulville, 1992) estando a dermatose associada à alopecia, ou seja, os animais apresentam uma redução parcial ou total de pêlos em determinadas regiões.

Existe uma interacção entre o Se e o iodo, esta ocorre na conversão das hormonas T<sub>4</sub> em T<sub>3</sub>, através das enzimas deiodinases I e II, que necessitam de selénio para serem activadas. Em caso de não haver disponibilidade de selénio a conversão será afectada, fazendo com que haja uma diminuição da síntese das hormonas tiroidianas. No caso de faltar o iodo, a actividade das enzimas deiodinases aumenta, formando um mecanismo compensatório (Kaneko, *et al.*, 1997; Zagrodzi *et al.*, 1997).

### 1.3.2.2 - Toxicidade do Iodo

A susceptibilidade ao iodo é diferente de espécie para espécie, sendo os ruminantes, de um modo geral, mais tolerantes ao excesso de iodo. Porém, este pode tornar-se tóxico quando é fornecido a vacas em quantidades superiores a 50 mg por dia (NRC, 2001). Os animais jovens e as vacas em lactação são os mais susceptíveis ao iodo quando comparados com outros bovinos adultos. (Andrade, 2009).

Diminuição de apetite, secreções oculares e nasais excessivas, salivação, descamação da pele e cascos, dificuldade para engolir alimentos, tosse e diminuição da produção de leite são alguns dos sintomas apresentados pelos bovinos quando existe intoxicação por iodo (Olson *et al.*, 1984).

O NRC (2001) chama a atenção que, quanto maiores os valores de iodo na dieta maior é a sua concentração no leite. Como os seres humanos são mais sensíveis ao iodo que os animais, deve-se ter em atenção para que o leite não contenha elevadas concentrações deste elemento pois pode-se tornar um perigoso para a saúde pública.

### 1.3.2.3 - Iodo e a Reprodução

Deficiências em iodo, geralmente, afectam as performances reprodutivas dos bovinos, nomeadamente sinais menos expressivos do cio, podendo mesmo ocorrer a supressão do cio, infertilidade ou esterilidade, aumento da taxa de mortalidade embrionária, irregularidades no estro, aborto, retenção de placenta e redução da taxa de fertilidade (McDowell, 1999; Valle, 2002).

O iodo tem facilidade em ultrapassar a barreira placentária ficando concentrado no líquido amniótico, na tiróide do feto assim como noutros tecidos fetais.

Durante a gestação, a falta de iodo pode provocar efeitos irreversíveis no desenvolvimento fetal, podendo mesmo ser parado em qualquer estágio, chegando a levar à morte embrionária e a uma reabsorção fetal. Se a gestação estiver numa fase mais avançada (últimas 8 semanas) pode levar ao aborto ou ao nascimento prematuro das crias, que mais tarde acabam por morrer (McDowell 1992; Pavlata *et al.*, 2004). McCoy *et al.* (1997) verificaram que em animais com deficiências graves de iodo mesmo suplementando-os nos últimos dois meses de gestação os problemas na reprodução continuavam.

A longo prazo, a privação de iodo, vai ter efeitos sobre o ciclo ovário, duração do anestro e diminuição nas taxas de concepção (Radostits, 2001).

Num estudo realizado por Corah e Ives (1991) verificaram que 10% das vacas sem iodo na dieta, ou suplementadas tardiamente com este, apresentaram retenções de placenta. Contudo, os animais que apresentaram retenção placentária tinham também outras carências em oligoelementos, mais concretamente Mo e o Se.

### 1.3.3 – Manganês

O manganês ou manganésio (Mn) é dos oligoelementos o menos estudado, estando ainda por explicar algumas das suas combinações e formas químicas no organismo do animal. (Domingues *et al.*, 2001).

Pode-se encontrar este oligoelementos um pouco por todo o organismo, embora seja mais comum encontrar vestígios de manganês no fígado, conjugado aos sais biliares e nos eritrócitos. A concentração de manganês é muito baixa, quando comparado com os outros oligoelementos, por exemplo é, aproximadamente, 10% do cobre existente no organismo, sendo essencial para o desenvolvimento dos ossos e para um bom funcionamento reprodutivo (Spears, 2003). Nos tecidos pode encontrar-se manganês, principalmente onde existe uma maior actividade das mitocôndrias.

O manganês desempenha um papel importante em numerosas enzimas de vários processos fisiológicos, um desses processos fisiológicos que ainda não foi bem estudado é o envolvimento do manganês na regulação parcial da fosforilação oxidativa nas mitocôndrias (Domingues *et al.*, 2001).

O sulfato e o óxido de manganês são as duas principais formas químicas em que são administradas o oligoelemento, sendo que sob a forma de sulfato os níveis de absorção são maiores (Henry, 1992).

Este oligoelemento apresenta uma absorção relativamente baixa, sendo absorvido por todo o intestino delgado. A biodisponibilidade do manganês é afectada, reduzindo-a, quando na dieta existem grandes quantidades de cálcio, fósforo e ferro (Underwood e Suttle, 1999; Spears, 2003).

Após absorção pelo intestino delgado do manganês, este pode permanecer livre na corrente sanguínea ou ligar-se à  $\alpha$ -2 macroglobulina. Uma

parte do manganês ingerido na dieta entra na circulação sistêmica do sangue, onde é oxidado ligando-se à transferrina dos eritrócitos. Este manganês, posteriormente, vai ser absorvido pelo fígado, onde grande parte vai ser excretado via biliar, assegurando assim o controlo homeostático do manganês (McDowell, 1992; Kincaid, 1999; Underwood e Suttle, 1999; NRC,2001).

Os níveis adequados de manganês no soro dos bovinos são de 5 a 10 ng/ml (Quadro 3). A concentração de manganês no plasma não é um bom indicador da quantidade ingerida de manganês da dieta, porque o fígado remove de uma forma eficaz o manganês do plasma ou quando este está ligado à  $\alpha$ -2 macroglobulina. Assim, uma forma de avaliar os níveis de manganês na dieta é através dos glóbulos vermelhos, uma vez que oxida e liga-se à transferrina das hemácias (Kincaid, 1999; NRC,2001).

**Quadro 3** – Critérios de classificação dos níveis de manganês no sangue, soro e fígado de bovinos

<b>Níveis de Mn</b>	<b>No sangue (ng/ml)</b>	<b>No soro (ng/ml)</b>	<b>No fígado (µg/g MS)</b>
<b>Deficiente</b>	<20	<5	<7
<b>Marginal</b>	20 a 60	5 a 6	7 a 15
<b>Adequado</b>	70 a 200	6 a 70	>13

Adaptado de: Kincaid, 1999

Aproximadamente 97% do manganês é excretado através da via fecal, sendo os restantes 3% eliminado através da urina (McDowell, 1999).

O manganês funciona como constituinte de diferentes enzimas como a arginase, piruvato carboxilase, Mn-superóxido dismutase. Também funciona

como ativador enzimático no caso das enzimas hidrolases, quinases, descarboxilases e transferases. Em ambos os casos o manganês é prioritário, mas no caso de carência deste oligoelementos o magnésio pode-o substituir verificando-se pouca ou nenhuma perda de actividade das enzimas (McDowell, 1992; Underwood e Suttle, 1999).

Para além de componente e activador de algumas enzimas o manganês desempenha outras funções das quais se destaca o envolvimento na síntese de sulfato condroitina (componente da matriz orgânica óssea) e de protombina (promove o desenvolvimento das cartilagens).

### **1.3.3.1 – Deficiências de Manganês**

As deficiências em manganês provocam diversas manifestações que, na sua maioria, são semelhantes aos provocados pela falta de outros oligoelementos.

Dos principais sintomas provocados pela carência do manganês evidencia-se as anormalidades esqueléticas, redução do crescimento, redução ou interrupção da actividade reprodutiva e redução do metabolismo dos lipídios e dos hidratos de carbono. O inchaço nas articulações, de forma especial nos membros posteriores pode também dever-se a uma possível deficiência de manganês (Frédéric, 2002)

A nível reprodutivo os principais efeitos da falta de manganês são o nascimento de bezerros fracos e com ataxia, muitos deles acabando por morrer após o nascimento, perturbações no estro, aciclicidade, cios silenciosos, abaixamento na fertilidade, pouco desenvolvimento folicular, atraso na ovulação, aumento da incidência de abortos e uma menor contractilidade do

útero. A carência deste oligoelemento reduz também a actividade da superóxido dismutase que têm como função proteger o organismo dos radicais livres (Santos, 1999; Underwood e Suttle, 1999).

#### **1.3.3.2 - Toxicidade do Manganês**

Nos ruminantes a intoxicação por manganês é pouco provável, contudo só a partir de 1000 mg Kg<sup>-1</sup> de MS na dieta é que se verificou uma redução da ingestão de alimento e do crescimento (Jenkins e Hidioglou, 1991 citados pelo NRC, 2001). Contudo o NRC (2001) refere como limite máximo tolerável o valor dos 1000 mg/Kg de MS que já tinha sido determinado pelo NRC de 1980.

#### **1.3.3.3 – Manganês e a Reprodução**

A concentração de manganês nos ovários é, por norma, elevado porque este faz parte do metabolismo das células ováricas. Desta forma, este oligoelemento tem como principal função estimular a mitose das células da granulosa e foliculares (na foliculogénese) dos ovários, assim como as células luteínicas que formam o corpo lúteo, que vão regular os níveis de estrogénios e de progesterona (Santos, 1999; Smith e Akinbamijo, 2000). Quando se verifica uma deficiência em manganês ocorre uma inibição na síntese do colesterol e dos seus precursores, que são indispensáveis na produção de progesterona, limitando igualmente a síntese desta (Frédéric, 2002).

#### 1.3.4 – Selénio

Durante muito tempo, o selénio (Se) foi muitas vezes referido na literatura, por causa do seu nível de toxicidade, sendo este oligoelemento capaz de causar intoxicações crónicas.

Actualmente o selénio é um dos oligoelementos mais estudados e sabe-se que este é essencial aos animais, desempenhando funções vitais no organismo.

Os solos vulcânicos, por norma, são deficientes em Selénio (Grace 1994; Maas *et al.* 1996). Underwood e Suttle (1999) referem que altos teores de humidade e precipitação elevada estão correlacionados negativamente com a concentração de selénio nas forragens e animais. O clima dos Açores é caracterizado por teores de humidade elevada e Invernos com precipitações elevadas, desta forma é provável que os níveis de selénio sejam baixos nas pastagens Açorianas (Azevedo, 2008).

O selénio, por norma, é administrado na dieta dos animais, como suplemento, sob a forma de sais de selenito ou selenato. Embora ainda sejam pouco conhecidos, sabe-se que os mecanismos de absorção do selénio no organismo dependem da forma química que é administrado (orgânica ou inorgânica), temos como exemplo o selenito quando administrado sob a forma orgânica é rapidamente incorporado no plasma em proteínas ricas em selenocisteína, ficando desta forma disponível para a síntese de outras selenoproteínas através da acção das enzimas como a selenocisteína  $\beta$ -liase. Quando o selénio é administrado sob a forma de selenato, este apresenta uma relação com outros factores nutritivos existentes na dieta, como os sulfatos, os nitratos e os níveis de concentrações de cálcio, baixando assim

a velocidade de absorção do selênio (Underwood e Suttle, 1999; Almeida, 2009).

Da quantidade inicial de selênio ingerida na dieta apenas 40% chega ao duodeno onde é absorvido (Graham, 1991). A biodisponibilidade do selênio, para além dos factores anteriormente referidos, depende também da quantidade de selênio na dieta e da presença de substâncias antagonistas ao selênio, como os glicosídeos cianogénicos. Esta substância é encontrada em algumas leguminosas e quando ingeridas pelos ruminantes, são degradadas, podendo ocorrer a metabolização de glicosídeos cianogénicos em cianeto, não deixando que o Selênio seja absorvido na sua totalidade (Spears, 2003).

Após a absorção do selênio no duodeno, este é conduzido até ao fígado onde se liga às  $\alpha$  e  $\gamma$  globulinas. De seguida, através da circulação sanguínea, este dirige-se para os tecidos de armazenamento, os quais contêm quantidades elevadas de proteínas (Valle, 2002).

Diversas são as funções do selênio no organismo, tais como crescimento, reprodução, prevenção de doenças e manutenção da integridade dos tecidos. Contudo, foi como parte integrante de várias enzimas (selenoproteínas), envolvidas em diversas funções metabólicas que o Se foi melhor estudado e compreendido, em especial como componente da glutathione peroxidase (GSH-Px) (NRC, 2001; Valle, 2002; Safaralizadeh *et al.*, 2005).

