

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS JABOTICABAL**

**IMPACTO DO ESTRESSE INDUZIDO PELA PRIVAÇÃO DE ÁGUA E
ALIMENTO POR 48 HORAS E DA SUPLEMENTAÇÃO COM FONTES
DE MINERAIS SOBRE O METABOLISMO E DESEMPENHO DE
BOVINOS NELORE RECRIADOS A PASTO DURANTE O PERÍODO
SECO**

**Mateus José Inácio de Abreu
Zootecnista**

2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS JABOTICABAL**

**IMPACTO DO ESTRESSE INDUZIDO PELA PRIVAÇÃO DE ÁGUA E
ALIMENTO POR 48 HORAS E DA SUPLEMENTAÇÃO COM FONTES
DE MINERAIS SOBRE O METABOLISMO E DESEMPENHO DE
BOVINOS NELORE RECRIADOS A PASTO DURANTE O PERÍODO
SECO**

**Discente: Mateus José Inácio de Abreu
Orientador: Prof. Dr. Gustavo Rezende Siqueira**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

2023

A162i Abreu, Mateus José Inácio de
Impacto do estresse induzido pela privação de água e alimento por 48 horas e da suplementação com fontes de minerais sobre o metabolismo e desempenho de bovinos Nelore recriados a pasto durante o período seco / Mateus José Inácio de Abreu. -- Jaboticabal, 2023
93 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Gustavo Rezende Siqueira

1. Bovinos de corte. 2. Cobre. 3. Estresse. 4. Mineral hidroxilado. 5. Zinco. I.
Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

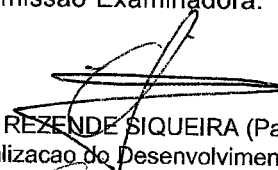
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

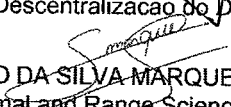
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: IMPACTO DO ESTRESSE INDUZIDO PELA PRIVAÇÃO DE ÁGUA E ALIMENTO POR 48 HORAS E DA SUPLEMENTAÇÃO COM FONTES DE MINERAIS SOBRE O METABOLISMO E DESEMPENHO DE BOVINOS NELORE RECRIADOS A PASTO DURANTE O PERÍODO SECO

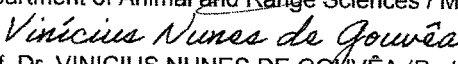
AUTOR: MATEUS JOSÉ INÁCIO DE ABREU

ORIENTADOR: GUSTAVO REZENDE SIQUEIRA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal, área: Nutrição Animal pela Comissão Examinadora:


Pesquisador Dr. GUSTAVO REZENDE SIQUEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Descentralização do Desenvolvimento / APTA ColinaSP


Prof. Dr. RODRIGO DA SILVA MARQUES (Participação Virtual)
Department of Animal and Range Sciences / Montana State University


Prof. Dr. VINICIUS NUNES DE GOUVÊA (Participação Virtual)
Texas A&M Agrilife Research / Dallas/TX (EUA)

Jaboticabal, 27 de fevereiro de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Mateus José Inácio de Abreu, nascido em 18 de fevereiro de 1995 em Leopoldina (Piacatuba, distrito de Leopoldina), Minas Gerais. Filho de Maria Lúcia Inácio de Abreu. Possui curso técnico em Agropecuária (2011-2013) e graduação em Zootecnia (2015- 2020) pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Campus Rio Pomba. Durante a graduação, participou como membro efetivo da organização da Semana da Zootecnia (Sezoo), dos grupos de estudos em bovinocultura de leite (G-LEITE), Núcle de estudos em forragicultura e pastagens (NEFORP) e Empresa Júnior da Zootecnia (ZooCampo). Compôs o quadro de coordenadores dos grupos Sezoo, ZooCampo, G-Leite e NEFORP por 1 ano. Sob a orientação dos professores Dr. Onofre Barroca de Almeida Neto (2015-2016), Dr. Domingos Savio Campos Paciullo (2016 – 2019), e Dr. Valdir Botega Tavares (2016 - 2020) conduziu cinco projetos de iniciação científica. No início de 2020 atuou como estagiário da Agência de Pesquisa e Tecnologia dos Agronegócios, APTA, Colina – São Paulo, sob orientação dos professores Dr. Valdir Botega Tavares e Dr. Gustavo Rezende Siqueira. Em janeiro de 2021, iniciou o mestrado pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campos Jaboticabal, UNESP, no programa de pós graduação em Ciência Animal sob orientação do professor Dr. Gustavo Rezende Siqueira.

“O impossível é apenas uma palavra usada pelos fracos que acham mais fácil viver no mundo que lhes foi apresentado do que explorar o poder que possuem para muda-lo. O impossível não é uma afirmação. É um desafio. O impossível á algo potencial. O impossível é algo temporário. Nada é impossível.”

Muhammand Ali – Campeão de Boxe

AGRADECIMENTOS

À Deus e a minha mãe Maria Lúcia Inácio de Abreu (em memória) agradeço por ter me dado à luz (sei das dificuldades da época), agradeço pelo amor e carinho durante os 4 anos que passei ao seu lado, Deus tinha um propósito maior para senhora, te amarei eternamente. Agradeço a meu avô José dos Passos de Abreu (em memória), a minha avó Maria Edilene Inácio de Abreu (em memória), a minha tia Lucília do Carmo Inácio de Abreu, a minha madrinha Aurea Aparecida de Oliveira e aos amigos Juarez e Marley pelos valores passados e o esforço para que eu me tornasse uma pessoa melhor a cada dia, espero enchê-los de orgulho.

Aos meus Irmãos Laurinda, Marcelo e Helena, meu tio Eduardo e ao amigo Júlio Cesar pelo companheirismo e apoio, estavam sempre dispostos a ajudar na realização dos meus sonhos.

Ao meu amigo Iorrano, nossa amizade mudou minha vida.

Ao meu orientador, professor Gustavo Rezende Siqueira e ao professor Flávio Dutra de Resende, que além de exemplos, vem me dando oportunidades para melhorar como pessoa e profissional.

À Universidade Estadual Paulista por me proporcionar condições para o desenvolvimento do Mestrado e a Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, que proporcionou toda estrutura necessária para o desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Aos amigos da APTA, que sempre estiveram ao meu lado, dando suporte. Em especial aos meus amigos Iorrano e Igor, pela parceria durante todas as fases desse experimento e dos outros que conduzimos juntos. Foi um prazer trabalhar com vocês.

Aos integrantes da pós-graduação da APTA, Fenanda Gaúcha, Luciana, Aline, Mailza, Irene, Karla, Amanda, Keuven, Luis, Mariana, Ariane, Karla, Saulo, Gabriel, José Maria e Anna Lídia, obrigado por tudo.

Aos estagiários da APTA, Matheus e Gustavo pela ajuda durante todas as fases do experimento! Aos funcionários da APTA, Toizinho, Lori, Chico, Roberto, Luizinho, Suelli, Néia, Juninho, Antônio Carlos, Miltinho, Regina e Rodolfo Toga e todos os outros, sempre dispostos a ajudar.

À Trouw Nutrition pelo apoio financeiro e idealização do experimento.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

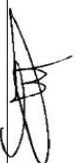
SUMÁRIO

RESUMO GERAL:	3
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	6
1. INTRODUÇÃO	6
2. REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1. Recria a pasto durante o período seco: utilizando recursos suplementares para maximizar o uso do pasto	7
2.2. Indução do estresse e respostas fisiológicas	13
2.3. Suplementação com microminerais: efeitos sobre o desempenho, status mineral e saúde animal	15
2.4. Microminerais em dietas de ruminantes: um comparativo entre fonte hidroxilada e sulfato	20
3. REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO 2 - IMPACTO DO ESTRESSE INDUZIDO PELA PRIVAÇÃO DE ÁGUA E ALIMENTO POR 48 HORAS E DA SUPLEMENTAÇÃO COM FONTES DE MINERAIS SOBRE O METABOLISMO E DESEMPENHO DE BOVINOS NELORE RECRIADOS A PASTO DURANTE O PERÍODO SECO.	35
RESUMO GERAL:	35
GENERAL ABSTRACT	37
1. INTRODUÇÃO	38
2. MATERIAL E MÉTODOS	40
3. RESULTADOS	53
4. DISCUSSÃO	72
5. CONCLUSÃO	81
6. REFERÊNCIAS	81

CERTIFICADO Nº 0007/2021 - CEUA

Certificamos que o projeto apresentado dia três de agosto de 2021 intitulado “**EFEITOS DA PRIVAÇÃO DE ÁGUA E ALIMENTO POR 48H E DA SUPLEMENTAÇÃO COM FONTES DE MINERAIS (Zn e Cu) SOBRE O DESEMPENHO, METABOLISMO E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE BOVINOS DA RAÇA NELORE**” foi registrado com o **Protocolo nº 0008/2021**, está sob a responsabilidade do Pesquisador Científico **Dr. Flávio Dutra de Resende** e envolve a produção, a manutenção e a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica e encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de oito de outubro de 2008; do decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009; e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), sendo então **APROVADO** pela **Comissão de Ética no Uso de Animais do Departamento de Descentralização do Desenvolvimento (Ceua DDD)**, na XIV Reunião Ordinária realizada no dia **20 de agosto de 2021**.