A GSH-Px é uma metaloenzima, sendo o selênio parte integrante desta enzima. Esta responsável pela redução do peróxido de hidrogénio e hiperóxidos lipídicos evitando desta forma a oxidação celular (Kommisrud, 2005).

A função do Se está intimamente relacionada com a vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), sendo a eficácia deste oligoelementos é maior quando associada a

esta vitamina. A GSH-Px actua em sinergismo com a vitamina E, actuando ambos a nível celular, protegendo desta forma as membranas biológicas contra a degeneração oxidativa. A vitamina E actua como um antioxidante lipossolúvel específico nas membranas celulares e a enzima GSH-Px desempenha um papel fundamental no organismo através da sua actividade no citoplasma, destruindo os peróxidos, evitando que se formem radicais livres (Corah e Ives, 1991; Smith e Akinbanijo, 2000; Valle, 2002; Meglia *et al.*, 2004).

O selénio e vitamina E podem, também, estar envolvidos na síntese de prostaglandinas, existindo acumulação de Se nos placentomas, ovários, na hipófise e na glândula adrenal o que leva a crer que nestes tecidos haja uma necessidade específica deste oligoelemento (Valle, 2002; Corah e Ives, 1991).

A suplementação dos animais com estes componentes pode reduzir a incidência da retenção de placenta e melhorar a performance reprodutiva, uma vez que existem indícios que a GSH-Px protege a membrana dos óvulos contra reacções oxidativas (Almeida, 2009).

O Selénio desempenha um papel fundamental na fisiologia do útero como antioxidante, de forma a manter este o mais saudável possível, para que na época do cio possa receber e deixar passar os espermatozóides, em caso de fecundação acolhe e protege o embrião. Deve-se também ter em atenção os níveis de selénio na dieta, em especial nas vacas gestantes, para não esgotar as reservas corporais deste oligoelemento, prejudicando não só a vaca, mas também a cria (Underwood e Suttle, 1999; Smith e Akinbamijo, 2000).

O stress provocado pelo parto, baixas quantidades de vitamina E e altas concentrações de ácidos gordos fazem aumentar as exigências em selénio (Maas *et al.* 1996; Larson, 2005). Os valores de selénio entre a mãe e os

recém-nascidos estão correlacionados entre si ( $r = 0,74$ ;  $P < 0,05$ ) (Kincaid, 1999). Mas onde o efeito do selênio é mais estudado é na retenção das membranas fetais (Smith e Akinbamijo, 2000).

Quando existe deficiências em selênio, uma das primeiras consequências é a diminuição da actividade da GSH-Px, o que deixa a célula exposta à acção nociva dos radicais livres de oxigénio activos, permitindo desta forma que se alterem a estrutura dos lípidos, entre outras estruturas celulares (Valle, 2002). Para corrigir eventuais deficiências de selênio na dieta, pode administrar-se sais de selênio, sob a forma de selenito ou selenato de sódio incorporando os sais no concentrado ou através da administração oral, o selênio pode também ser injectável, que por norma está associado à vitamina E. A suplementação injectável serve apenas para tratar uma deficiência casual de forma a prevenir patologias associadas a essas deficiências (Braun *et al.* 1991; Almeida, 2009).

O selênio desempenha ainda outras funções na protecção do organismo devido à sua forte tendência para formar complexos com metais pesados, assim este oligoelementos protege intoxicações por cádmio e mercúrio (Almeida, 2009).

O mesmo autor refere ainda que este oligoelementos poderá estar envolvido na formação e desenvolvimento dos órgãos de defesa e resposta imunitária, uma vez que foi verificado uma maior concentração de imunoglobulina G quando pequenos ruminantes foram suplementados com selênio e uma diminuição da resposta linfocitária quando os animais estavam com deficiências em Se e vitamina E.

Vários estudos tentam relacionar o efeito do selênio e da vitamina E com a imunologia das vacas, de um modo especial no que se refere à incidência de

mastites e a duração destas, observando-se, em alguns estudos, reduções significativas na ocorrência de mastites. (Smith *et al.*, 1984).

Autores como Moyo *et al.* (2005) ou Weiss e Hongan (2005) referem que existe uma diminuição das mastites clínicas quando os animais são suplementados com Se, uma vez que a enzima GSH-Px participa na defesa da glândula mamária diminuindo a invasão de organismos patogénicos. Os mesmos autores verificaram também que o selénio quando associado à vitamina E diminui a contagem de células somáticas (CCS).

Os bovinos quando apresentam níveis adequados de Se, existe um aumento da actividade do sistema imunitário correlacionando-se com o efeito benéfico da diminuição das mastites (NRC, 2001), mantendo desta forma o úbere saudável.

Smith *et al.* (1984) verificaram que as novilhas que não foram suplementadas com selénio, 60 dias antes do parto, tendo uma dieta com baixas concentrações de selénio (0,04 mg Kg<sup>-1</sup> de MS), apresentaram uma maior percentagem de células somáticas, quando comparadas ao grupo suplementado com 2 mg de Se por dia. Os mesmos autores observaram também no grupo experimental uma redução do número de infecções na glândula mamária, infecções com durações mais curtas e um menor número de infecções uterinas (metrites) em relação ao grupo controle. Paschoal *et al.* (2002), também observaram uma redução de 72% na incidência de mastites clínicas nas oito primeiras semanas a seguir ao parto, mas em vacas leiteiras de raça *Holstein*, com mais de que uma parição.

Apesar de na literatura existirem muitas referências aos mecanismos de defesa/ resposta imunitária da glândula mamária com acção do selénio, este oligoelemento também aparece na produção de anticorpos, na proliferação de

células inflamatórias, na produção de citocinas, no metabolismo das PGs e na função dos neutrófilos (linha de defesa primária contra as infecções bacterianas) (Hogan *et al.*, 1993 citado por Almeida, 2009).

Na literatura não existe um consenso dos valores de selênio que definem os limites entre o adequado, o deficiente e o excesso. Os níveis de Se no soro dos bovinos podem ser de difícil análise, pois o selênio no soro está associado à GSH-Px e à Selenoproteína P.

O valor do selênio presente no sangue, por norma, é superior três vezes ao registado no soro (Kincaid, 1999), isto porque qualquer hemólise ocorrida na obtenção do soro pode aumentar os valores de Se falseando desta forma os resultados (Maas, 1987). De acordo com Blood e Radostits (1989) os valores de 80  $\mu\text{g L}^{-1}$  de soro são considerados normais (Quadro 4). Outros autores referenciados por Braun *et al.* (1991) afirmam que concentrações superiores a 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  de selênio já são adequadas para os bovinos.

**Quadro 4** – Valores da concentração de Se no sangue e no soro

<b>Classificação</b>	<b>[Se] no soro (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>[Se] no sangue (<math>\text{ng ml}^{-1}</math>)</b>
<b>Deficiência Severa</b>	<25	<60
<b>Deficiência Marginal</b>	30 a 70	60 a 210
<b>Adequado</b>	80	210 a 1200
<b>Excesso</b>	>90	>1200

Adaptado de: Blood e Radostits; 1989. Kincaid, 1999.

Há que referir que valores elevados de selênio na dieta influenciam directamente a concentração de deste elemento no soro e no sangue. Na

Primavera ocorre uma diminuição da actividade da GSH-Px, devido à diluição do selénio nas pastagens causada pela precipitação ocorrida durante o Inverno (Kincaid, 1999; Valle, 2002).

A secreção biliar do selénio pode representar, aproximadamente, 28% do seu gasto diário, embora grande parte do selénio seja reabsorvido pelo organismo, contribuindo assim para as perdas endógenas fecais (Underwood e Suttle, 1999). O Se é também eliminado do organismo através da urina. No pós-parto uma quantidade significativa de Se é também excretada no colostro. Posteriormente no leite, embora em menor quantidade, este oligoelementos continua a ser excretado.

O selénio pode ainda ser eliminado do organismo através da respiração sob a forma de  $C_2H_6Se$  (Grace, 1994; Wittwer, 1998).

### **1.3.4.1 – Deficiências de Selénio**

Na literatura estão referenciados alguns sinais clínicos ou doenças que podem servir como indicadores de deficiências em selénio, dos quais se destacam a distrofia muscular ou miopatia nutricional mais conhecida como a “doença do músculo branco”, a infertilidade, maior incidência de retenção placentária e nascimentos de vitelos nados-mortos.

Com a excepção da doença do músculo branco, que ocorre em animais jovens, todos os outros sinais apresentados podem ser facilmente confundidos com outros diagnósticos, sendo por essa razão que o diagnóstico clínico é difícil (Valle, 2002). Underwood e Suttle (1999) acrescentam ainda que a falta de vitalidade, um crescimento retardado, maior incidência de doenças oportunistas, diarreia e morte súbita por causa de lesões do miocárdio, são

outros sintomas que indicam uma carência muito grave ou aguda da falta de selênio nos ruminantes.

#### 1.3.4.2 – Toxicidade do Selênio

O limite do nível do selênio entre o tóxico e o essencial é muito estreito, sendo frequentes os casos de intoxicação por selênio, as intoxicações podem ser agudas ou crônicas.

Pode-se considerar como sendo uma intoxicação crônica, segundo o NRC (2001), quando a dieta dos bovinos contém 5 a 40 mg de Se por Kg de MS durante um período de várias semanas ou meses. O consumo de plantas que acumulam Selênio, como a *Astragalus sp.*, aumentando consideravelmente o risco de ocorrerem intoxicações agudas (NRC, 2001). Regiões em que os solos são ricos em selênio as forragens, de um modo geral também apresentam teores de selênio elevados, podendo também provocar intoxicações.

Os sinais clínicos de uma intoxicação aguda de selênio são temperaturas elevadas, diarreias, hemorragias e edemas nos tecidos. Uma intoxicação crônica os sintomas estão associados a baixo apetite, claudicação (insuficiência circulatória nos membros inferiores), atrasos no crescimento, irregularidade de cios, crescimento anormal dos cascos e pêlos, cegueira ou descoordenação motora e alcalose metabólica (Grace, 1994; Harris *et al.* 2006). Em casos mais graves pode mesmo levar à morte do animal devido a insuficiências circulatórias e lesões do miocárdio.

Para evitar intoxicações por selénio, o NRC (2001) recomenda que o valor deste oligoelemento na dieta dos animais seja inferior, aproximadamente, 16 vezes o valor verificado para uma intoxicação crónica.

Grace (1994) faz uma distinção quanto aos valores necessários de selénio, dependendo do estado fisiológico do animal. Assim, uma vaca em crescimento deve consumir 35  $\mu\text{g}$  de Se por  $\text{Kg}^{-1}$  MS, enquanto uma vaca em lactação deve ingerir 37  $\mu\text{g}$  de Se  $\text{Kg}^{-1}$  MS, mas no fim da gestação uma vaca leiteira deve consumir 44  $\mu\text{g}$  de Se  $\text{Kg}^{-1}$  MS.

### 1.3.4.3 - Selénio e a Reprodução

Vários estudos mostraram que o selénio actua nas células da granulosa estimulando-as e potenciando um efeito estimulador gonadotrópico, modelando as células da granulosa na proliferação e na síntese de estradiol, fazendo com que haja um aumento da concentração de estradiol nas células foliculares este efeito deve-se à inibição da produção de óxido nítrico (Basini e Tamanini, 2000).

O selénio tem uma acção directa no metabolismo hormonal da progesterona, isto porque é uma selenoproteína que estimula a síntese de prostaglandinas, protegendo o corpo lúteo assegurando uma maior produção progesterona (Jukola *et al*, 1996)

Aréchiga *et al*. (1998) demonstrou que a fertilidade, nos bovinos, foi melhorada através da administração de selénio e vitamina E. Outro benefício do selénio é a redução da incidência da retenção de placenta, uma vez que existem indícios que a GSH-Px reduz as reacções oxidativas nos ovários. Esta função de antioxidante ocorre durante a formação dos ovócitos e na maturação

dos folículos que sofreram ovulação, evitando assim a formação de quistos ováricos (NRC, 2001; Valle, 2002; Kommisrud *et al.* 2005). Olson (1995) ao realizar uma revisão bibliográfica sobre retenção de membranas fetais observou que, em sessenta mil partos, apenas 10,3% tinham tido retenção de membranas fetais, apresentando níveis de Se e vitamina E abaixo dos recomendados. Porém, existe também relatos na bibliografia de que não foi encontrada qualquer relação entre a concentração de selênio e a fertilidade (Kim *et al.* 1997; Almeida, 2009).

Uma diminuição no número de metrites também foi verificada por Kommisrud *et al.* 2005, o que leva a crer que o selênio desempenha uma função protectora ao nível uterino (NRC, 2001). Um aumento no número e velocidade das contracções uterinas também foi observado quando os animais tinham níveis de selênio adequados (Almeida, 2009).

## 2 - Reprodução

### 2.1 - Anestro pós-parto

Em condições normais, existem apenas dois períodos que as vacas estão acíclicas, antes da puberdade e durante a gestação. Outras espécies como a ovelha e a égua, para além de serem acíclicas antes da puberdade e durante a gestação, apresentam também o anestro sazonal. (Antunes *et al.*, 2008). Após o parto existe um período que, por acção de diferentes mecanismos, a actividade dos ovários continua inibida designado por anestro pós-parto.

O anestro pós-parto é definido como o período que vai desde o parto até à manifestação do primeiro cio fértil (Yavas e Walton, 2000). Quanto menor for o anestro maior é a eficiência reprodutiva dos bovinos (Peter *et al.*, 2009).

A duração do anestro varia muito, a maioria das vacas óvula nas primeiras seis semanas, mas a maioria das vezes esse óvulo não é fecundado (Peter *et al.*, 2009). O período puerperal pode ser influenciada por diversos factores, dos quais destaca-se a nutrição pré e pós parto, a condição corporal, a involução uterina, a lactação, o número de partos, amamentação, a raça, a idade, os factores climáticos e as patologias do animal.

Diversos autores defendem que as vacas leiteiras de elevada produção os períodos de anestro pós parto são mais longos (Opsomer *et al.*, 2000; Butler, 2003; Lucy, 2007), isto deve-se ao facto de haver uma maior disponibilidade de energia para a produção de leite, ficando o animal em balanço energético negativo, atrasando desta forma o início da actividade folicular e de um novo ciclo (Peter *et al.*, 2009).

Diversos mecanismos (hormonais, sensoriais, nutricionais e comportamentais) que actuam na regulação do período puerperal, podem actuar de forma isolada ou conjunta, existindo uma interacção entre os vários mecanismos regulando desta forma o anestro pós-parto (Rabassa, *et al.* 2007). Estes autores defendem que o estado nutricional das fêmeas antes e após o parto é um dos principais factores para determinar a duração do anestro pós-parto. Antunes *et al.* (2008) referem que as vacas que apresentam uma boa condição corporal antes do parto têm uma maior influência sobre o período de anestro, mais do que o nível nutricional do animal após o parto. A condição corporal após o parto é um reflexo do estado nutricional do animal antes do parto (Perry *et al.* 1991).

O anestro pós parto, por norma, é mais longo nas vacas primíparas do que nas múltíparas, assim com o aumento do número de partições, a duração do anestro vai diminuindo (Yavas e Walton, 2000), isto deve-se ao facto de que o balanço energético negativo nas primíparas ser mais acentuado (Bellows *et al.*, 1982), pois muitos destes animais que parem pela primeira vez ainda se encontram em fase de crescimento.

Antunes *et al.* (2008) defendem que os bovinos que parem durante o Verão apresentam períodos de anestro menores quando comparadas com as que parem durante o Inverno, contudo os mecanismos da influência das estações do ano no anestro ainda não são bem conhecidos.

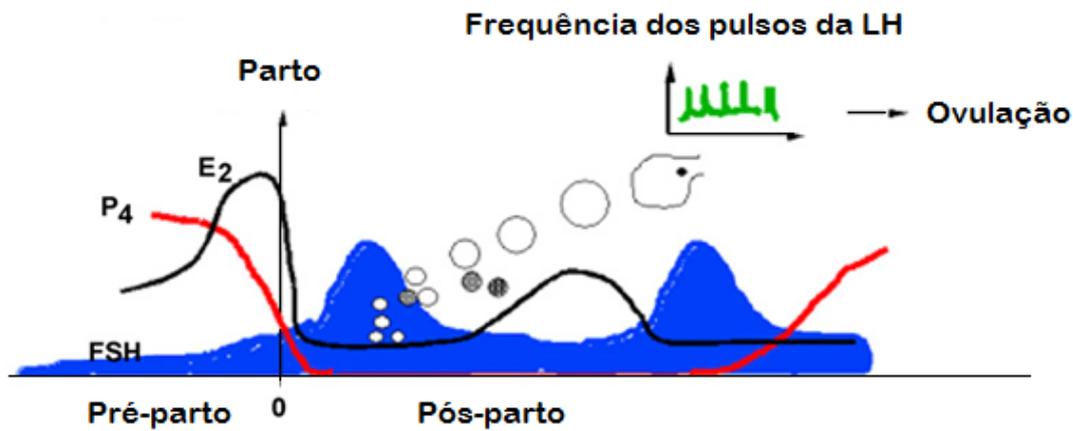
Existe uma relação entre o tempo da involução uterina e a duração do anestro, sendo principalmente influenciado pela condição puerperal. As fêmeas que não apresentam qualquer tipo de patologias associadas ao parto (distocia, retenção de placenta, endometrite, cetose e hipocalcémia puerperal) apresentam um período menor de inactividade dos ovários após o parto em

relação às vacas que apresentam estas complicações (El *et al.* 1995 citado por Rabassa, 2007).

Após o parto, o útero e o eixo hipotálamo-hipófise-ovários retomam a sua ciclicidade através da secreção das hormonas gonadotróficas, caracterizando-se por um aumento na frequência dos pulsos de LH fazendo assim com que ocorra novamente um crescimento folicular e a respectiva ovulação, sem que ocorra a exteriorização do cio (se ocorrer é uma manifestação fraca), ocorrendo um ligeiro aumento nos níveis de progesterona (Andrade, 2008). Em 90% das vacas leiteiras esta ovulação ocorre nas seis semanas pós-parto, mas em vacas com alto valor genético, esta pode chegar às 9 semanas (Peter *et al.*, 2009).

Com o parto é frequente ocorrer uma resposta inflamatória, devido à introdução de bactérias patogénicas no aparelho reprodutor da fêmea (Ambrose e Colazo, 2007), resultando num aumento dos níveis de  $PGF_{2\alpha}$ , impedindo desta forma o início precoce da actividade dos ovários até que o processo inflamatório seja extinto, garantindo assim que a fase folicular e lútea sejam funcionais (Sheldon *et al.*, 2002).

Após o parto, o *feedback* negativo provocado pelos elevados níveis da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) são removidos. Verificando-se, em seguida, um aumento da concentração da FSH durante 2 a 3 dias, este aumento verifica-se por norma entre o dia 7 e o 14 após o parto (Figura 2) (Roche, 2006). Resultando o aparecimento da primeira onda folicular pós-parto entre o décimo e décimo quarto dia depois do parto, surgindo 3 a 5 folículos com 4 a 6 mm de diâmetro.



**Figura 2** – Dinâmica folicular, ovulação e concentração da hormona folículo estimulante (FSH), progesterona ( $P_4$ ), estradiol ( $E_2$ ) e a frequência dos pulsos da hormona luteinizante (LH) em bovinos de leite. Adaptado de Roche, 2006.

Com o aumento dos folículos, ocorre a produção de estradiol, que vai fazer com que haja uma diminuição de FSH acabando por inibir a produção desta hormona. Um dos folículos gerados (por norma o que se apresenta com um maior desenvolvimento) é seleccionado, desenvolve-se aumentando a produção de receptores de LH e de factores de crescimento semelhantes à insulina (IGF-I), o que aumenta a capacidade de estimular a proliferação de células da granulosa, sendo portanto, um dos reguladores locais do crescimento folicular, fazendo com que este folículo se torne dominante, ocorrendo a regressão dos outros folículos (Sakaguchi *et al.*, 2004; Roche, 2006; Antunes, 2008)

Alguns autores têm sugerido que se os níveis de FSH não forem suficientes durante o crescimento folicular pode resultar num folículo anormal (Antunes *et al.*, 2008; Peter *et al.*, 2009).

O crescimento deste folículo e da ovulação vai depender de diversos factores, dos quais destaca-se o tamanho do folículo dominante, as

concentrações de IGF-I e à frequência dos pulsos a que a LH está sujeita, pois os níveis de LH nas fêmeas após o parto são baixos que se devem à prolongada exposição a elevados níveis de estrogêneos durante a gestação, o que explica a baixa tendência da hipófise libertar LH em resposta à GnRH, a seguir ao parto (Fortune *et al.*, 2004; Antunes *et al.*, 2008). A frequência dos pulsos de LH necessários para que ocorra ovulação é de aproximadamente um pulso por hora, garantindo assim que ocorra um aumento significativo na concentração de estradiol que é necessário para induzir a ovulação, garantindo assim que ocorra um *feedback* positivo (Kyle *et al.*, 1992).

Segundo estudos realizados por diversos autores citados por Roche (2006), verificaram que entre 30 a 80% dos folículos dominantes ovularam, entre 15 a 60% sofreram atresia e 1 a 5% tornaram-se em folículos quísticos.

Antunes *et al.* (2008) referem que em todas as causas de anestro, de qualquer espécie, têm em comum uma hipersensibilidade ao bloqueio do estradiol na síntese e/ou libertação das hormonas gonadotróficas, assim como a transição entre o anestro e a ciclicidade.

### **III – Materiais e Métodos**

Neste trabalho foram utilizadas 26 nulíparas gestantes da raça *Holstein Friesian*, tendo em média, 26 ( $\pm$  5) meses de idade, com 200 ( $\pm$  21) dias de gestação.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente por dois grupos com 13 animais cada, sendo um considerado como grupo experimental e outro como grupo de controlo.

As novilhas estavam separadas das vacas em lactação, sendo introduzidas na manada de produção cerca de uma semana antes da data prevista para o parto.

Antes do parto, as novilhas encontravam-se na pastagem, sem que lhes tenha sido fornecido qualquer suplemento. Após terem sido colocadas na manada de lactação, além da pastagem foi-lhes fornecida silagem de milho e concentrado comercial.

#### **3.1 - Administração de cápsulas intra-ruminiais de libertação lenta (*All-Trace*<sup>®</sup>)**

No início do estudo foi administrado a cada fêmea do grupo experimental, com ajuda de um aplicador, duas cápsulas intra-ruminiais de libertação lenta (Quadro 5) imediatamente após a primeira recolha de sangue. Estas cápsulas são concebidas de modo a ficarem no retículo, garantindo um fornecimento regular e constante de OE por um período de 240 dias.

**Quadro 5** - Constituintes analíticos das cápsulas intra-ruminais de libertação lenta *All-trace*<sup>®</sup>

<b>Constituintes analíticos</b>	<b>Composição activa</b>	<b>Suplementação diária 2 cápsulas</b>
<b>Cobre (Óxido de cobre)</b>	153,088 mg/Kg	135,0 mg
<b>Cobalto (Carbonato de cobalto)</b>	2,200 mg/Kg	2,0 mg
<b>Iodo (Iodado de cálcio)</b>	4,643 mg/Kg	4,1mg
<b>Manganês (sulfato de manganês)</b>	77,813 mg/Kg	69,0 mg
<b>Selénio (Selenito de sódio)</b>	2,346 mg/Kg	2,1 mg
<b>Zinco (Óxido e Sulfato de Zinco)</b>	125,075 mg/Kg	111,0 mg
<b>Cálcio</b>	0,1%	-----
<b>Sódio</b>	0,13%	-----
<b>Vitamina A</b>	5,135,034 U.I./Kg	4,547
<b>Vitamina D<sub>3</sub></b>	1,027,007 U.I./Kg	909 U.I.
<b>Vitamina E (α-tocoferol como acetato)</b>	10,270 U.I./Kg	9,1 U.I.

**Matérias-primas:** Mistura de Oligoelementos e Vitaminas 74%; Ferro em pó 23%; Agentes de Aglutinação e Revestimento 3%.

### **3.2. - Recolha de Dados**

Depois do parto de cada animal foi registado o tipo de parto (eutócico ou distócico), retenção da placenta e doenças associadas ao periparto (hipocalcémia, mamites, metrites). Foi ainda avaliada a condição corporal (CC) dos animais na semana do parto, numa escala de 1 (muito magros) a 5 (muito gordos), descrito por Ferguson *et al.* (2006).