Finalidade: <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa científica – () Ensino	
Vigência da autorização	20/09/2021 a 20/05/2022
Espécie/linhagem e/ou raça	Bovinos Nelore
Nº de animais	146
Sexo/idade/Peso aprox.	Machos – 116 animais de 17 meses com aprox. 265 kg Fêmeas – 30 animais de 17 meses com aprox. 265 kg
Localização/Origem	Polo Regional Polo Regional Alta Mogiana- Colina - SP / DDD / APPTA / SAA - SP
Responsável Técnico	Dr. Gustavo Rezende Siqueira



Maria Izabel Merino de Medeiros
Coordenadora CEUA-DDD



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Comissão de Ética no Uso de Animais
Departamento de Descentralização do
Desenvolvimento CEUA - DDD
Av. Rodrigues Alves, 40-40
CEP: 17030-000, Bauru, SP
Telefone: (14) 3203-3257 - Ramal 24
E-mail: maria.medeiros@sp.gov.br

Agência Paulista de
Tecnologia dos Agronegócios

Secretaria de
Agricultura e Abastecimento

SÃO PAULO
GOVERNO DO ESTADO

IMPACTO DO ESTRESSE INDUZIDO PELA PRIVAÇÃO DE ÁGUA E ALIMENTO POR 48 HORAS E DA SUPLEMENTAÇÃO COM FONTES DE MINERAIS SOBRE O METABOLISMO E DESEMPENHO DE BOVINOS NELORE RECRIADOS A PASTO DURANTE O PERÍODO SECO

RESUMO GERAL: Dois estudos foram conduzidos para investigar como 2 fontes de minerais Cu e Zn e a privação de água e alimento por 48 horas afetam o metabolismo e desempenho de bovinos Nelore recriados a pasto. No primeiro estudo, vinte animais Nelore, castrados, canulados no rúmen (peso corporal (PC):350 kg \pm 132 kg; 20 meses) foram blocados por PC e distribuídos aleatoriamente em baias individuais, em um arranjo fatorial 2 x 2. O primeiro fator foi: suplementação com minerais Cu e Zn (1) inorgânico (ING; óxido de zinco e sulfato de cobre) ou (2) hidroxilado (HDX; Selko®IntelliBond®, Indianapolis, USA). O segundo fator foi: (1) animias com acesso regular a água e alimento (SPRIV) ou (2) com privação de água e alimentos por 48 horas (CPRIV). O período experimental durou 57 dias e foi dividido em 2 períodos: (1) adaptação de d-21 a d-1 e (2) avaliação de d0 a d 36. A digestibilidade e consumo foram avaliados em d3-d5, d11-d13 e d32-d34. Os parâmetros ruminais foram mensurados no d0-d2, a cada 12 horas e em d-2, d7, d15 e d36. A privação não afetou ($P = 0,294$) o consumo de matéria seca e o consumo de nutrientes, mas uma interação entre privação x período foi detectada ($P = 0,027$) para digestibilidade da matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), fibra insolúvel em detergente neutro (DFDN) e fibra insolúvel em detergente ácido (DFDA). CPRIV apresentou maior a DMS, DMO, DFDN e DFDA nos d3-d5. No entanto, CPRIV apresentou menor digestibilidade em períodos mais prolongados, como da MS d11-d13 e d32-d34, da MO no período de d11-d13, e das frações fibrosas no período de d32-d34. HDX tendeu a aumentar o consumo de matéria seca e consumo de nutrientes ($P = 0,075$). Houve tendência de HDX ($P = 0,099$) aumentar DFDN em 1,6 pontos percentuais em relação a ING. Durante d0 a d2 a concentração de ácidos graxos voláteis (AGV) reduziu de 62,3 para 20,1 mMol/dL, enquanto o pH ruminal aumentou 7,3 para 8,2 (Interação privação x horário; $P < 0,001$) em CPRIV. A proporção de acetato aumento em CPRIV até 24 horas de privação, mas ao final das 48 horas foi semelhante entre CPRIV e SPRIV (Interação privação x horário; $P = 0,002$). As proporções de propionato e butirato reduziram enquanto as de isobutirato, isovalerato ($P < 0,001$) e valerato ($P = 0,055$) aumentaram em CPRIV (Interação privação x horário). A concentração de nitrogênio amoniacal ruminal foi menor as 12 horas e maior as 24 horas em CPRIV (Interação privação x horário; $P < 0,001$). No experimento 2, oitenta e quatro animais Nelores machos, não castrados (PC = 260 kg \pm 35 kg) foram atribuídos a piquetes de *Brachiaria brizantha* cv. *Marandu* por 131 dias em delineamento de blocos casualizados com arranjo fatorial (2 x 2). Dentro dos blocos os animais foram distribuídos aleatoriamente entre os tratamentos. As concentrações séricas de ureia e ácidos graxos não esterificados foram maiores nos dias 2 e 7 em animais privados e posteriormente tornaram-se semelhantes entre os tratamentos (interação privação x dia; $P = 0,006$). Proteína total e arpartato aminotransferase séricos foram maiores no dia 2 em CPRIV e posteriormente diferenças deixaram de existir (interação privação x dia; $P = 0,080$). As concentrações de albumina ($p = 0,033$) e glicose ($p = 0,080$) foram maiores em CPRIV. Animais HDX apresentaram menor pico de ureia no dia 2 e seus valores se mantiveram inferiores no dia 12 e 105 (interação mineral x período; $P = 0,029$). A

concentração de Cu no fígado foi maior em SPRIV/HDX (interação mineral x privação; $P = 0,003$), enquanto a concentração de Zn no fígado foi semelhante entre tratamentos ($P = 0,121$). Foi detectado interação entre privação x período ($P < 0,001$) para peso corporal e GMD. Animais CPRIV apresentaram perda de 34,5 kg o que resultou em menor peso corporal no dia 2. Nos primeiros dias após a privação (dia 2 ao 12) os animais CPRIV apresentaram maior GMD e recuperaram o peso perdido, mantendo PC semelhante os tratamentos. A partir do dia 12 o desempenho foi similar entre os tratamentos. Em conclusão, a privação de água e alimento impactou parâmetros de digestibilidade de nutrientes e fermentação ruminal a curto e longo prazo. Após a privação, os animais foram capazes de recuperar o PC, resultando em nenhuma diferença de desempenho entre animais privados de água e alimento e sem privação. Além disso, a suplementação com Cu e Zn hidroxilado aumentou Cu no fígado e tendeu a aumentar o consumo de matéria seca e digestibilidade da FDN, mas não foi capaz de alterar o desempenho.

Palavras chaves: Bovinos de corte, cobre, estresse, mineral hidroxilado, zinco

IMPACT OF STRESS INDUCED BY DEPRIVATION OF WATER AND FEED FOR 48 HOURS AND SUPPLEMENTATION WITH SOURCES OF MINERALS ON THE METABOLISM AND PERFORMANCE OF NELORE CATTLE DURING BACKGROUND PHASE ON PALISADE GRASS IN THE DRY PERIOD

GENERAL ABSTRACT: Two studies were conducted to investigate how the supplementation of 02 trace mineral (TM) sources of Cu and Zn and 48-hours water/feed deprivation would affect performance and metabolism of grass-fed beef cattle. In the first study, Twenty castrated and rumen-canulated Nelore steers (BW = 350 kg \pm 132 kg; 20m) were blocked by BW and randomly distributed in individual pens, in a 2 x 2 factorial arrangement: supplemental Cu and Zn sources from inorganic (ITM; sulfate) vs. hydroxy (HTM, Selko ®IntelliBond®, Indianapolis, USA); and 48-hours deprivation (WFD) vs. unrestricted (WFU) access to water and feed. The 57d of study was divided in two periods: (1) Adaptation from -21d to -1d and (2) evaluation from 0d to 36d. Intake and nutrient digestibility were evaluated on 3d-5d, 11d-13d and 32d-34d. Ruminal parameters were measured during deprivation period on d0-d2, every 12h, and on -2d, 7d, 15d and 36d. Deprivation did not affect ($P>0.10$) DMI and nutrient intake, although interaction between deprivation x period was detected ($P<0.05$) for DMD, OMD, NDFD and ADND. WFD increased DMD, OMD, NDFD and ADFD shortly after the deprivation period (3d-5d), However, deprivation interrupted digestibility in longer periods, such as 11d-13d and 32d-34d. HTM tended to increase DMI and nutrients intake ($P=0.075$) and NDFD in 1.6% compared ITM. Several ruminal parameters were affected by deprivation: VFA concentration decreased from 62.3 to 20.1 mMol/dL, while rumen pH increased from 7.3 to 8.2 (deprivation x time; $P<0.05$); decreased propionate, butyrate and increased isobutyrate, isovalerate and valerate, lower ruminal ammoniacal nitrogen at 12 hours and higher at 24 hours in WFD (deprivation x time; $P<0.05$), respectively. In the second study, eighty-four intact Nelore males (BW=260 kg \pm 35 kg) were blocked by BW and randomly assigned to *Urochloa brizantha* cv. Marandu paddocks for 131d in a 2X2 factorial arrangement. Within the blocks, animals were randomly distributed among the same treatments as describe in study 1. WFD animals increased serum urea and NEFA 2d and 7d (deprivation x day; $P<0.05$); increased AST and total protein on 2d (deprivation x day; $P=0.080$), and increased albumin ($P=0.033$) and glucose ($P=0.080$). HTM lowered urea peak on 2d and remained lower on 12d and 105d (mineral x period; $P<0.05$). Liver Cu was higher in WFU/HTM animals (mineral x deprivation; $P<0.05$). Interaction between deprivation x period ($P<0.05$) was detected for BW and ADG. WFD lost 34.5 kg, resulting in lower BW on 2d. on 2d and 12d after deprivation, WFD increased ADG and recovered the BW lost. On 12d, no performance differences between treatments ($P>0.10$). In conclusion, water and feed deprivation impact nutrient digestibility and ruminal fermentation parameters in short and long-term. After deprivation, animals were able to compensate, recovering BW faster, resulting in no performance differences between deprived and unrestricted feed and water. Additionally, the supplementation of hydroxy Cu and Zn increased liver Cu and tended to increase DMI and NDFD, but was not able to change the performance.

Keywords: Beef cattle, copper, hydroxychloride, stress, zinc

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Devido aos procedimentos de gestão praticados dentro dos sistemas de produção de carne bovina, o gado está inevitavelmente exposto a uma variedade de eventos estressores (Carroll & Forsberg, 2007) os quais podem causar perdas de desempenho e eficiência (Grandin, 1997; Loerch & Fluharty, 1999). Práticas de manejo de rotina como desmame (Haley et al., 2005), transporte rodoviário (Marques et al., 2012) e recebimento em confinamento (Hutcheson e Cole, 1986; Loerch e Fluharty, 1999) expõem os animais à privação de água e alimento. Por exemplo, a privação de água e alimento durante longos períodos de transportes (maior que 24 horas) é um dos principais desencadeadores de resposta inflamatória e responsável por limitar o desempenho dos animais durante o recebimento em confinamento (Marque et al., 2012). Além disso, a privação estimula a mobilização de reservas corporais (Marques et al., 2019), resposta neuroendócrina ao estresse, liberando cortisol na circulação (Morberg, 2000) e também desencadeia reações de fase aguda em bovinos (Marques et al., 2019). A privação também pode causar perturbação da flora ruminal e gerar morte microbiana (Meiske et al., 1958), promovendo liberação de endotoxinas microbianas que podem estimular respostas de fase aguda (Carroll et al., 2009). Tal perturbação da flora ruminal pode reduzir a capacidade fermentativa (Cole et al., 1986) e o consumo dos animais (Cole & Hutcheson, 1985). Desta maneira, adotar estratégias nutricionais que impactam de forma positiva na saúde dos animais é importante para melhorar a produtividade e bem-estar animal em sistemas com gado confinado (Duff & Galyean, 2007) e também em gado sob condições de pastejo.