### **3.3 - Recolha de sangue**

O sangue foi retirado em duas fases distintas: antes e depois do parto através da veia coccígea, por venopunção, sendo utilizadas seringas Terumo<sup>®</sup> de 10 ml e agulhas de 18G.

Na primeira fase foi retirado sangue mensalmente dois meses antes do parto para avaliação dos níveis de progesterona. Na primeira recolha, efectuada antes da administração das cápsulas, foram ainda avaliados os níveis de OE existentes. Após o parto, o sangue foi retirado semanalmente até um máximo de onze semanas.

Para a obtenção do plasma foram utilizados tubos plásticos *Falcon* de 15 ml, nos quais foi adicionado 10% de citrato de sódio a 3,8%, tendo sido transportado para o laboratório em gelo fundente. Para a obtenção do soro foram utilizados tubos de vidro neutros, sem a adição de qualquer tipo de anticoagulantes sendo o sangue transportado para o laboratório à temperatura ambiente.

### **3.4 - Preparação e conservação das amostras**

No laboratório as amostras foram centrifugadas a 1000 x g durante 10 minutos para a obtenção do plasma e do soro, os quais foram colocados em microtubos de 2 ml e conservadas a – 20°C até à sua análise.

### **3.5 - Procedimentos analíticos para determinação da concentração de progesterona e dos oligoelementos**

Todos os procedimentos analíticos foram realizados em laboratórios de análises clínicas de rotina. A progesterona foi avaliada através da técnica Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA).

A determinação dos níveis de Cobre e Manganês foram realizados através de Espectrofotometria de Absorção Atómica em câmara de Grafite. O selénio foi determinado através da Espectrofotometria de Absorção Atómica por geração de hidrogénios sendo o iodo analisado através dos níveis de tiroxina, através de um imunoensaio competitivo de fase sólida.

### **3.6 - Análise estatística**

Para o tratamento dos dados utilizou-se o software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 17.0<sup>®</sup>. Para avaliar se os oligoelementos possuem um efeito significativo nos níveis de progesterona ou na duração do anestro após o parto, foi realizado um teste ANOVA *two-way* seguido de um teste *post-hoc* de Bonferroni. Foi ainda analisada a homogeneidade das variâncias, assim como o pressuposto da distribuição normal da variável dependente.

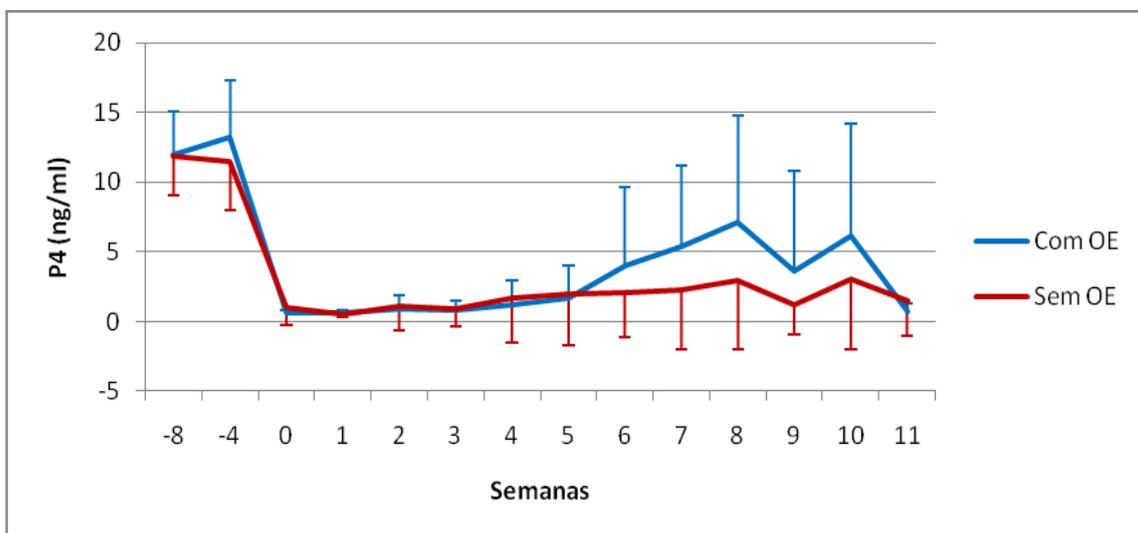
Devido alguns dos dados recolhidos serem em percentagem, houve necessidade de realizar transformações matemáticas correctivas de modo a corrigir os desvios da normalidade. O pressuposto de homogeneidade da variância foi avaliado com o teste de Levene's.

Consideraram-se estatisticamente significativos os testes cujo valor *p* foi inferior a 0,05.

## IV Resultados

### 4.1 – Concentração plasmática de progesterona

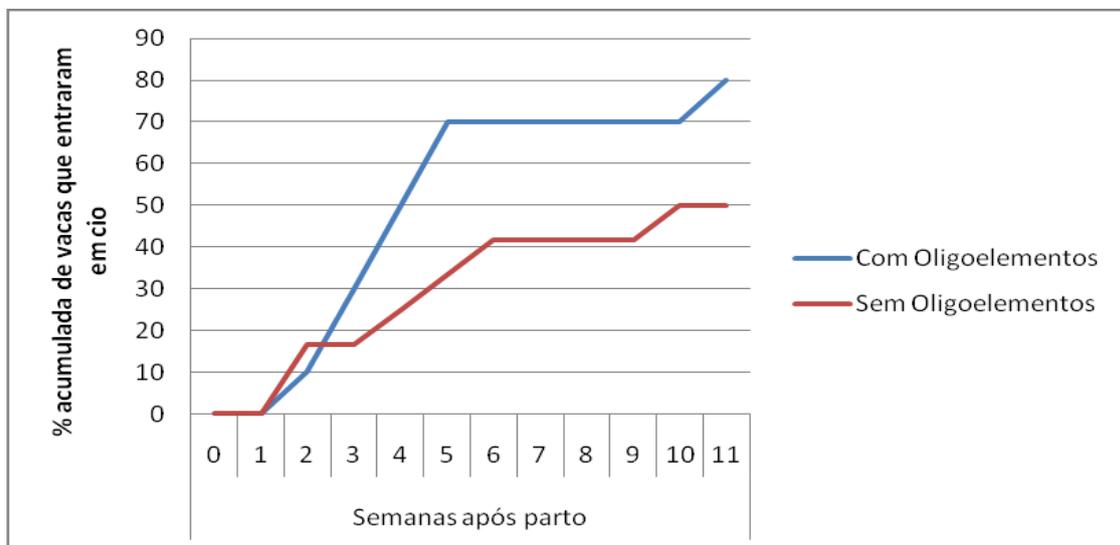
Na avaliação dos níveis de progesterona ( $P_4$ ) aos animais pertencentes aos grupos controlo (n=13) e experimental (n=13) foi observado que no início da experiência aquando da colocação das cápsulas de oligoelementos, ou seja, oito semanas antes do parto, a concentração plasmática de  $P_4$  era idêntica para os dois grupos tendo-se obtido, em média  $11,94 \pm 3,12$  ng/ml e  $11,83 \pm 2,76$  ng/ml, respectivamente para o grupo experimental e para o grupo controlo (Figura 3). Às quatro semanas antes de parto observou-se um ligeiro aumento dos níveis de progesterona para os animais pertencentes ao grupo de tratamento quando comparados com os animais do grupo de controlo.



**Figura 3** – Variação média dos níveis de progesterona plasmática desde a oitava semana antes do parto até à 11ª semana após o parto.

Cada ponto representa a média  $\pm$  desvio padrão de treze animais. O ponto zero representa a semana do parto.

Após o parto (semana zero) no grupo ao qual não foram administrados oligoelementos observou-se, em média, valores superiores de  $P_4$  quando comparados com os valores obtidos no grupo de tratamento. A partir da quinta semana após o parto, no grupo experimental observou-se um aumento dos níveis de  $P_4$ , verificando-se um pico à oitava e à décima semana. Já no grupo controlo os níveis de  $P_4$  mantiveram-se basais até à sétima semana, observando-se um acréscimo apenas à oitava e à décima semana. As diferenças observadas entre os animais pertencentes aos dois grupos não foram, contudo, estatisticamente diferentes. Desta forma, a duração do anestro pós-parto dos animais do grupo de controlo, foi, em média, superior quando comparado com os animais pertencentes ao grupo experimental. Em média, as nulíparas com oligoelementos entraram em cio, aproximadamente vinte e um dias mais cedo do que as do grupo controlo.



**Figura 4** – Percentagem acumulada de vacas que entraram em cio nas primeiras onze semanas após o parto.

Numa análise mais detalhada verificou-se que nas primeiras cinco semanas após o parto 70% dos animais pertencentes ao grupo de tratamento entraram em cio, tendo este valor sido de 33,3% para o grupo controlo, em igual período de tempo. Até à décima semana após o parto, no grupo experimental, mais 10% dos animais em estudo entraram em cio elevando para 80% os animais que entraram em cio durante o período que o estudo decorreu. No grupo em que não foram administrados oligoelementos apenas 50% dos animais estudados apresentaram manifestações de cio nas primeiras onze semanas após o parto. Desta forma, no grupo experimental apenas 20% dos animais do grupo de tratamento é que não entraram em cio, enquanto no grupo de controlo a percentagem de animais que não entraram em cio foi de 50%.

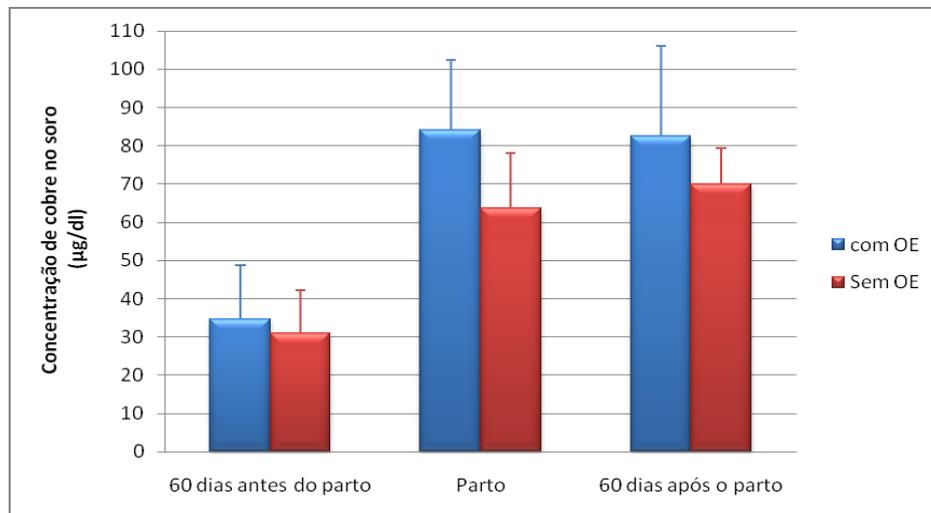
### **4.2. – Concentrações dos oligoelementos no soro sanguíneo**

#### **4.2.1 – Cobre**

No início do ensaio observou-se que todas as novilhas em estudo de ambos os grupos apresentavam carências em cobre (Quadro 6). Verificando-se também que, o grupo de tratamento, em todas as fases: antes do parto, no parto e depois do parto, obteve valores médios superiores aos animais pertencentes ao grupo controlo.

Antes do parto no grupo de controlo obteve-se, em média,  $30,86 \pm 11,5$   $\mu\text{g/dl}$  enquanto o grupo com oligoelementos atingiu  $34,6 \pm 14,2$   $\mu\text{g/dl}$  de média. O valor máximo de cobre obtido foi 55  $\mu\text{g/dl}$  e o valor mínimo registado foi de 11  $\mu\text{g/dl}$ . No parto verificou-se um aumento da concentração de cobre em ambos os grupos, ficando o grupo experimental com uma média de  $84,14 \pm 18,3$   $\mu\text{g/dl}$  e o grupo controlo com  $63,80 \pm 14,34$   $\mu\text{g/dl}$ .

Após o parto, no grupo experimental observou-se uma ligeira diminuição, não significativa, na concentração de cobre ( $82,57 \pm 23,55 \mu\text{g/dl}$ ) quando comparado com o período do parto (Figura 5). Pelo contrário, no grupo controle a concentração de cobre continuou a aumentar passando de  $63,80 \pm 14,34 \mu\text{g/dl}$  para  $70,00 \pm 9,32 \mu\text{g/dl}$ . Apesar de se ter verificado um aumento na média do grupo de controle, este continuou sendo inferior ao observado no grupo experimental.