Os minerais são compostos fundamentais que estão presentes na maior parte das reações bioquímicas do corpo, sendo fundamentais no desenvolvimento e saúde dos animais domésticos (Soetan et al., 2010). Minerais, mais especificamente Zn e Cu possuem várias funções como participação no sistema antioxidante, componente de metaloenzimas, respostas imunológicas e crescimento (Halliwell & Gutteridge, 1999; Prasad, 2009; Nagalakshmi et al., 2012). Ingredientes das dietas consumida por bovinos podem fornecer esses nutrientes, porém, em concentrações variáveis ou inadequadas (Smart et al., 1981) que associadas com a formação de complexos

insolúveis com antagonistas da dieta como ferro (Fe), molibdênio (Mo) e enxofre (S) podem afetar seu uso pelos animais e levar a deficiência (Spears, 1996; López-Alonso, 2012). Fontes de minerais inorgânicos mais solúveis podem afetar sua reatividade com antagonistas e microrganismos no rúmen, e conseqüentemente prejudicar sua biodisponibilidade (Caldera et al. 2019). Fontes menos solúveis, como minerais hidroxilados demonstram maior biodisponibilidade do que os de fonte sulfato (Spears, 2004).

Desse modo, sabendo da inevitabilidade de fatores estressantes como a privação de água e alimento e dos efeitos causados por esse evento, faz-se necessário a condução de estudos que enfoque no uso de estratégias nutricionais, afim de compreender os mecanismos pelo qual essas tecnologias podem mitigar os efeitos negativos gerados pela privação. O uso de fontes de minerais mais biodisponíveis são uma alternativa na nutrição de animais em condições estressantes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Recria a pasto durante o período seco: utilizando recursos suplementares para maximizar o uso do pasto*

A produção de ruminantes em ambientes tropicais é calcada na utilização do pasto como recurso nutricional basal, capaz de fornecer fonte de substratos energéticos por meio de carboidratos fibrosos (Paulino et al., 2008). Contudo, ao longo do ano tanto as características quantitativas quanto as nutricionais do pasto apresentam variações (Figuras 1 e 2), correspondendo, nem sempre, a dietas equilibradas para animais em pastejo. Por essa razão, tais limitações citadas resultarão em restrições sobre o consumo de pasto e aproveitamento da forragem pelo animal (Detmann et al., 2014).

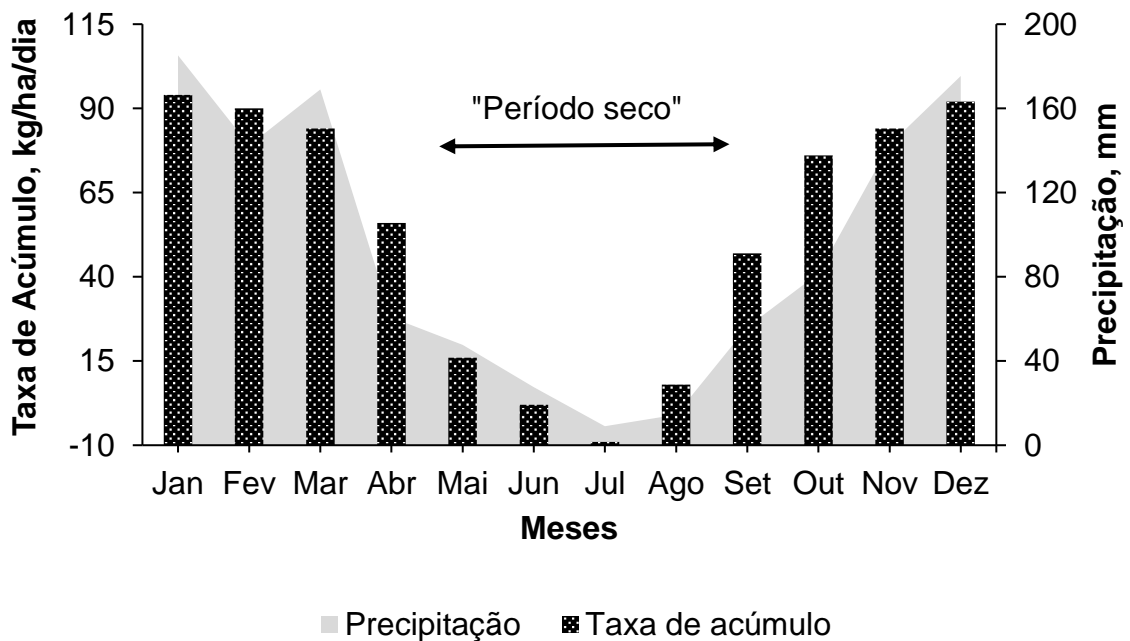


Figura 1: Estimativa da taxa de acúmulo da forrageira *Urochloa brizantha* cv. Marandu com base em informações de dados climáticos históricos da Tmin mensal (Taxa de Acúmulo = $11,93 \times T_{min} - 134,95$ ($R^2 = 0,73$, RQMR= 18,45); (da Cruz et al., 2011) e precipitação mensal (média 20109 a 2018 – Dados Estação meteorológica da APTA – Colina, SP – Polo Alta Mogiana).

Ao longo do ciclo climático anual ocorrerem variações que determinam o crescimento vegetal, havendo situações em que o crescimento é limitado, resultando no fenômeno conhecido como estacionalidade na produção (Valente et al., 2011). Nas regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, maior parte da produção de forragem é concentrada durante o período chuvoso (outubro a março) e o restante no período seco (abril a setembro) (figura 1).

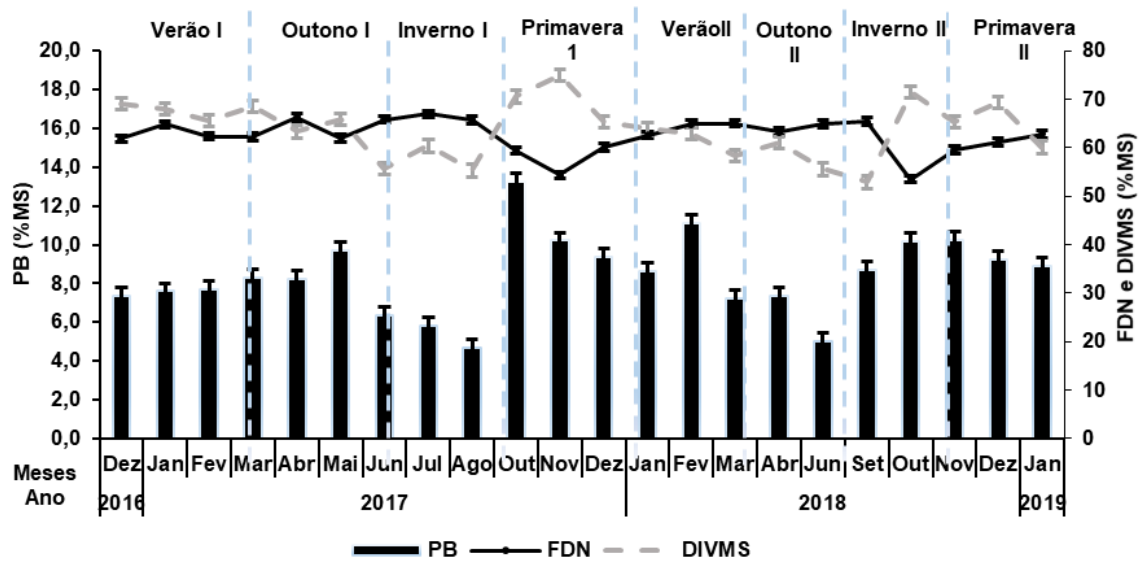


Figura 2: Composição bromatológica de amostras de pastejo simulado de pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu mantidos à 25 cm de altura do dossel em sistema de lotação contínua e taxa de lotação variável Fonte: Adaptado de Homem et al. (2021).

Neste contexto, demanda-se correção do entrave produtivo do pasto comumente encontrado durante o período de seca. Uma das estratégias é transferir o excedente de produção que ocorre durante o período chuvoso, para o período de seca. O diferimento do uso da pastagem é uma estratégia para garantir pasto em quantidade suficiente para os animais durante o período de seca (Santos et al. 2018). No entanto, aspectos como tipo de forrageira, época de diferimento, altura inicial do pasto, tempo de vedação e adubação devem ser considerados para o sucesso nessa prática (Santos et al., 2009a; Santos et al. 2009b, Santos et al., 2018, Afonso et al. 2018).

Durante a estação de menor precipitação (período seco) é possível observar declínio na qualidade do pasto, dessa maneira, Silva et al., (2009) em revisão de literatura sobre suplementação de animais a pasto durante o período seco, compilaram dados correspondente a composição bromatológica de pastos de *Urochloa* e observaram valores médios de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), de fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e proteína bruta (PB) na ordem de 74,5%, 44,2% e 5,59%, respectivamente. Este último, abaixo do limite inferior de 7% necessário para atender os requerimentos dos microrganismos no rúmen (Van Soest, 1994), o que implica em baixa utilização dos carboidratos fibrosos oriundos do pasto,

comprometendo o consumo e desempenho dos animais (Leng, 1990; Paulino et al., 2008; Detmann et al., 2009).

Sob tais condições, a suplementação com compostos nitrogenados permite melhorar a utilização da forragem de baixa qualidade por animais em pastejo (Leng, 1990; Figueiras et al., 2010; Sampaio et al., 2010). De acordo com Detmann et al. (2010) um programa de suplementação deve ser pautado na adoção de estratégias de uso dos recursos suplementares em duas fases (Figura 3). Sendo a primeira, caracterizada pela correção das deficiências primária, explorando os efeitos interativos e otimizando o uso dos recursos basais. Na segunda fase, busca-se introduzir recursos suplementares para atender as metas produtivas, caso não seja atingida na primeira fase.