**Figura 5** - Níveis de cobre no soro sanguíneo em três fases: 60 dias antes do parto, no parto e 60 dias após o parto. Cada valor representa a média + desvio padrão de oito animais.

No parto 42,86 % dos animais pertencentes ao grupo experimental, mesmo depois de suplementados, ainda apresentavam deficiências em cobre, sendo que os restantes 57,14% dos animais possuíam níveis adequados.

**Quadro 6** - Distribuição da percentagem de animais que apresentavam estatuto: deficiente (< 76 µg/dl) e adequado (76 a 154 µg/dl) em cobre.

	60 Dias antes do Parto		Parto		60 Dias Após do Parto	
	Tratamento	Controlo	Tratamento	Controlo	Tratamento	Controlo
<b>Deficiente</b>	100%	100%	42,86%	60,00%	28,57%	50,00%
<b>Adequado</b>	0%	0%	57,14%	40,00%	71,43%	50,00%

Observou-se ainda que, para o grupo controlo, no período do parto, apenas 40% dos animais apresentavam níveis adequados deste mineral.

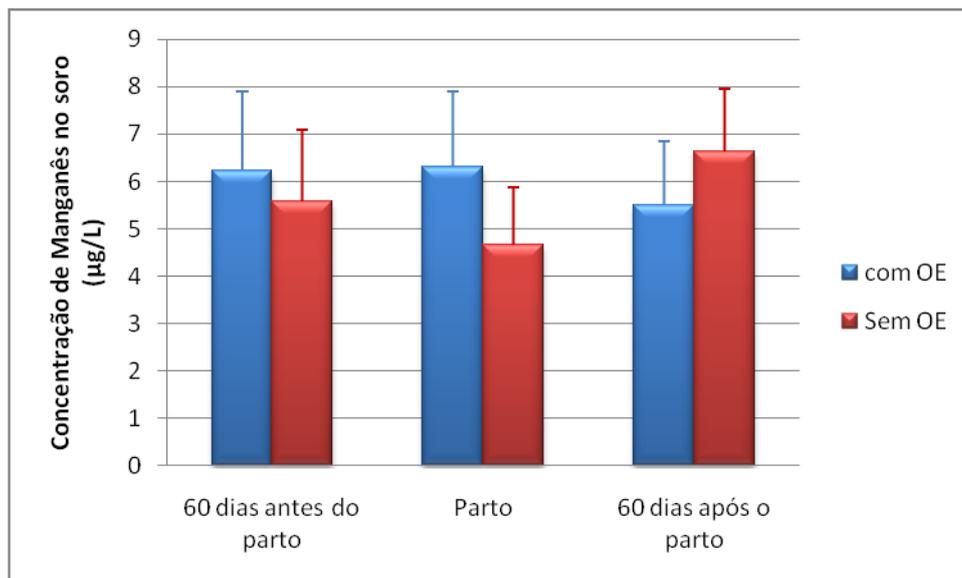
Sessenta dias após o parto, no grupo de controlo, 50% dos animais apresentavam carências, enquanto no grupo experimental apenas 28,57% dos animais apresentavam deficiências em cobre (Quadro 6).

Durante o tempo em que decorreu o ensaio nenhum dos animais estudados apresentou excesso de cobre (valores superiores a 154 µg/dl) no soro.

#### **4.2.2 – Manganês**

Relativamente ao manganês na medição efectuada antes do parto, não foram encontradas diferenças entre os dois grupos, tendo sido observada uma média de  $5,58 \pm 1,52$  µg/dl no grupo controlo e de  $6,23 \pm 1,68$  µg/dl no grupo experimental.

Na altura do parto, as médias obtidas no grupo experimental sofreram uma ligeira subida, quando comparadas com as amostras recolhidas às oito semanas antes do parto, passando para  $6,30 \pm 1,59$  µg/dl. No grupo controlo ocorreu um decréscimo na concentração média do manganês passando para  $4,65 \pm 1,23$  µg/dl (Figura 6).



**Figura 6** – Níveis de manganês no soro sanguíneo em três fases: 60 dias antes do parto, no parto e 60 dias após o parto. Cada valor representa a média + desvio padrão de oito animais.

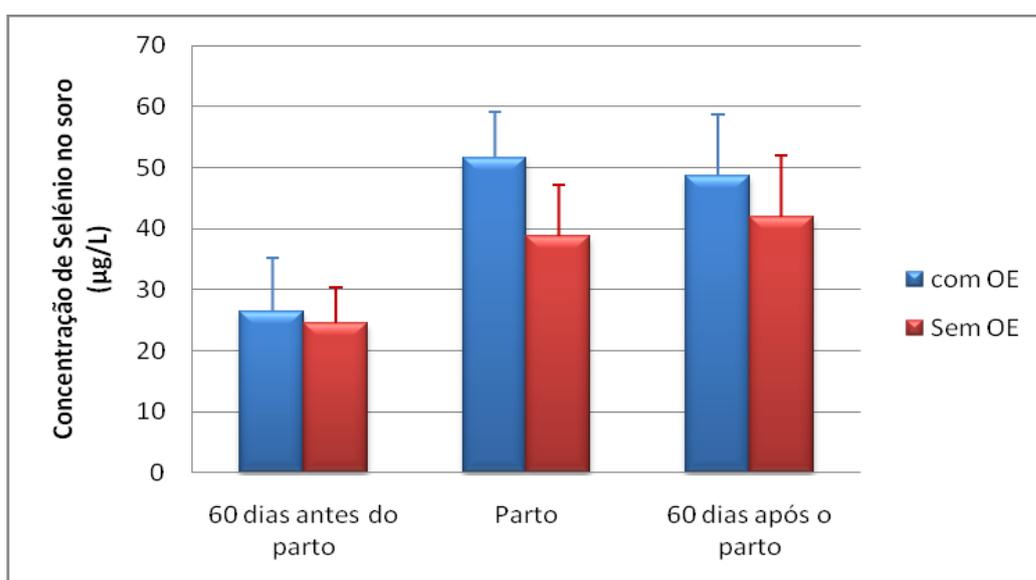
Sessenta dias após o parto os resultados inverteram-se, isto é, a média do grupo sem tratamento superou a média do grupo suplementado com oligoelementos. A média do grupo experimental diminuiu para  $5,51 \pm 1,32$  µg/dl, sendo de  $6,63 \pm 1,31$  µg/dl, para o grupo controlo. Apesar desta variação em nenhuma das fases avaliadas foram encontradas diferenças estatísticas entre os animais pertencentes aos dois grupos. Há que salientar que nesta fase 40% dos animais pertencentes ao grupo experimental apresentavam um estatuto deficiente (valores  $<5$  µg/dl) em relação ao manganês (Quadro 7). No grupo controlo nenhum dos animais se apresentou deficiente a este oligoelemento.

**Quadro 7** – Distribuição da percentagem de animais que apresentavam estatuto: deficiente (< 5 µg/dl), Adequado (6 a 70 µg/dl) e Marginal (6 a 70 µg/dl) em manganês.

	60 Dias Antes do Parto		Parto		60 Dias Após o Parto	
	Tratamento	Controle	Tratamento	Controle	Tratamento	Controle
<b>Deficiente</b>	33,33%	50,00%	28,57%	71,42%	40,00%	0,00%
<b>Marginal</b>	16,67%	16,67%	14,29%	14,29%	20,00%	40,00%
<b>Adequado</b>	50,00%	33,33%	57,14%	14,29%	40,00%	60,00%

#### 4.2.3 – Selénio

Os resultados das análises ao selénio no soro sanguíneo indicam-nos médias de  $26,33 \pm 8,89$  µg/L e de  $24,42 \pm 5,88$  µg/L, respectivamente no grupo de tratamento e de controlo. Com estes resultados observou-se que antes do parto, em ambos os grupos, todos os animais se apresentavam deficitários em selénio, ou seja, em todos os animais pertencentes a ambos os grupos apresentam valores inferiores a 30 µg/L.



**Figura 7** – Níveis de Selénio no soro sanguíneo em três fases: 60 dias antes do parto, no parto e 60 dias após o parto. Cada valor representa a média + desvio padrão de oito animais.

Ao grupo que foram administrados oligoelementos a média, aquando do parto, aumentou para  $51,57 \pm 7,63 \mu\text{g/L}$  (Figura 7). No grupo controlo observou-se um pequeno acréscimo, obtendo-se uma média de  $38,75 \pm 8,50 \mu\text{g/L}$ , porém as diferenças verificadas entre ambos os grupos não foram significativas.

Passados sessenta dias após o parto observou-se que a concentração média de selénio no soro do grupo experimental foi mais baixa em relação à concentração observada no parto, diminuindo para  $48,63 \mu\text{g/L}$  com um desvio padrão de  $10,07 \mu\text{g/L}$ . Os níveis deste oligoelemento no grupo controlo permaneceram mais baixos, passando para  $42,00 \pm 10,01 \mu\text{g/L}$ .

Podemos observar, através do Quadro 8, que nenhum animal estudado conseguiu atingir níveis adequados de selénio, contudo há que registar que no parto apenas 12,5% dos animais apresentavam-se deficientes em selénio e que sessenta dias após o parto não existia nenhum animal com carência deste oligoelemento, estando os animais todos enquadrados no estatuto de marginal (valores entre 30 a  $70 \mu\text{g/L}$ ).

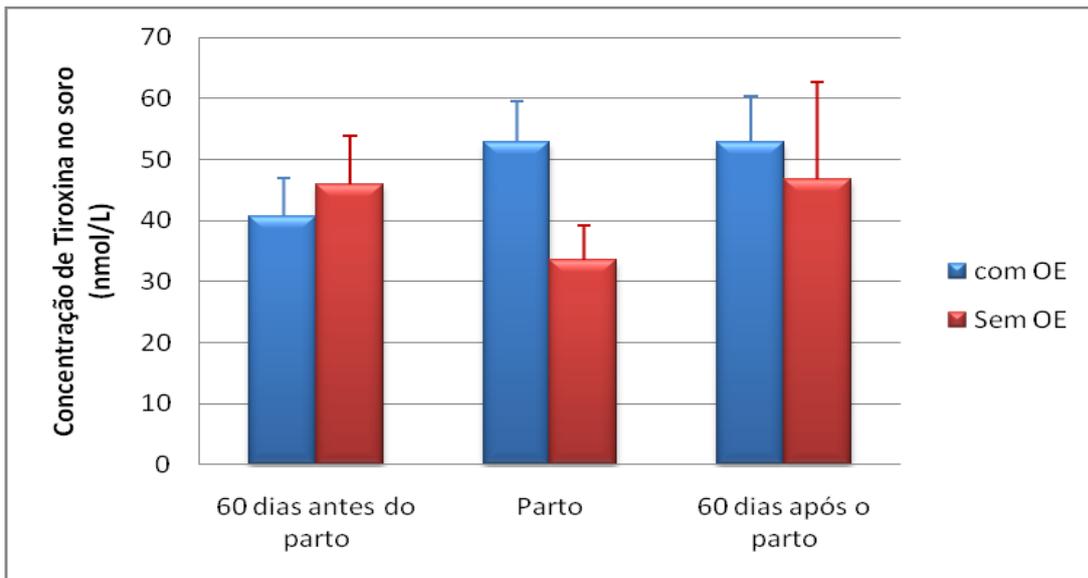
**Quadro 8** – Distribuição da percentagem de animais que apresentavam estatuto: deficiente ( $< 30 \mu\text{g/L}$ ), Adequado ( $> 70 \mu\text{g/L}$ ) e Marginal (30 a  $70 \mu\text{g/L}$ ) em Selénio

	60 Dias Antes do Parto		Parto		60 Dias Após o Parto	
	Tratamento	Controle	Tratamento	Controle	Tratamento	Controle
<b>Deficiente</b>	66,67%	85,71%	0,00%	12,50%	0,00%	0,00%
<b>Marginal</b>	33,33%	14,29%	100,00%	87,00%	100,00%	100,00%
<b>Adequado</b>	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%

### 4.2.4 – Iodo

Verificou-se que, na medição efectuada sessenta dias antes do parto, em média, os níveis da tiroxina T<sub>4</sub> no sangue, no grupo controlo, não eram estatisticamente diferentes aos valores encontrados no grupo de tratamento, tendo-se observado valores de  $45,87 \pm 8,06$  nmol/L para o grupo controlo e de  $40,67 \pm 6,26$  nmol/L para o grupo de tratamento. Na altura do parto, o grupo controlo apresentou em média  $33,52 \pm 5,70$  nmol/L, enquanto que nos animais pertencentes ao grupo experimental este valor subiu para  $52,85 \pm 6,65$  nmol/L ( $p > 0.05$ ) (Figura 8).