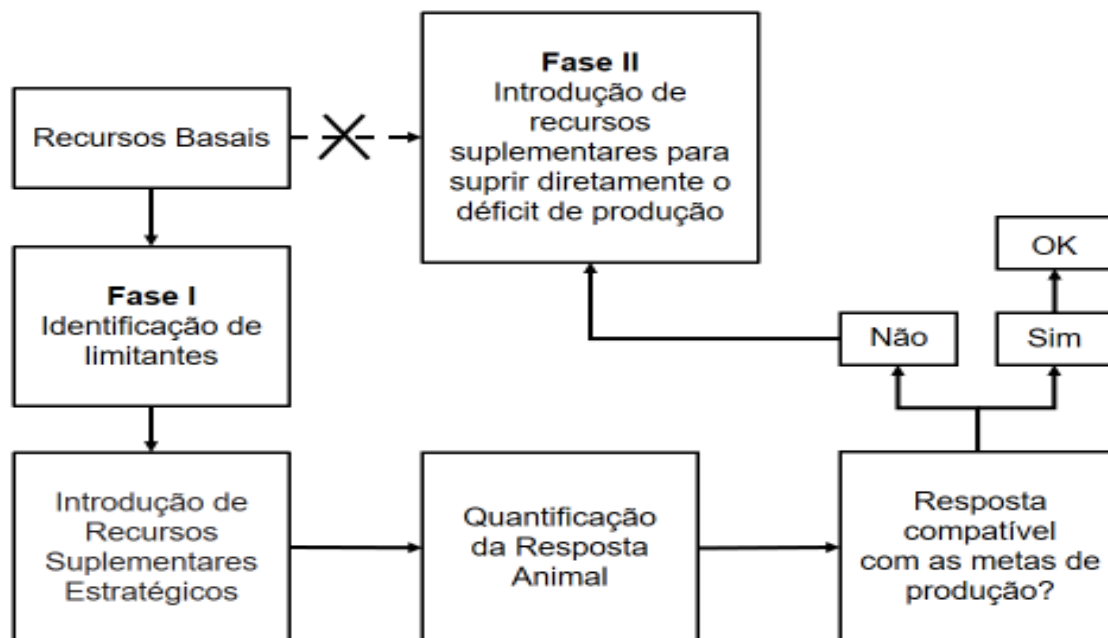


Figura 3: Processos teóricos de um programa de suplementação de bovinos em pastejo. Adaptado de Detmann et al. (2010).

Assumindo que a limitação nutricional (deficiência de compostos nitrogenados) do pasto de baixa qualidade pode reduzir o crescimento microbiano, limitando a disponibilidade de enzimas fribrolíticas no rúmen, e que estes microrganismos são dependentes de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) para sua proliferação (Detmann et al., 2009; Russell, 2002), elevar a concentração de NAR por intermédio da suplementação proteica pode contribuir com o processo de degradação da fibra originária do pasto de baixa qualidade.

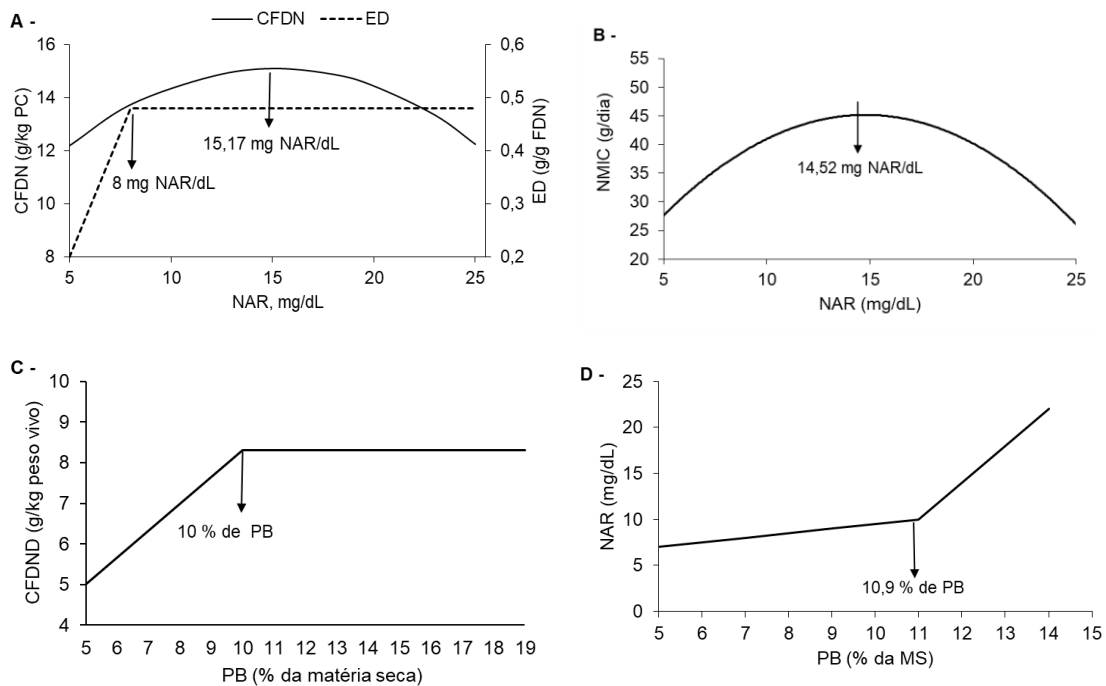


Figura 4 – Dados oriundos de animais alimentados com feno de baixa qualidade e elevação do teor proteico da dieta com mistura de ureia, sulfato de amônia e albumina (relação de 4,5:0,5:1,0). A) Relação entre efetiva degradação da fração insolúvel em detergente neutro (ED, $\hat{Y} = -35,4390 + 10,323 \times X, \forall X \leq 8,0048, \hat{Y} = 47,1940, \forall X > 8,0048, R^2 = 0,9124$), o consumo da fração insolúvel em detergente neutro (CFDN, $\hat{Y} = 8,6387 + 0,8353 \times X - 0,027525 \times X^2, R^2 = 0,5087$) e a concentração do nitrogênio amoniacal no rúmen (RAN). B) Relação entre fluxo intestinal de nitrogênio microbiano e RAN ($\hat{Y} = 3,1825 + 6,0213X - 0,207380X^2; R^2 = 0,5485$). C) Consumo de FDN digestível (CFDND) em função do nível de proteína bruta (PB) da dieta ($\hat{Y} = 1,5575 + 0,684 \times X, \forall X < 10,0311, \hat{Y} = 8,4425 \forall X \geq 10,0311$). D) Relação entre concentração de NAR e concentração de PB na dieta ($\hat{Y} = 4,012 + 0,6142X, \forall X \leq 10,9038; \hat{Y} = -29,829 + 3,7178X, \forall X > 10,9038; R^2 = 0,7520$). Adaptado de Detmann et al. (2009) e Detmann et al. (2010).

Portanto, a introdução de nitrogênio suplementar como forma de elevar o NAR para 8 mg/dL demonstrou melhorar a degradação da fibra em detergente neutro (figura 4A), enfatizando a importância da suplementação com compostos nitrogenados na primeira fase nutricional da suplementação (Detmann et al. 2010). Porém, aumento no consumo de FDN é observado até 15 mg NAR/dL (figura 4A), valor próximo ao observado para maior fluxo de proteína microbiana (figura 4B). A divergência entre degradação e consumo de fibra condizem com diferenças nas exigências de compostos nitrogenados entre microrganismos e animal hospedeiro (Van Soest, 1994), pois a elevação do NAR para 8 mg/dL parece suprir a demanda de nitrogênio

pelos microrganismos degradadores de fibra, enquanto a elevação do NAR para 15 mg/dL permite que o consumo máximo seja alcançado pelo animal.

Contudo, o aumento do consumo está relacionado à elevação na taxa de passagem (Detmann et al. 2010), que por sua vez, reduz o tempo disponível para as enzimas fribrolíticas atuarem (Detmann et al. 2008), podendo prejudicar a degradação da fibra, o que não é observado (Figura 4A). Percebe-se que o aumento na taxa de passagem é compensado pela elevação da atividade enzimática quando os níveis de NAR estão acima dos observados para degradação da fibra, impedindo a redução na degradação da FDN com o aumento do consumo (Detmann et al. (2010). A combinação da constância na degradação da fibra com o aumento no consumo (Figura 4A) resulta em maior fluxo de proteína metabolizável oriunda de proteína microbiana (Figura 4B).

Apesar da implementação de uma concentração de NAR de 15 mg/dL aumentar o consumo, valores acima desse podem causar depressão no consumo pelo animal acompanhado de perdas de nitrogênio no rúmen (Detmann et al. 2010). Tais perdas condizem com excesso de nitrogênio para o metabolismo animal, culminando em efeitos depressores sobre o consumo voluntário, como deficiência de ATP no metabolismo hepático devido a conversão excessiva do N em ureia (Visev, 1984), incremento calórico ((Poppi e McLennan, 1995) e reações de mal-estar devido ao excesso de amônia no sangue (Detmann et al. 2007).

Sabendo da dificuldade prática da mensuração do NAR, associá-lo ao teor de proteína bruta (PB) dietético torna-se algo relevante. Dessa forma, a elevação do nível de PB para 10% da dieta coincide com o máximo de extração de energia do substrato basal (Figura 4C), enquanto valores a partir de 10,9% de PB da dieta reduz a assimilação do nitrogênio oriundo da dieta pelos microrganismos (Detmann et al., 2009; Figura 4D). Entretanto, mesmo com menor assimilação do nitrogênio pelos microrganismos (Figura 4D), o consumo máximo do animal só é atingido com NAR de 15 mg/dL, o que, com base na Figura 4D, resultaria em uma concentração de aproximadamente 12% de PB na dieta.

Por fim, aumentar a concentração de PB dietética para 12% seria o limite da primeira fase nutricional. No entanto, caso a meta não seja atingida por intermédio da conclusão da primeira fase nutricional, deve-se iniciar a segunda fase da

suplementação de modo que o nitrogênio suplementar adicional deve ser inserido juntamente com uma fonte energética para apoiar a assimilação do NAR pelos microrganismos e melhorar a utilização da proteína metabolizável (Detmann et al., 2014).