Nas amostras de sangue colhidas sessenta dias após o parto, verificou-se que no grupo experimental os valores foram idênticos aos observados no parto, com uma média de  $52,73 \pm 7,65$  nmol/L. No grupo controlo observamos um ligeiro aumento nos níveis de tiroxina após o parto situando-se a média em  $46,71 \pm 15,87$  nmol/L. Não foram observadas diferenças significativas entre qualquer uma destas médias.



**Figura 8** – Níveis de tiroxina no soro sanguíneo em três fases: 60 dias antes do parto, no parto e 60 dias após o parto. Cada valor representa a média + desvio padrão de oito animais.

No Quadro 9, podemos observar que antes do parto todos os animais estudados apresentava os níveis deficientes de tiroxina no soro.

**Quadro 9** – Distribuição da percentagem de animais que apresentavam estatuto: Deficiente (< 54,05 nmol/L), Adequado (54,05 a 110,68 nmol/L) e Excesso (> 110,68 nmol/L) em Tiroxina

	60 Dias Antes do Parto		Parto		60 Dias Após o Parto	
	Tratamento	Controle	Tratamento	Controle	Tratamento	Controle
<b>Deficiente</b>	100,00%	100,00%	50,00%	100,00%	57,14%	71,43%
<b>Adequado</b>	0,00%	0,00%	50,00%	0,00%	42,86%	28,57%

No parto todos os animais estudados pertencentes ao grupo de controlo continuaram em carência de iodo, reflectindo-se nos baixos níveis de T<sub>4</sub>, enquanto no grupo experimental 50% dos animais após a administração das cápsulas apresentaram níveis normais de tiroxina.

Passados sessenta dias do parto podemos observar que, no grupo com tratamento, ocorreu uma diminuição de 7,14% dos animais que se

encontravam com níveis adequados de tiroxina, em relação ao parto, pelo que nesta fase apenas 42,86% dos animais apresentavam níveis adequados de tiroxina. Em relação ao grupo controlo 28,57% dos animais apresentaram concentrações adequadas de tiroxina no soro enquanto que 71,43% dos animais pertencentes a este grupo ainda apresentavam deficiências de tiroxina.

---

## V – Discussão

O objectivo principal do presente estudo foi a avaliação da administração exógena de oligoelementos ao sétimo mês de gestação de novilhas da raça *Holstein-Friesian*, sobre as performances reprodutivas após o parto. No início do trabalho, sessenta dias antes do parto, foram recolhidas amostras de sangue sendo determinado, individualmente, as concentrações de cobre, iodo, selénio e manganês no soro para estimar as concentrações iniciais de cada animal, bem como os níveis individuais de progesterona plasmática.

A determinação dos níveis de selénio foi realizada de acordo com Ullrey (1987) e Sivertsen *et al.* (2005). Segundo estes autores, a determinação deste oligoelemento deve ser efectuada no soro, porque reflecte melhor a ingestão/absorção de selénio da dieta, determinando desta forma o estatuto em que o animal se encontra. Porém, o selénio pode também ser medido no sangue através da actividade da GSH-Px. Assim, sessenta dias antes do parto, os valores médios de selénio no sangue nas novilhas foram de  $26,33 \pm 8,89$   $\mu\text{g/L}$  e de  $24,43 \pm 5,88$   $\mu\text{g/L}$  nos grupos de tratamento e controlo, respectivamente. De acordo com Blood e Radostits (1989) e Kincaid (1999), que indicam como níveis adequados de selénio valores superiores a  $70$   $\mu\text{g/L}$  todos os animais em estudo apresentavam-se deficientes em selénio.

Tal como se observou para o selénio, não existiram diferenças significativas relativamente ao cobre, o qual apresentou, em média  $34,57 \pm 14,25$   $\mu\text{g/dl}$  no grupo experimental e  $30,86 \pm 11,48$   $\mu\text{g/dl}$  para o grupo considerado controlo. Os níveis médios encontrados em ambos os grupos estavam abaixo dos níveis recomendados por Kaneko *et al.* (1997) indicando-nos desta forma que todos os animais estudados se apresentavam deficientes em cobre, no início do estudo.

Para determinar os níveis de iodo no sangue do animal, pode efectuar-se uma análise ao iodo inorgânico plasmático (IIP), contudo Aumont *et al.* (1989) referem que a determinação de IIP reflecte um aumento significativo da concentração de iodo no plasma uma semana antes do parto havendo um declínio súbito destes valores imediatamente após o parto. Segundo McDowell (1992) uma forma de determinar o iodo no organismo, evitando as variações significativas de iodo é através da hormona tiroxina ( $T_4$ ), por esta razão neste trabalho optou-se por determinar os níveis de iodo através da análise desta hormona.

Deste modo, em relação à  $T_4$ , antes do parto observou-se no grupo controlo uma média de  $45,87 \pm 8,06$  nmol/L, valor superior ao encontrado no grupo experimental cuja média foi de  $40,67 \pm 6,26$  nmol/L. Atendendo a que as médias de ambos os grupos estão abaixo dos 56 nmol/L, referenciados por Burton (1992) como valores normais de tiroxina em bovinos, permite inferir que, nesta fase, todos os animais em estudo apresentavam carências em iodo.

De entre os oligoelementos analisados o manganês foi o único, segundo Rojas *et al.* (1965) e Puls (1988), que sessenta dias antes do parto, apresentavam níveis médios no soro adequados, situando-se as médias em  $6,23 \pm 1,68$  µg/L e  $5,57 \pm 1,52$  µg/L, nos grupos de tratamento e controlo, respectivamente.

Todas as diferenças encontradas entre o grupo de tratamento e de controlo antes do parto não foram estatisticamente significativas, tal como esperado, uma vez que os animais em estudo eram homogéneos e foram distribuídos de uma forma aleatória pelos grupos de controlo e experimental. Com os resultados obtidos nesta fase, isto é, sessenta dias antes do parto, observou-se que todos os animais apresentavam deficiências em cobre, iodo e

selénio. Para o manganês 41,67% dos animais apresentavam níveis adequados antes do parto. Contudo, 16,67% dos animais apresentam uma deficiência marginal em manganês. Segundo Almeida (2009), apesar de a concentração de manganês no soro ser deficiente não impede o organismo de desempenhar as funções metabólicas essenciais. Os resultados obtidos neste trabalho vão de encontro aos resultados previamente publicados por Pinto e colaboradores (2007) que verificaram que, para os Açores, mais de 92% dos animais estudados apresentam níveis de iodo plasmático muito baixos, associados a valores de  $T_4$  inferiores ao normal. Em relação ao Selénio, segundo os mesmos autores, 85% das novilhas apresentam valores inferiores aos recomendados. No presente trabalho, antes do parto, nenhum dos animais estudados apresentava níveis adequados de selénio, sendo que 81,2% das novilhas em estudo mostravam deficiências severas em selénio, os restantes 18,8% enquadravam-se no estatuto de deficiência marginal.

Os valores observados neste estudo, no que se refere ao cobre, são superiores aos encontrados por Pinto *et al.* (2007<sup>b</sup>) cujos trabalhos revelaram que 72% das novilhas estudadas se encontravam necessitados deste oligoelemento.

São múltiplos os factores que podem influenciar a concentração de oligoelementos no solo, nomeadamente a época do ano, o pH do solo, as fertilizações, o teor de humidade, a precipitação e o tipo de solos (Grace, 1994), entre outros. Além disso, é sabido que as regiões com solos de origem vulcânica são pobres em oligoelementos. Segundo a Direcção Regional do Desenvolvimento Agrário da Região Autónoma dos Açores, numa publicação de 2007, os solos dos Açores são deficientes em iodo, selénio, cobre e zinco. Por conseguinte as plantas forrageiras produzidas nestes solos vão reflectir

estas carências, bem como os animais que pastoreiam nestas áreas (Pinto *et al.*, 2007<sup>b</sup>).

Um dos factores que poderá justificar a baixa concentração de oligoelementos está relacionado com o maneio das novilhas nos Açores que por norma, são criadas nas pastagens menos férteis, sendo comum verificar-se subnutrição nestes animais. A estes animais não lhes são fornecidos suplementos nem concentrados até estes entrarem na manada em lactação, o que normalmente ocorre cerca de duas semanas antes do parto.

Os resultados da progesterona, sessenta dias antes do parto, não diferiram significativamente entre ambos os grupos, tendo o grupo controlo obtido em média  $11,83 \pm 2,76$  ng/ml enquanto o grupo experimental obteve em média  $11,94 \pm 3,12$  ng/ml. A um mês do parto os níveis médios de progesterona no grupo experimental aumentaram para  $13,20 \pm 4,10$  ng/ml, no grupo de controlo a média desceu em relação à medição anterior ficando-se pelos  $11,45 \pm 3,46$  ng/ml. As variações observadas em ambos os grupos não foram significativamente diferentes. Estes valores elevados devem-se ao facto de todos os animais se encontrarem no final da gestação, sendo que nesta altura a progesterona é produzida não só pelo corpo lúteo gravídico, bem como pela placenta que se encontra no seu máximo desenvolvimento.

Após o parto foram efectuadas mais duas análises aos oligoelementos, uma no dia seguinte ao parto e a outra passados sessenta dias, de modo a avaliar a sua evolução. Os valores obtidos não foram estatisticamente diferentes quando comparadas estas duas avaliações entre si.

No grupo experimental, para todos os oligoelementos em análise, observou-se um aumento na concentração média entre a recolha efectuada antes da colocação dos oligoelementos e os valores registados no dia a seguir

ao parto. O mesmo se sucedeu com a análise efectuada sessenta dias após o parto, à excepção do manganês. Contudo, apenas no cobre e no selénio é que estes aumentos foram estatisticamente diferentes ( $p < 0,01$ ).

Relativamente ao grupo controlo para o cobre e o selénio, verificou-se, no dia seguinte ao parto e sessenta dias após este, um aumento nas concentrações obtidas na análise efectuada dois meses antes do parto, mas apenas os aumentos obtidos para o cobre é que foram estatisticamente diferentes ( $p < 0,05$ ) nestas duas medições. Estes resultados vão ao encontro dos obtidos por Mehere *et al.* (2002) e por Akhtar *et al.* (2009) nos quais, no último mês de gestação ocorre um acréscimo na concentração de cobre nos ruminantes. Uma das razões apontadas por Yokus e Cakir (2006) para ocorrer um aumento dos níveis de cobre no soro dos bovinos na altura do parto prende-se com o aumento da taxa da síntese de ceruloplasmina, que resulta do aumento dos níveis de estrogénios durante os últimos 20 a 30 dias de gestação. Outra razão apontada por Pathak *et al.* (1986) para o aumento da concentração de cobre na altura do parto nos últimos dez dias de gestação está relacionada com o processo fisiológico do parto que, segundo estes autores, são necessárias elevadas concentrações de cobre para que as glândulas endócrinas relacionadas com o parto iniciem a sua actividade. No presente trabalho, não se verificou que na altura do parto ocorressem concentrações elevadas de cobre no soro, pois 60% dos animais pertencentes ao grupo controlo e 42,86% do grupo de tratamento na altura do parto apresentavam níveis deficientes de cobre.

No grupo controlo, os aumentos verificados no selénio e no cobre, entre a recolha efectuada antes e após o parto, poderão ser o resultado de uma melhoria na alimentação, uma vez que como anteriormente descrito, estes

animais estavam em pastagens pobres, sendo colocadas cerca de duas semanas antes do parto conjuntamente com o grupo de vacas em lactação, de forma a adaptarem-se progressivamente. Desta forma estes animais passaram a pastorear em pastagens melhoradas, recebendo ainda uma alimentação suplementada com concentrados, que na sua constituição analítica está referenciada a existência de cobre e vitamina E. Segundo Valle (2002) existe uma inter-relação nutricional complexa entre a vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) e o selénio, isto porque as funções antioxidantes destes elementos estão intimamente ligadas e podem compensar-se.

Em relação ao iodo e ao manganês, verificou-se que ocorreu um decréscimo destes oligoelementos entre a primeira e a segunda recolha de sangue. Apesar do decréscimo verificado na altura do parto, passados sessenta dias, aquando nova recolha de sangue para análise dos oligoelementos os valores das concentrações eram superiores aos encontrados antes do parto. Magdub e Johnson (1977) e Thilstead (1985) verificaram que no início da lactação a concentração de  $T_4$  no soro é muito baixa. Contreras *et al.* (1999) refere que pode existir uma relação entre a excreção de iodo para o colostro e o declínio na concentração da  $T_4$ . Este autor também refere que pode haver uma ligação entre o balanço energético negativo e os baixos níveis de  $T_4$ .

Relativamente à variação dos níveis médios de progesterona plasmática nos grupos de tratamento e de controlo, observou-se que após parto, tal como era esperado estes decaíram para níveis basais. Efectivamente, na fisiologia ovárica da vaca, observa-se um anestro pós parto cuja média é de seis semanas, podendo aumentar consideravelmente se o parto for distócico, ou

houver retenção placentária. No presente trabalho todos os animais tiveram partos normais, e nenhum deles teve retenção da placenta.

Durante as primeiras quatro semanas depois do parto, os resultados médios obtidos não sofreram variações, mantendo-se os valores da progesterona em níveis basais em ambos os grupos.

Em relação às vacas que entraram em cio observou-se que, nas onze semanas em que decorreram o estudo, 35% das vacas não entraram em cio. O valor obtido foi maior ao indicado por Alvarez (2009) que refere que num manejo adequado apenas 10% das vacas não entram em cio nos primeiros 60 dias após o parto. Cinco semanas após o parto no grupo em que foram administrados os oligoelementos a percentagem de vacas que tinham manifestado o cio era de 70%, enquanto no grupo de controlo apenas 33,33% dos animais haviam demonstrado sinais de cio. Esta tendência manteve-se até ao final do estudo. No final da recolha de dados, onze semanas após o parto, observou-se que para o grupo controlo apenas 50% das fêmeas estavam cíclicas, enquanto para o grupo experimental este valor foi de 80 % sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

### VI – Conclusões e perspectivas futuras

Tendo em conta as condições em que este trabalho foi desenvolvido, podemos inferir que a administração de oligoelementos a nulíparas, cerca de dois meses antes do parto, resulta num menor tempo de anestro pós-parto de aproximadamente 21 dias, com maior desenvolvimento dos corpos lúteos o que se traduz numa maior concentração plasmática da progesterona durante o ciclo éstrico destes animais, quando comparados com os animais que não sofreram qualquer tipo de tratamento.

Atendendo a que, todos os oligoelementos analisados, à excepção do manganês, se encontravam em défice, e que estes não foram totalmente supridos após a administração das cápsulas, sugerimos que os animais sejam suplementados com oligoelementos, nomeadamente cobre, iodo e selénio.

Contudo, é necessária a elaboração de mais estudos nesta área, abrangendo diferentes áreas geográficas e com uma maior duração, de forma a englobar mais do que um ano para que se possa verificar se existem diferenças com o variar das estações do ano, trabalhar com um maior número de animais e testar a aplicação dos oligoelementos em grupos de animais com idades e lactações diferentes.

## VII- Referências Bibliográficas

Akhtar, M.S., Farooq, A.A., Mushtaq, M. 2009. Serum trace minerals variation during pre and post –partum period in nili-ravi buffaloes. The journal of Animal & Plant Sciences, 19 (4): 182-184.

Almeida, S. 2009. Efeito da administração intra-muscular de Vitamina E e Selênio aos 21 dias ante parto, na redução da incidência de Retenções Placentárias, nos bovinos leiteiros de S. Miguel. Dissertação de Tese de Mestrado de Produção Animal. Ponta Delgada, Portugal.

Alvarez, R.H. 2009. Problemas reprodutivos no pós-parto de vacas leiteiras. Artigo disponível em:  
[http://www.infobibos.com/Artigos/2009\\_3/ProblemasReprodutivos/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2009_3/ProblemasReprodutivos/index.htm)  
Pesquisado em: 24 de Abril de 2010.

Alves, N. 2009. Micronutrientes e reprodução animal. Boletim técnico Serrana Nutrição Animal. 93ª Edição, Bunge, Brasil.

Ambrose, D.J. e Colazo, M.G. 2007. Reproductive status of dairy herds in Alberta: a closer look. Proceedings of the 2007 Western Canadian Dairy Seminar. Advanced Dairy Technology, 19: 22-44.

Andrade, M. 2009. Efeito da administração de oligoelementos nas performances da vaca leiteira. Validação do método NIR (Near Infrared Reflectance Spectroscopy) para a análise de forragens. Dissertação da Tese de Mestrado de Produção Animal. Angra do Heroísmo, Portugal.

Antunes, G. Marques, A., Santos, P. Chaveiro, A. Moreira da Silva, F. 2008. Atlas do Ovócito e do Embrião Bovino. 1ª Edição, Editora: Príncipia. Açores, Portugal.

Aréchiga, C.F., Vásquez-Flores, S., Ortins O., Hernandez-Cerón, J., Porras A., McDowell, L.R., Hansen P.J. 1998. Effect of injection of beta-carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology*, 50: 65-76.

Aumont, G., Lamard, M., Tressol, J.C. 1989. Iodine nutrition in ewes: effects of low to high iodine intake on iodine content of biological fluids in pregnant and lactating ewes. *Reproduction Nutrition Development*, 29: 113-125.

Auza, N.J., Olson, W.G., Murphy M.J., Linn, J.G. 1999. Diagnosis and treatment of copper toxicosis in ruminants. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 214: 1624–1628.

Azevedo, E. 2008. O Clima dos Açores. Artigo disponível em: [http://www.angra.uac.pt/ggcn/downloads/mgcn\\_pico\\_2007\\_dg4.pdf](http://www.angra.uac.pt/ggcn/downloads/mgcn_pico_2007_dg4.pdf).  
Pesquisado em: 12 de Maio de 2010.

Basini, G. e Tamanini C. 2000. Selenium stimulates estradiol production in bovine granulosa cells: possible involvement of nitric oxide. *Domestic Animal Endocrinology*, 18: 1-17.

Bellows, R.A., Short, R.E., Richardson, G.V. 1982. Effects of sire, age of dam and gestation feed level on dystocia and postpartum reproduction. *Journal of Animal Science*, 55: 1827.

Blood, D.C. e Radostits O.M. 1989. *Veterinary Medicine*, 7<sup>th</sup> Edition, London, Ballière Tindall.

Boland, M.P. 2003. Trace minerals in production and reproduction in dairy cows. *Advanced Dairy Technology*, 15: 319–330.

Braun, U., Forrer, R., Fürer, W. Lutz H. 1991. Selenium and Vitamin E in blood serum of cows from farms with increased incidence o disease. *Veterinary Record*, 128: 543-547.

Burton, S. 1992. Handbook of diagnostic endocrinology. Atlantic Veterinary College. University of Prince Edward Island. Charlottetown.

Butler, W.R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 60(61): 449-457.

Butler, W.R. 2003. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science*, 83: 211-218.

Contreras, P.A., Wittwer, F., Ruiz, V. Robles, M.V., Brohmwald, H. 1999. Valores sanguíneos de triyodotironina y tiroxina en vacas Frisión Negro a pastoreo. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 31 (2): 23-74 Valdivia, Chile.

Corah, L.R. e Ives S. 1991. The effects of essencial trace minerals on reproduction in beef cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 7: 41-57.

Correia, A. 2006. Caracterização dos Subcentros de Inseminação Artificial de Bovinos nos Açores. Relatório de estágio da Licenciatura em Engenharia Zootécnica. Universidade dos Açores, Departamento Ciências Agrárias. Angra do Heroísmo.

Costa, C. 2006. Efeito da suplementação parenteral de minerais e vitaminas sobre o desempenho de vacas nelore. Dissertação de mestrado em Ciências Veterinárias. Minas Gerais, Brasil.

Devant, M. e Bach, A. 2004. Microminerales en la nutrición del ruminante: aspectos técnicos y consideraciones legais. XX curso especializacion fedna. Barcelona, Espanha.

Doherty, T.J. e Mulville, J.P. 1992. Diagnosis and treatment of large animal diseases. W.B. Saunders. Philadelphia.

Domingues, P., Langoni, H., Padovani, C., Gonzales, J., Fregonesi, O. 2001. Determinação de gordura, proteína, cobre, ferro, manganês, zinco e contagem de células somáticas no leite de vacas com mastite subclínica. Seminário: Ciências Agrárias, Londrina, 2(22): 169-174.

Engle, T.E., Fellner, V., Spears, J.W. 2001. Cooper status, serum cholesterol, and milk fatty acid profile in Holstein cows fed varying concentrations of copper. Journal of Dairy Science, 84: 2308-2313.

Enjalbert, F., Lebreton, P., Salat, O. 2006. Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: retrospective study. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 90: 459-466.

Erskine, R.J. e Bartlett, P.C. 1993. Serum concentrations of copper, iron, and zinc during *Escherichia coli* induced mastitis. Journal of Dairy Science, 76: 408-13.

Ferguson, J., Azzaro, G., Licitra, G. 2006. Body Condition Assessment Using Digital Images. Journal of Dairy Science, 89: 3833-3841.

Filappi, A., Prestes, D., Cecim, M. 2005. Suplementação mineral para bovinos de corte sob pastejo – Revisão Veterinária Notícias, 11(2): 91-98.

Fortune J.E., Riviera, G.M., Yang, M.Y. 2004. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. Animal Reproduction Science, 22: 171-180.

Frédéric, R. 2002. Mise en évidence des carences en oligo-éléments dans les exploitations bovines. Proceedings of the Veterinary Sciences Congress, 95-106.

Grace N., 1994. Managing Trace Element Deficiencies. 1<sup>st</sup> Edition, AgReserch, New Zealand.

Graham, T.M. 1991. Trace Element Deficiencies in Cattle. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*, 7: 153-215.

Griffiths, L.M., Loeffler, S.H., M.T. Socha, Tomlinson, D.J., Jonhson. 2007. Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalto en lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zeland. *Animal Feed Science and Technology*, 137: 69-83.

Harris, B., Adms, A.L., Van Horn, H.H. 2006. Mineral Needs of Dairy Cattle. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/DS122>. Pesquisado em 10 de Maio de 2010.

Heinrichs, A.J., Costello, S.S. Jones, C.M. 2009. Control of heifer mastitis by nutrition. *Veterinary Microbiology*, 134: 172-176.

Henry, P.R., Ammerman, C.B., Littell, R.C. 1992. Relative bioavailability of manganese from a manganese-methionine complex and inorganic sources for ruminants. *Journal of Dairy Science*, 75: 3473–3478.

Hostetler, C.E., Kincaid, R.L., Mirando, M.A. 2003. The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. *Journal Veterinary*, 166: 125-139.

Jukola E.; Hakkarainen J.; Saloniemi H., Sankari S., 1996. Blood selenium, vitamin E, vitamin A, and  $\beta$ -carotene concentrations and udder health, fertility treatments and fertility. *Journal of Dairy Science*, 79: 838.

Kaneko, J.J., Harvey, J., Bruce, L.M. 1997. *Clinical Biochemistry of Domestic of Animals*. 5<sup>th</sup> Edition. San Diego, Academic Press, USA.

Kellog, D.W., Tomlinson, D.J., Socha, M.T., Johnson, A.B. 2004. Effect of feeding zinc methionine complex on milk production and somatic cell count of diary cattle: twelve-trial summary. *Journal Animal Sciences*, 19: 1-9.

Kim, H.S., Lee, J.M., Park, S.B., Jeong, S.G., Jung, J.K., Im, K.S. 1997. Effect of Vitamin E and selenium on the reproductive performance in dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 10: 308–312.

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

Knowles, S.O., Grace, N.D., Wurms, K., Lee, J., 1999. Significance of amount and form of dietary selenium on blood milk, and casein selenium concentrations in grazing cows. *Journal of Dairy Science*, 82: 429-437.

Kommisrud, E.; Østerås, O.; Vatn T. 2005. Blood selenium associated with health and fertility in Norwegian dairy herds. *Acta veterinaria Scandinavica*, 46: 229-240.

Kyle, S.D., Callahan, C.J., Allrich, R.D., 1992. Effect of progesterone on the expression of estrus at the first postpartum ovulation in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 75: 1456–1460.