Como demonstrado, estudos tem-se concentrado na suplementação proteica de animais em pastejo e seu benefício é reconhecido, no entanto, os ingredientes das dietas consumidas por bovinos podem fornecer microminerais, mais especificamente Cu e Zn em concentrações variáveis ou inadequadas, o que implica no fornecimento via suplementação. Embora, a concentração inadequada de Cu e Zn seja suprida via suplementação, pesquisas com o uso de fontes distintas desses minerais merecem ser realizados com bovinos em pastejo.

2.2. *Indução do estresse e respostas fisiológicas*

Durante o manejo de comercialização (incluindo tempo de transporte, bem como o tempo em currais de leilões onde o alimento pode não ser fornecido), os animais podem passar por um jejum de até 72 horas. Nesse caso, os animais podem se auto-privar da ingestão de alimento após a chegada ao novo ambiente (Deters & Hansen, 2020), trazendo prejuízos sobre o desempenho e saúde desses animais.

Durante o estresse induzido pela privação de água e alimento há uma resposta neuroendócrina, modulada pelo hormônio adrenocorticotrófico que é secretado pela hipófise anterior que atua nas glândulas adrenais, estimulando a liberação de glicocorticoides (principalmente cortisol) (Morberg, 2000). Os glicocorticoides estimulam a liberação de glicerol e ácidos graxos do tecido adiposo, bem como aminoácidos do músculo, direcionando esses nutrientes para o fígado para a síntese de enzimas e gliconeogênese (Baxter e Forsham, 1972). Além do mais, a menor disponibilidade de glicose no sangue em momentos de privação, implica em redução na secreção de insulina e aumento na secreção de glucagon pelo pâncreas (Gerich et al., 1974a, b) que estimula o fígado a aumentar a glicogenólise e gliconeogênese para manter as concentrações de glicose sanguínea. (Wagle e Ingebretsen, 1973; Eisenstein et al., 1974). Em adição, o glucagon induz a hidrólise de triglicerídeos em glicerol e ácidos graxos não esterificados facilitando sua mobilização do tecido

adiposo e uso como fonte de energia em tecidos como fígado e músculo (Perea et al., 1995).

A privação também pode causar perturbação da flora ruminal e gerar morte microbiana (Meiske et al., 1958), promovendo liberação de endotoxinas, que quando chegam na corrente sanguínea são reconhecidas pelas células de defesa, que por sua vez, liberam citocinas próinflamatórias e estimulam a produção de proteínas de fase aguda (Figura 5; Carrol e Forsberg, 2007; Carroll et al., 2009). Além disso, a resposta ao estresse é aumentada com o aumento da liberação de hormônios como cortisol (Carrol e Forsberg, 2007).

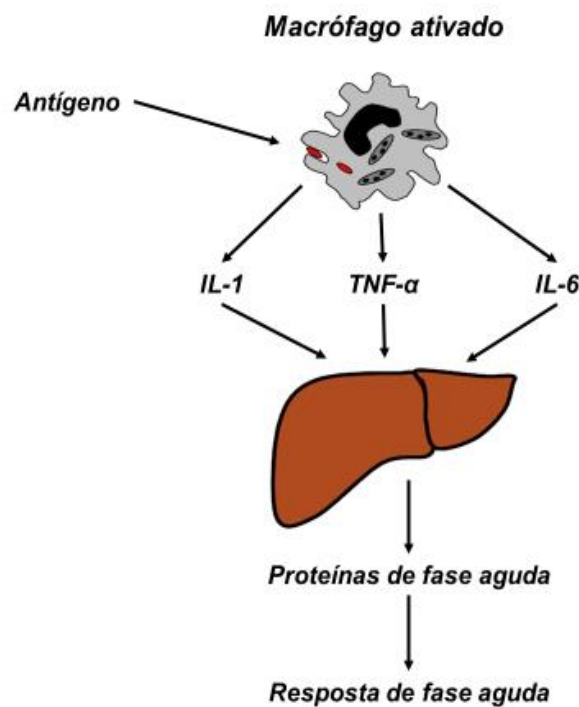


Figura 5: Esquema de ativação da resposta de fase aguda pelas citocinas pró-inflamatórias Interleucina-1, IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF- α), que são liberadas por macrófagos e monócitos ativados no local da inflamação ou infecção. Adaptado de Carroll et al. (2007).

De fato, a privação de água e alimento em baias ou durante o transporte resultou em aumento do cortisol plasmático, proteínas de fase aguda, mobilização de reservas corporais e limitação do desempenho (Marques et al., 2012, 2019). Portanto

a implementação alguma estratégia nutricional que possa auxiliar o animal durante essa cascata de reações induzidas pelo estresse pode ser uma alternativa na nutrição de bovinos nessas condições.

2.3. *Suplementação com microminerais: efeitos sobre o desempenho, status mineral e saúde animal*

Os minerais são compostos dietéticos necessários em vários processos bioquímicos do corpo, atuando sobre o crescimento e saúde dos animais domésticos (Soetan et al., 2010). Cu e Zn são microelementos importantes para a função imunológica (Chirase et al., 1991; Percival, 1998) e são vitais no sistema antioxidante pois participam como componentes de enzimas que atuam neste sistema (Sordillo e Aitken, 2009). Em bovinos sob pastejo, tais elementos são comumente ingeridos abaixo dos requerimentos diários (Arthington e Ranches, 2021), podendo gerar deficiência desses elementos, manifestando redução na competência imunológica, o que implica no fornecimento via suplementação para animais nestas condições. Além do mais, a presença de compostos antagonistas da dieta pode interferir na biodisponibilidade desses elementos (Cu e Zn), manifestando deficiência (Spears, 1996; López-Alonso, 2012).

Animais consumindo dietas deficientes em microminerais podem apresentar redução na capacidade das células de defesa em matar patógenos assim como redução na atividade de enzimas do sistema antioxidante em relação a animais suplementados com microminerais adequadamente (Genther e Hansen, 2014). Apesar de Cu e Zn serem importantes na saúde animal, outros microminerais apresentam a mesma relevância, tanto que experimentos com foco em suplementação de microminerais fornecem um pacote com vários minerais, mais especificamente Cu, Zn, Mn e Se tanto na forma dietética na qual há uma variação entre fontes de minerais quanto na forma injetável.

Durante um período de avaliação de 42 dias Kegley et al. (2012) compararam fontes de minerais (sulfato vs orgânico) Cu, Zn e Mn em 288 animais (239 kg) comprados em leilão e mantidos em pastagem de grama bermuda recebendo suplemento como veículo dos tratamentos referente às fontes de minerais. O suplemento foi fornecido em quantidades variando de 0,9 kg/dia a 1,8 kg/dia entre os

dias 0 e 42. O consumo de minerais almejado foi de 360, 125, 200 e 12 mg/dia para Zn, Cu, Mn, Co, respectivamente. Ao final do período experimental animais que receberam minerais orgânicos apresentaram maior peso corporal (267 vs 271) e ganho médio diário (GMD; 0,66 vs 0,77). As concentrações plasmáticas de Cu e Zn não foram alteradas em função do tratamento assim como os valores de morbidade.

Estabelecendo a mesma ingestão diária de suplemento e minerais Zn, Cu e Mn que no estudo de Kegley et al. (2012), Ryan et al. (2015) avaliaram fontes sulfato, orgânicas e hidroxiladas em 350 animais oriundos de leilão (240 kg) alimentados com feno de grama bermuda por 42 e 45 dias experimentais. Tanto o peso corporal quanto o GMD foram similares entre os tratamentos assim como as concentrações plasmáticas de Cu e Zn.

Lippolis et al. (2017) avaliaram a suplementação com fontes inorgânica (ING), orgânica (ORG) de Cu, Zn, Mn e Co e a não suplementação (CON) durante 45 dias de condicionamento e seus efeitos sobre a saúde e desempenho durante um período de chegada ao confinamento de 48 dias. O consumo de Cu, Zn, Mn e Co no tratamento ING foi de 159,5, 457, 1309 e 13,69 mg/dia, no ORG foi de 156,4, 447, 1323 e 14,86 mg/dia, enquanto o consumo em CON foi de 44,3, 128, 1144 e 1,91 mg/dia, respectivamente. Durante o condicionamento o peso corporal e GMD foi semelhante entre os tratamentos, mas a concentração de Cu, Zn e Co no fígado foi maior em ING e ORG vs CON, no entanto, o Mn no fígado permaneceu similar entre os tratamentos. Durante fase de chegada ao confinamento o desempenho não foi afetado pelos tratamentos, assim como as concentrações de anticorpos contra *Mannheimia haemolytica* e vírus da diarreia viral bovina, haptoglobina, morbidade e mortalidade. No entanto menor concentração de cortisol foi detectada em ING e ORG vs CON.

Dorton et al. (2006) avaliando a suplementação com minerais Cu, Zn, Mn e Mo na forma inorgânica ou orgânica durante as fases de condicionamento (30 dias) e recebimento (28 dias), observaram maior GMD durante a fase de recebimento em animais que foram suplementados com fonte orgânica, enquanto a morbidade foi semelhante entre os tratamentos.

Tabela 1: Compilado de trabalhos científicos examinando o efeito dos microminerais no status mineral e variáveis relacionadas à saúde animal.

Referência	Tipo de animal	Evento Estressor	Forma de administração	Minerais	Tecido	Variáveis resposta¹	Efeito²	
Richeson & Kegley (2011)	90 Novilhas (199 kg)	Transporte	Injetável	Zn, Cu, Mn e Se	Plasma	Zn	Sem alteração	
						Cu	Aumento	
						Morbidade	Redução	
						Tratamentos com antibiótico	Redução	
						Custo com antibióticos	Redução	
Pogge et al. (2012)	20 novilhos (332 kg)		Injetável	Zn, Cu, Mn e Se	Plasma	Zn	Aumento	
						Cu	Sem alteração	
						Mn	Aumento	
						Se	Aumento	
						Lisado de glóbulos vermelhos	GPx	Aumento
						Fígado	Zn	Aumento
							Cu	Aumento
	Mn	Aumento						
	Se	Aumento						
Arthington & Havenga (2012)	90 novilhos (316 kg)	Vacinação	Injetável	Zn, Cu, Mn e Se	Soro	Zn	Aumento	
						Cu	Aumento	
						Se	Aumento	
						Mn	Sem alteração	
						BHV-1	Aumento	

Tabela 1 (Continuação). Compilado de trabalhos científicos examinando o efeito dos microminerais no status mineral e variáveis relacionadas à saúde animal.