Larson, C.K., 2005. Role of trace minerals in animal production –What do I need to know about trace minerals for dairy cattle? In *Proceedings 2005 Nutrition conference*, Tennessee.

Lindmark-Mansson, H., Fonden, R., Petterson H.E. 2003. Composition of Swedish dairy milk. *International Dairy Science*, 13: 409-425.

Lucy M.C. 2007. Fertility in high-producing dairy cows: reasons for decline and corrective strategies for sustainable improvement. *Society for Reproduction and Fertility*, Suppl. 64: 237–54.

Maas, J. 1987. Relationship between nutrition and reproduction in beef cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 3: 633-634.

Maas, J. Parish S.M., Hodgson D.R. e Valberg S. J., 1996. Nutritional myodegeneration. *Large Animal Internal Medicine*, 1513-1518.

Magdub, A.B. e Johnson, H.D. 1977. Estimation of thyroid function in regard to milk production by measures of plasma thyroxine and thyroxine turnover. *Journal of Reproduction Science*, 60(1): 106.

McCoy, M.A., Smyth J.A., Ellis, W.A., Arthur, J.R., Kennedy D.G. 1997. Experimental reproduction of iodine deficiency in cattle. *Veterinary Record*, 141: 544-547.

McDonald, P., Edwards R.A., Greenhalgh, J.F.D. 2002. *Animal nutrition: trace elements*. 6<sup>th</sup> Edition. Pearson: Edinburgh. United Kingdom.

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

McDowell, L.R. 1999. *Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil*. Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

McDowell, L.R. e Valle, G. 2000. *Major minerals in forages: Forage evaluation in ruminant nutrition*. London, CAB International, 373- 397.

McDowell, L.R. 2003. *Minerals in animal and human nutrition*. 2<sup>nd</sup> Edition, Elsevier Amesterdan.

Meglia, G.E., Holtenius, K., Petersson, L., Öhagen P., Waller, K.P., 2004. Prediction of Vitamin E, Selenium and Zinc status of periparturient dairy cows using blood sampling during the mid dry period. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 45: 119-128.

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*, 72 (2): 148-150.

Mohebbi-Fani, M., Nazifi, S., Ansari-Lari, M., Namazi, F. 2009. Mixed mineral deficiencies in a dairy herd with subclinical production disorders. *Journal comparative Clinical Pathology*, Springer London, 19: 37-41.

Moreira da Silva, F., Burvenich, C. Massart-Leen, A.M., Brossé, L. 1997. Assessment of blood neutrophil oxidative burst activity in dairy cows during the period of parturition. *Animal Science*, 67: 421–426.

Moro, S., Weber, G., Marenzi, K., Signorini, E., Rovelli, R., Proverbio, M.C. 1999 Longitudinal changes of bone density and bone resorption in hyperthyroid girls during treatment. *Journal of bone and mineral research*, 14(11): 1971-1977.

Moyo, N., Nielen, M., Kruiwagen, C., Beynen, A.C. 2005. Vitamin E supplementation and udder health a meta-analysis. *Mastitis in dairy Production*. Wageningen. The Netherlands, 159-171.

Mulligan, F.J., O'Grady, L., Gath, V.P., Rice, D.A., Doherty, M.L. 2006. Nutrition and fertility in dairy cows. *Irish Veterinary Journal*. 60(5): 311-316.

Nielsen, F.H. 1991. Nutritional requirements for boron, silicon, vanadium, nickel, and arsenic: current knowledge and speculation. *Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 5: 2661–2667.

Nockels, C.F., DeBonis, J., Torrent, J. 1993. Stress induction affects copper and zinc balance in calves fed organic and inorganic copper and zinc sources. *Journal Animal Sciences*, 71: 2539-2545.

National Research Council (NRC), 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7<sup>th</sup> Edition, National Academy Press, Washington, DC.

Olson, J.D., 1995. The role of selenium and vitamin E in mastitis and reproduction of dairy cattle. *Cattle Practice*. 3: 47-49.

Olson, W.G., Stevens J.B., Anderson, J., Haggard, D.W. 1984. Iodine toxicosis in six herds of dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 184: 179-181.

Opsomer G, Gröhn Y, Hertl J, Coryn M, Deluyker H, de Kruif A. 2000. Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology*, 53: 841-857.

Paschoal, J.J., Zanetti, M.A., Cunha, J.A., Lima, C.G. 2002. Efeito da suplementação de vitamina E sobre a contagem de células somáticas no leite de vacas holandesas. *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Recife.

Pathak, M.M., Patel, A.V. e Jankiraman, K. 1986. Blood serum copper at different stages of pregnancy in Surti buffaloes. *Indian Journal Animal Science*, 56: 1202-1204.

Pavlata, L., Pechová, A. Dovrác, R., 2004. Microelements in Colostrum and Blood of Cows and their Calves during Colostral Nutrition. *Acta Veterinaria Brno*, 73: 421–429.

Pechová A, Pavlata L, Lokajová, E. 2006. Zinc supplementation and somatic cell count in milk of dairy cows. *Acta Veterinaria Brno*, 75: 355-361.

Perry, R.C., Corah, R.L., Cochran, R.C., Beal, W.E., Stevenson, J.S., Minton, J.E., Simms, D.D., Brethour, J.R. 1991. Influence of dietary energy on follicular development, serum gonadotropins, and first postpartum ovulation in suckled beef cows. *Journal of Animal Science*, 69: 3762-3773.

Peter, A.T., Vos, P.L., Ambrose, D.J. 2009. Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology*, 71: 1333-1342.

Phillipo, M., Humphries, W., Atkinson, T., Henderson G.W., Garthwaite, P.H. 1987. The effect of dietary molybdenum and iron on copper status, puberty, fertility and oestrus cycles in cattle. *Journal of Agricultural Science*, 66: 669-673.

Pinto, C., Viana, J., Aranha, P. 2007<sup>a</sup>. VII Encontro da Sociedade Portuguesa de Epidemiologia e Medicina Veterinária Preventiva. Comunicação oral: *Carências em oligoelementos em bovinos dos Açores*. Suplemento da Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias. Peniche, Portugal.

Pinto, C., Viana, J., Aranha, P. 2007<sup>b</sup>. VII Encontro da Sociedade Portuguesa de Epidemiologia e Medicina Veterinária Preventiva. Comunicação oral: *Avaliação do efeito da administração de oligoelementos no crescimento de novilhos*. Suplemento da Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias. Peniche, Portugal.

Puls, R. 1988. Mineral Levels in Animal Health. Sherpa International, Clearbrook, B.C., Canada.

Rabassa, V.R., Pfeifer, L.F.M, Schneider, A., Luz, E.M., Eugênio Roberto Medeiros Costa, E.R.M., Corrêa, M.N. 2007. Postpartum Anestrous in Cattle: Physiological Mechanisms and Hormonal Alternatives to Reduce this Period – A Review. *Revista da Faculdade de Zootecnia e Agronomia*, 14(1): 139-161.

Radostits, O.M. 2001. Herd health: food animal production medicine. 3<sup>rd</sup> Edition W.B.Saunders, Philadelphia.

Roche, J.F. 2006. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science*, 96: 282-296.

Rojas, M.A., Dyer, I.A. e Cassatt, W.A. 1965. Manganese deficiency in the bovine. *Journal Animal Science*, 24: 664-667.

Rukkwamsuk, T., Wensin, T., Geelen, H. 1998. Effect of overfeeding during the dry period on regulation of adipose tissue metabolism in dairy cows during the periparturient period. *Journal Dairy Science*, 81: 2904–2911.

Safaralizadeh, R., Kardar, G.A., Pourpak, Z., Moin, M. Teimousarian, S. 2005. Serum concentration of Selenium in healthy individuals living in Tehran. *Nutrition Journal*, 4: 32.

Sakaguchi, M., Sasamoto, Y., Suzuki, T., Takahashi, Y., Yamada, Y., 2004. Postpartum ovarian follicular dynamics and estrous activity in lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*, 87: 2114–2121.

Santos, J.E.P. 1999. Efeitos da nutrição na reprodução. Revisão. Veterinary Medicine Teaching and Research Center, School of Veterinary Medicine, UC-Davis.

Scaletti, R.W., Trammell, D.S., Smith, BA, Harmon, R.J. 2003. Role of dietary copper in enhancing resistance to *Escherichia coli* mastitis. *Journal Dairy Science*, 86: 1240-1249.

Schroeder, J. 2004. Use of minerals in dairy cattle. North Dakota State University Fargo, North Dakota.

Secretaria Regional da Agricultura e Florestas – Direcção Regional do Desenvolvimento Agrário. 2007. Manual de Boas Práticas Sanitárias. 1ª Edição. Nova Gráfica. Açores.

Sheldon, I.M., Noakes, D.E., Rycroft, A.N., Pfeiffer, D.U., Dobson H., 2002. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Society for Reproduction and Fertility*, 123: 837-845.

Sivertsen, T., Øvernes, G., Østerås, O., Nymo, U., Lunter T., 2005. Plasma, vitamin E and blood selenium concentrations in Norwegian dairy cows: Regional differences and relations to feeding and health. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 46: 177-191.

Smith, L.K., Harrison, J.H., Hancock, D.D., Todhunter, D.A., Conrad, H.R. 1984. Effect of vitamin E and Selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *Journal of Dairy Science*, 67: 1293-1300.

Smith, O.B. e Akinamilo, O.O. 2000. Micronutrients and reproduction in farm animals. *Animal Reproduction Science*, 60(61): 549-560.

Spears, J.W. 2003. Trace Mineral Bioavailability in Ruminants. *The Journal of Nutrition*. American Society for Nutritional Sciences.

Stowe, H.D., Thomas, J.W., Johnson, T., Marteniuk, J.V., Arteniuk, J.V.; Morrow, D.A., Ullrey, D.E. 1988. Responses of Dairy Cattle to long-term and short-term supplementation with oral selenium and vitamin E. *Journal of Dairy Science*, 71: 1830-1839.

Thilstead, S.H. 1985. Regulation of nutrients in the dairy cow in late pregnancy and early lactation, *Tierphysiol Tierernährung Futtermittelk*, 53: 10-18.

Tokarnia C.H., Döbereiner J., Moraes S.S., Peixoto P.V. 1999. Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos - revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 19(2): 47-62.

Ullrey, D.E. 1987. Biochemical and physiological indicators of selenium status animals. *Journal of Animal Science*, 65: 1712-1726.

Underwood, E.J e Suttle, N.F. 1999. The mineral nutrition of livestock. 3<sup>rd</sup> Edition, Londres.

Unger, M. e Barbará, M.A. 2008. Trace elements physiological relevance in bone metabolism. *Revista Electronica Veterinária*, 10(10): 1695 -1712.

Valle, S. F. 2002. Caracterização do perfil mineral em bovinos de corte em Cachoeira do Sul. Tese de mestrado. Universidade do Rio Grande do Sul, Brasil.

Vasquez, E.F.A., Herrera, A.P.N., Santiago, G.S. 2001. Copper, Molybdenum and Sulphur interaction in ruminant nutrition. *Ciência Rural*, Santa Maria, 31(6): 1101-1106.

Weiss, W.P. e Hogan, J.S. 2005. Effect of selenium source ou selenium status neutrophil function and response to intramammary endotoxin challenge of dairy cows. *Journal Dairy Science*, 88: 4366-4374.

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: 323 – 326.

Wilde D. 2006. Influence of macro and micro minerals in the peri-parturient period on fertility in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 96(3): 240-249.

Wildman, E. E., Jones, G.M., Wagner, P.E., Boman, R.L., Truth, H.F., Lesch T.N. 1982. A dairy cow body condition scoring system and relationship to standard production characteristics. *Journal Dairy Science*, 65: 495-501.

Wittwer, F.1998. Estrés oxidative y selenio en bovinos. *Nutrição mineral em ruminantes*. 2<sup>a</sup> Edição. Porto Alegre.

Yavas, Y. e Walton, J.S. 2000. Postpartum acyclicity in suckled beef cow: a review. *Theriogenology*, 54: 25-55.

Yokus, B. e Cakir, U.D. 2006. Seasonal and physiological variations in serum chemistry and mineral concentrations in cattle. *Biological Trace Element Research*, 109: 255-266.

Zagrodzi, P., Nicol, F., McCoy, M.A., Smyth, J.A., Kennedy, D.G., Beckett, G.J., Arthur, J.R. 1998. Iodine deficiency in cattle: compensatory changes in thyroidal selenoenzymes. *Research in Veterinary Science*, 64: 209-211.