Ahola et al. (2005)	270 animais (novilhas e novilhos)	Transporte	Dietético	Zn, Cu e Mn	Fígado	Zn Cu Mn	Sem alteração Aumento Aumento
					Lisado de glóbulos vermelhos	Atividade da SOD	Sem alteração
George et al. (1997)	105 novilhas	Transporte	Dietético	Zn, Cu, Mn e Co	Soro	Títulos de anticorpos anti-IBRV	Aumento
Salyer et al. (2004)	219 novilhas	Transporte	Dietético	Zn e Cu		Morbidade Tratamentos com antibiótico	Sem alteração Sem alteração

Tabela 1 (Continuação). Compilado de trabalhos científicos examinando o efeito dos microminerais no status mineral e variáveis relacionadas à saúde animal.

Referência	Tipo de animal	Evento Estressor	Forma de administração	Minerais	Tecido	Variáveis resposta¹	Efeito²
Alhidary et al. (2016)	Cordeiros (25 kg)		Bolus ruminal	Zn, Cu, Co e Mn	Plasma	Atividade da SOD	Aumento
						Catalase	Sem alteração
						GPx	Aumento
						Capacidade antioxidante total	Aumento
						TBAS	Sem alteração
Wei et al. (2019)	40 bezerros (10 macho e 30 fêmeas)		Dietético	Zn	Soro	Zn	Aumento
						GPx	Sem alteração
						SOD	Aumento
						TBARS	Redução

¹SOD: Superóxido dismutase; GPx: Glutaciona peroxidase; TBARS: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; BVH-1: anticorpos neutralizantes Herpesvirus bovino tipo 1;

²Em relação ao grupo controle ou valores basais.

É comum o desconhecimento do status mineral do animal recém chegado no confinamento, no entanto alternativas que possam melhorar o estado nutricional do animal de forma imediata como a suplementação com microminerais via injeção pode evitar riscos associados à deficiência desses. Dessa forma, Pogge et al. (2012) avaliando o efeito da suplementação com Cu, Zn, Mn e Se via injeção versus um grupo controle, mostraram que além da melhora no status mineral, a injeção com microminerais foi capaz de aumentar a atividade da glutathiona peroxidase, enzima relacionada ao estado antioxidante.

Richeson e Kegley (2011) avaliaram a aplicação de dois produtos formulados para suplementação com microminerais injetáveis (1ml/45kg de PC) e a não aplicação (controle) sobre a saúde e desempenho de 90 animais (199 kg) transportados e direcionados para o confinamento. No produto 1 (M1) continham Zn (20 mg/mL), Cu (10 mg/mL), Mn (20 mg/mL) e Se (5 mg/mL) enquanto o produto 2 (M2) continha 48, 16, 10 e 5 mg/mL dos mesmos minerais. Redução na morbidade foi observado em M1 vs controle e resposta intermediária em M2. Maior peso corporal, GMD, melhor conversão alimentar, menor número de tratamentos e gasto com antibiótico foi obtido quando os animais receberam injeção de minerais independente do produto. Quanto ao status mineral, não houve efeito dos tratamentos sobre as concentrações plasmáticas de Zn, mas a concentração de cobre no plasma foi aumentada em animais que receberam M1.

A melhoria no status mineral do animal (tabela 2) pode trazer benefícios à saúde dos animais e em variáveis econômicas. Tal melhoria permite redução na morbidade, desembolso com antibióticos, em alguns casos eleva o desempenho e promove alteração positiva nos marcadores de saúde animal como títulos de anticorpos de vacinas e estado antioxidante.

2.4. *Microminerais em dietas de ruminantes: um comparativo entre fonte hidroxilada e sulfato.*

Os microminerais são importantes para um bom funcionamento dos microrganismos ruminais. Quando solúvel no rúmeme o mineral pode interagir com uma variedade de compostos dentro do ambiente ruminal (componentes de alimentos

e outros minerais) formando complexos insolúveis que podem interferir (dependendo do quão forte estão complexados) na absorção intestinal (Guimarães et al., 2022), além do mais, o mineral solubilizado (Zn) podem ter efeitos negativos sobre as bactérias celulolíticas (Eryavuz e Dehority, 2009; Figura 6A e B). Esse comportamento, de acordo com os autores, pode ser devido ao excesso de Zn, que pode interferir na adesão microbiana à celulose, devido a sua interação com a superfície das bactérias, diminuindo a hidrólise da celulose.

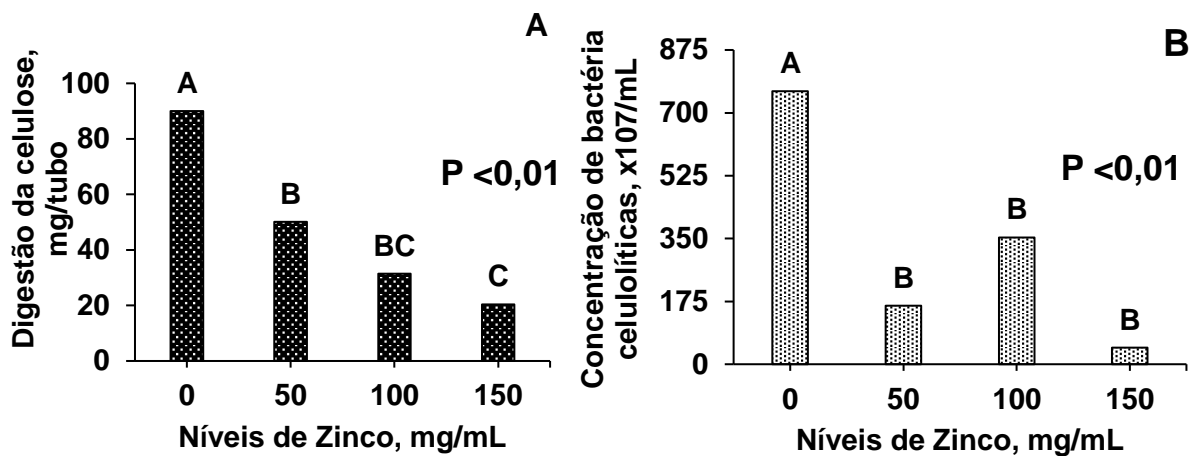


Figura 6: Efeito de diferentes níveis de zinco sobre a digestão da celulose (A), concentração de bactéria celulolíticas (B). Adaptado de Eryavuz e Dehority (2009).

Adicionalmente, altas concentrações de cobre podem reduzir a população bacteriana por meio da sua toxicidade causada pela bioacumulação de Cu no interior das células bacterianas, redução de Cu^{2+} a Cu^{1+} que é mais tóxico para as bactérias e também por ativação de bombas de exportação de Cu para excretar o acúmulo de Cu nas bactérias (Hernandez-Sanchez, 2018; Figura 7A). A redução na população bacteriana pode vir acompanhada de queda na digestibilidade in vitro da matéria seca (Figura 7B).

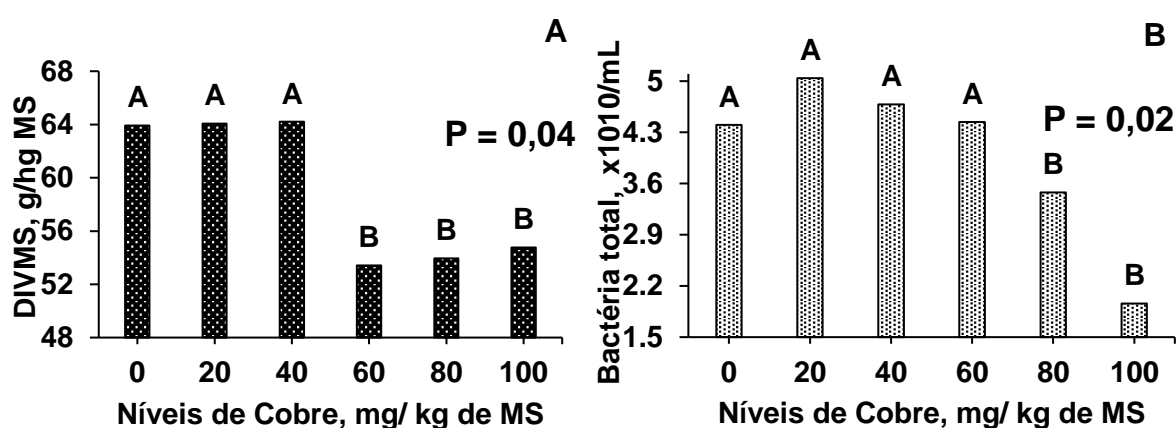


Figura 7: Efeito de diferentes níveis de cobre sobre a digestibilidade in vitro da matéria seca (A – DIVMS) e concentração bacteriana total (B). Adaptado de Hernández-Sanchez et al. (2018).

Com base no exposto, reduzir a concentração de Cu e Zn solúveis no rúmem pode ser benéfico para a população microbiana e conseqüentemente melhoras podem ocorrer na digestibilidade da matéria seca e da fibra, o que implica no uso de fonte de microminerais menos solúvel no rúmem. A solubilidade ruminal do Cu e Zn oriundos de fonte hidroxilada é menor do que as fontes sulfato, mas apresentam solubilidade semelhantes em pH mais baixo no abomaso (Genther e Hansen, 2015; Guimarães et al., 2021).

Ao analisarmos as figuras 6 e 7, observamos que somente altas concentrações de Zn e Cu podem prejudicar a microbiota ruminal e a digestibilidade da dieta. Trabalhos recentes (Figura 8) que compararam fonte hidroxilada de minerais Cu e Zn em relação a fonte sulfato de Cu e Zn (suplementação adicional de Cu e Zn oriundos das fontes hidroxilada ou sulfato: 10 a 20 mg/kg e 30 a 60 mg/kg de MS) adotaram concentrações de Cu e Zn variando de 12,2 a 26,6 mg/kg e 45 a 107,2 mg/kg de matéria seca da dieta total (suplementação + dieta basal), respectivamente (Figura 8). Nesses trabalhos, a digestibilidade da matéria seca e/ou digestibilidade da FDN foram inferiores com o uso de fonte sulfato de Cu e Zn, demonstrando que a participação de fontes solúveis nas dietas com intuito de elevar a concentração dos minerais Cu e Zn aos valores citados acima, podem prejudicar a digestibilidade da dieta.

Com base nos dados apresentados na figura 8, os ganhos adicionais na digestibilidade da MS e da FDN, por meio do uso de fonte hidroxilada, são de 1,61 e 2,35 pontos percentuais, demonstrando que fontes menos solúveis apresentam realmente efeito sobre os parâmetros apresentados.

Como mencionado, a interação com antagonistas no rúmem pode ser menor em fonte hidroxilada em relação a fonte sulfato devido a menor solubilidade ruminal, implicando em maior aporte de minerais passíveis de serem absorvido, tornando-o mais biodisponível. De fato, Shaeffer et al. (2017) compararam 2 fontes de Zn (hidroxi vs sulfato) e observaram maior absorção (0,199 vs 0,097 g/g de Zn consumido) de Zn quando a fonte hidroxilada foi utilizada.

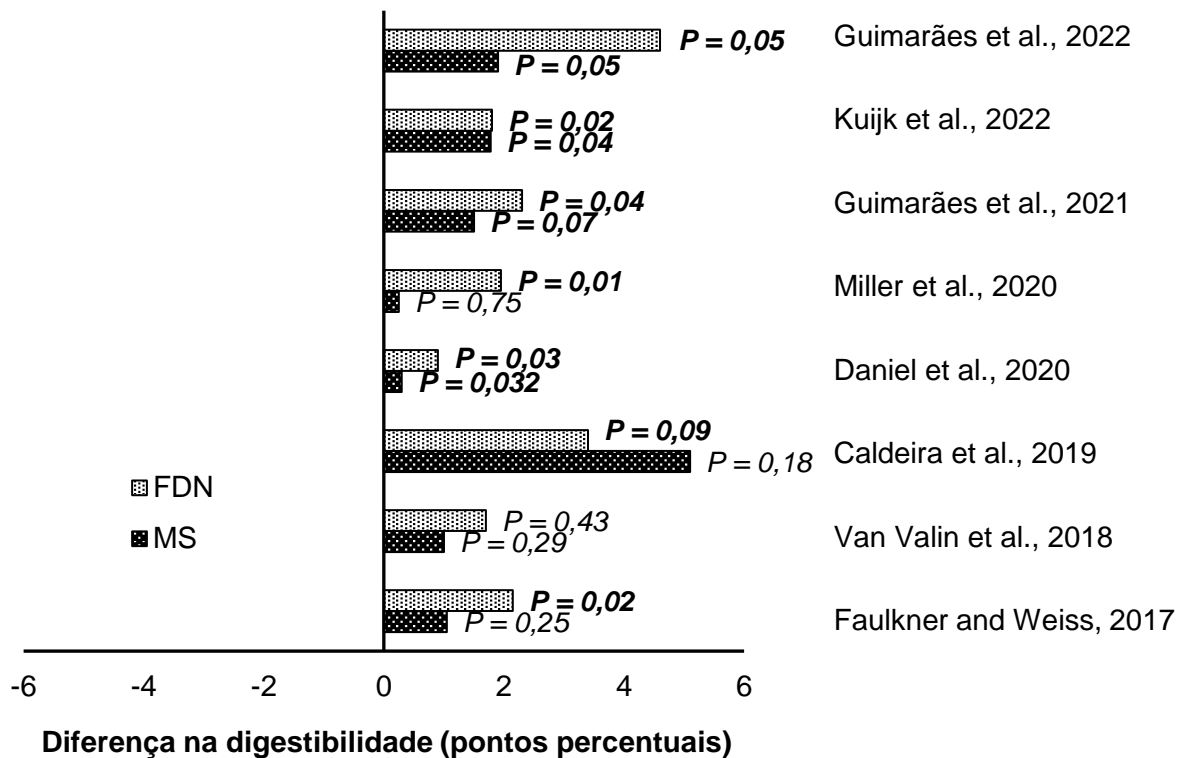


Figura 8: Dados referente à diferença na digestibilidade da matéria seca (MS) e da fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), em pontos percentuais, de fontes hidroxiladas em relação à fonte sulfato. Adaptado de Daniel et al., (2020) e acrescentado alguns dados trabalhos recém publicados.

Essa elevação na absorção pode resultar em maior concentração de minerais nos tecidos, como observado por Spears et al. (2004), onde foi obtido maior concentração de Cu no sangue quando fonte hidroxilada foi utilizada em relação a fonte sulfato. Como demonstrado no tópico anterior, a melhora no status mineral pode ser benéfico para saúde animal. Dessa forma, com base nas informações descritas acima, o uso de fonte hidroxilada pode trazer não só benefícios a nível ruminal, mas também à saúde de bovinos que são suplementados com essa fonte em relação à fontes mais solúveis no rúmem.

3. REFERÊNCIAS

- George, M. H., Nockels, C. F., Stanton, T. L., Johnson, B., Cole, N. A., & Brown, M. A. (1997). Effect of Source and Amount of Zinc, Copper, Manganese, and Cobalt Fed to Stressed Heifers on Feedlot Performance and Immune Function. *Professional Animal Scientist*, 13(2), 84–89. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)31850-7](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31850-7)
- Salyer, G. B., Galyean, M. L., Defoor, P. J., Nunnery, G. A., Parsons, C. H., & Rivera, J. D. (2004). Effects of copper and zinc source on performance and humoral immune response of newly received, lightweight beef heifers 1. In *J. Anim. Sci* (Vol. 82). <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/82/8/2467/4790703>
- Ahola, J. K., Sharpe, L. R., Dorton, K. L., Burns, P. D., Stanton, T. L., & Engle, T. E. (2005). Effects of Lifetime Copper, Zinc, and Manganese Supplementation and Source on Performance, Mineral Status, Immunity, and Carcass Characteristics of Feedlot Cattle. *Professional Animal Scientist*, 21(4), 305–317. [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)31222-5](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31222-5)
- Afonso LEF, Santos MER, Silva SP, Rêgo AC, Fonseca DM, Carvalho BHR (2018). O capim-marandu baixo no início do diferimento melhora a morfologia do pasto e aumenta o desempenho dos ovinos no inverno. *Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia*. (Online), 70(4), 1249-1256.
- Alhidary, I.A., Abdelrahman, M.M. & Khan, R.U. Comparative effects of direct-fed microbials alone or with a trace minerals supplement on the productive performance, blood metabolites, and antioxidant status in grazing Awassi

- lamb. **Environ Sci Pollut Res** 23, 25218–25223 (2016).
<https://doi.org/10.1007/s11356-016-7684-z>
- Arthington JD, Eicher SD, Kunkle WE, Martin FG (2003) Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. *Journal of Animal Science*. 81:1120–1125.
- Arthington, J. D. and Havenga, L. J. Effect of injectable trace minerals on the humoral immune response to multivalent vaccine administration in beef calves. **J. Anim. Sci.** 2012.90:1966–1971. doi:10.2527/jas2011-4024.
- Arthington, J. D., Moriel, P., P. G. Martins, M. A., Lamb, G. C., Havenga, L. J. Effects of trace mineral injections on measures of performance and trace mineral status of pre- and postweaned beef calves. **J. Anim. Sci.** 2014.92:2630–2640. doi:10.2527/jas2013-7164.
- Arthington, J. D.; Ranches, J. Trace Mineral Nutrition of Grazing Beef Cattle. *Animals* 2021, 11, 2767. <https://doi.org/10.3390/ani11102767>.
- Baxter, J. D., and P. H. Forsham. 1972. Tissue effects of glucocorticoids. *Am. J. Med.* 53:573-589. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(72\)90154-4](https://doi.org/10.1016/0002-9343(72)90154-4).
- Blecha F (2000) Immune system response to stress. in.: Moberg GP, Mench JA (Eds.) *The biology of animal stress basic principles and implications for animal welfare*. New York. CABI Publishing, p. 111-122.
- Caldera, E., B. Weigel, V. N. Kucharczyk, K. S. Sellins, S. L. Archibeque, J. J. Wagner, H. Han, J. W. Spears, and T. E. Engle. 2019. Trace mineral source influences ruminal distribution of copper and zinc and their binding strength to ruminal digesta. **J. Anim. Sci.** 97:1852–1864. doi: 10.1093/jas/skz072.
- Carroll, J. A., and N. E. Forsberg. (2007). Influence of stress and nutrition on cattle immunity. **Vet. Clin. Food. Anim.** 23:105–149.
- Carroll, J. A., Forsberg, N. E., Influence of Stress and Nutrition on Cattle Immunity. 2007. **Vet. Clin. Food Anim.** 23: 105–149. doi:10.1016/j.cvfa.2007.01.003.
- Carroll, J. A., R. R. Reuter, C. C. Chase, S. W. Coleman, D. G. Riley, D. E. Spiers, J. D. Arthington, And M. L. Galyean. (2009). Profile of the bovine acute-phase response following an intravenous bolus-dose lipopolysaccharide challenge. **Innate Immun.** 15:81-89. doi:10.1177/1753425908099170.

- Cernicchiaro, N., White, B.J. Renter, D.G., Babcock, A.H., Kelly, L., Slattery, R. (2012). Associations between the distance traveled from sale barns to commercial feedlots in the United States and overall performance, risk of respiratory disease, and cumulative mortality in feeder cattle during 1997 to 2009. **J. Anim. Sci.**, 90, pp. 1929-1939 <https://doi.org/10.2527/jas.2011-459922247119>.
- Chirase, N. K., Hutcheson, D. P.; Thompson, G. B. Feed intake, rectal temperature, and serum mineral concentrations of feedlot cattle fed zinc oxide or zinc methionine and challenged with infectious bovine rhinotracheitis virus, **Journal of Animal Science**, Volume 69, Issue 10, October 1991, Pages 4137–4145, <https://doi.org/10.2527/1991.69104137x>
- Cole, N. A., And D. P. Hutcheson. (1985). Influence of Prefast Feed Intake on Recovery from Feed and Water Deprivation by Beef Steers. **J. Anim. Sci.** 60:772–780. doi:10.2527/jas1985.603772x.
- Cole, N. A., W. A. Phillips, And D. P. Hutcheson. (1986). The Effect of Pre-Fast Diet and Transport on Nitrogen Metabolism of Calves. **J. Anim. Sci.** 62:1719–1731. doi:10.2527/jas1986.6261719x.
- Cooke RF (2017) Invited Paper: Nutritional and management considerations for beef cattle experiencing stress-induced inflammation. *The Professional Animal*
- Da Cruz PG, Santos PM, Pezzopane JRM, Oliveira PPA, Araujo LC (2011) Modelos empíricos para estimar o acúmulo de matéria seca de capim-marandu com variáveis agrometeorológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 46: 675–681.
- Daniel, J. B., S. K. Kvidera, and J. Martin-Tereso. 2020. Total-tract digestibility and milk productivity of dairy cows as affected by trace mineral source. **J. Dairy Sci.** 103:9081–9089. doi:10.3168/jds.2020-18754.
- Deters, E. L. & Hansen, S. L. Invited Review: Linking road transportation with oxidative stress in cattle and other species. (2020) **Applied Animal Science**, 36:183–200. <https://doi.org/10.15232/aas.2019-01956>.
- Detmann E, Paulino MF, Valadares Filho SC, Batista ED, Rufino LMA (2014). Aspectos nutricionais aplicados a bovinos em pastejo nos trópicos. **Anais...IX Simpósio de Produção de Gado de Corte e V Simpósio Internacional de**

- Produção de Gado de Corte. (RDs SC Valadares Filhos, MF Paulino, ML Chizzotte) pp, 239-267.
- Detmann, E., Paulino, M.F., Mantovani, H.C., Valadares Filho, S.C., Sampaio, C.B., Souza, M.A., Lazzarini, I., Detmann, K.S.C., 2009. Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using MichaelisMenten kinetics. **Liv. Sci.**, 126, 136-146.
- Detmann, E., Paulino, M.F., Valadares Filho, S.C., 2010. Otimização do uso de recursos forrageiros basais. In: Anais do 7º Simpósio de Produção de Gado de Corte, Viçosa. pp.191-240.
- Detmann, E., Valadares Filho, S. C., Paulino, M. F. Huhtanen, P., 2014. Nutritional aspects applied to grazing cattle in tropics: a review based on Brazilian results. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 4, suplemento, p. 2829-2854, 2014.
- Detmann, E.; Paulino, M. F.; Valadares Filho, S. C.; Lana, R. P. Fatores controladores de consumo em suplementos múltiplos fornecidos ad libitum para bovinos manejados a pasto. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, p. 73-93, 2007.
- Detmann, E.; Paulino, M.F.; Valadares Filho, S.C. Avaliação de alimentos ou de dietas? Uma abordagem conceitual. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE , SIMCORTE, 2008.
- Detmann, E.; Paulino, M.F.; Valadares Filho, S.C. Otimização do uso de recursos forrageiros basais. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7, 2010, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIMCORTE, 2010.
- Duff, G.C., Galyean, M. L. (2007) Board-Invited Review: Recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. **Journal of Animal Science** 85:823–840.
- Eisenstein, A. B., I. Strack, and A. Steiner. 1974. Glucagon stimulation of hepatic gluconeogenesis in rats fed a high-protein, carbohydrate-free diet. *Metabolism* 23:15–23. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(74\)90099-7](https://doi.org/10.1016/0026-0495(74)90099-7).
- Eryavuz, A., and B. A. Dehority. 2009. Effects of supplemental zinc concentration on cellulose digestion and cellulolytic and total bacterial numbers in vitro. **Anim. Feed Sci. Technol.** 151:175–183. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2009.01.008.

- Faulkner, M. J., and W. P. Weiss. 2017. Effect of source of trace minerals in either forage- or by-product-based diets for dairy cows: 1. Production and macronutrient digestibility. **J. Dairy Sci.** 100:5358–5367. doi: 10.3168/jds.2016-12095
- Genther, O. N. & Hansen, S. L. A multielement trace mineral injection improves liver copper and selenium concentrations and manganese superoxide dismutase activity in beef steers. *J. Anim. Sci.* 2014.92:695–704. doi:10.2527/jas2013-7066
- Genther, O. N., And S. L. Hansen. 2014. A multielement trace mineral injection improves liver copper and selenium concentrations and manganese superoxide dismutase activity in beef steers. *J. Anim. Sci.* 92:695–704. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7066>.
- Genther, O. N., and S. L. Hansen. 2015. The effect of trace mineral source and concentration on ruminal digestion and mineral solubility. **J. Dairy Sci.** 98:566–573. doi:10.3168/jds.2014-8624.
- Genther-Schroeder, O. N., And S. L. Hansen. 2015. Effect of a multielement trace mineral injection before transit stress on inflammatory response, growth performance, and carcass characteristics of beef steers. **J. Anim. Sci.** 93:1767–1779. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8709>.
- Gerich, J. E., M. A. Charles, and G. M. Grodsky. 1974a. Characterization of the effects of arginine and glucose on glucagon and insulin release from the perfused rat pancreas. *J. Clin. Invest.* 54:833–841. <https://doi.org/10.1172/JCI107823>.
- Gerich, J. E., V. Schneider, S. E. Dippe, M. Langlois, C. Noacco, J. H. Karam, and P. H. Forsham. 1974b. Characterization of the glucagon response to hypoglycemia in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38:77–82. <https://doi.org/10.1210/jcem-38-1-77>.
- Grandin. T. (1997). Assessment of stress during handling and transport. **J. Anim. Sci.**, 75, pp. 249-257. 10.2527/1997.751249x
- Guimaraes, O., Jalali, S., Wagner, J.J., Spears, J.W., Engle, T.E., 2021. Trace mineral source impacts rumen trace mineral metabolism and fiber digestion in steers fed a grass hay diet. **Journal of Animal Science**, 2021, Vol. 99, No. 9, 1–7. <https://doi.org/10.1093/jas/skab220>.

- Guimaraes, O., Wagner, J. J., Spears, J. W., Brandao, V. L. N., Engle, T. E. 2022. Trace mineral source influences digestion, ruminal fermentation, and ruminal copper, zinc, and manganese distribution in steers fed a diet suitable for lactating dairy cows. **Animal** 16: 100500. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100500>.
- Haley, D. B., Bailey, D. W.; Stookey, J. M. (2005). The effects of weaning beef calves in two stages on their behavior and growth rate. **J. Anim. Sci.** 83:2205–2214.
- Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine (terceira ed.). Oxford University Press , Nova York, EUA, 1999.
- Hernandez-Sanchez, D., D. Cervantes-Gomez, J. E. RamirezBribiesca, M. Cobos-Peralta, R. Pinto-Ruiz, L. Astigarraga, and J. I. Gere. 2018. The influence of copper levels on in vitro ruminal fermentation, bacterial growth, and methane production. **J. Sci, Food Agric.** 99: 1073–1077. Doi:10.1002/jsfa.9274.
- Homem BGC, Lima IBG, Spasiani PP, Ferreira IM, Boddey RM, Bernardes TF, Dubeux JCB, Casagrande DR (2021a) Palisadegrass pastures with or without nitrogen or mixed with forage peanut grazed to a similar target canopy height. 1. Effects on herbage mass, canopy structure and forage nutritive value. **Grass and Forage Science** 1–13.
- Hutcheson, D. P.; Cole; N. A. (1986). Management of transit-stress syndrome in cattle: Nutritional and environmental effects. **J. Anim. Sci.** 62:555–560.
- Kegley, E. B., M. R. Pass, J. C. Moore, and C. K. Larson. 2012. Supplemental trace minerals (zinc, copper, manganese, and cobalt) as Availa-4 or inorganic sources for shipping-stressed beef cattle. **Prof. Anim. Sci.** 28:313–318. doi:10.15232/S1080-7446(15)30361-2.
- Kuijk, S. V., Swiegers, P., Han, Y. Hydroxychloride trace minerals improve apparent total tract nutrient digestibility in Bonsmara beef cattle. **Livestock Science.** 256 (2022) 104820. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104820>.
- Lazzarini, I., Detmann, E., Sampaio, C.B., Paulino, M.F., Valadares Filho, S.C., Souza, M.A., Oliveira, F.A., 2009. Intake and digestibility in cattle fed lowquality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **R. Bras. Zootec.**, 38, 2021-2030.

- Leng, R.A., 1990. Factors affecting the utilization of "poor-quality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutr. Res. Rev.**, 3, 277-303.
- Lippolis, K. D., Cooke, R. F., Silva, L. G. T., Schubach, K. M., Brandao, A. P., Marques, R. S., Larson, C. K., Russell, J. R., Arispe, S. A., Delcurto, T., & Bohnert, D. W. (2017). Effects of organic complexed or inorganic Co, Cu, Mn and Zn supplementation during a 45-day preconditioning period on productive and health responses of feeder cattle. **Animal**, 11(11), 1949–1956. <https://doi.org/10.1017/S1751731117001033>.
- Loerch, S. C.; Fluharty, F. L. (1999). Physiological changes and digestive capabilities of newly received feedlot cattle. **J. Anim. Sci.**, 77 (1999), pp. 1113-1119, 10.2527/1999.7751113x.
- López-Alonso, M. (2012). Trace Minerals and Livestock: Not Too Much Not Too Little. **ISRN Veter Sci.**, 2012, 1–18.
- Marques, R. S.; Cooke, R. F.; Francisco, C. L.; Bohnert. D. W. (2012). Effects of twenty-four hour transport or twenty-four hour feed and water deprivation on physiologic and performance responses of feeder cattle. **J. Anim. Sci.** 90:5040–5046. doi:10.2527/jas.2012-5425.
- Marques, R. S., Bohnert, D. W., De Sousa, O. A., Brandão, A. P., Schumacher, T. F., Schubach, K. M., Vilela, M. P., Rett, B., Cooke, R. F. Impact of 24-h feed, water, or feed and water deprivation on feed intake, metabolic, and inflammatory responses in beef heifers. **J Anim Sci**; 97(1):398–406. <https://doi.org/10.1093/jas/sky397>.
- Meiske, J. C., R. L. Salsbury, J. A. Hofer, and R. W. Luecke. 1958. The effect of starvation and subsequent re-feeding on some activities of rumen microorganisms in vitro. **J. Anim. Sci.** 17:774–781.
- Miller, M. D., J. S. Lanier, S. K. Kvidera, H. M. Dann, C. S. Ballard, and R. J. Grant. 2020. Evaluation of source of corn silage and trace minerals on lactational performance and total-tract nutrient digestibility in Holstein cows. **J. Dairy Sci.** 103:3147– 3160. doi:10.3168/jds.2019-17716.
- Moberg GP (2000) Biological response to stress: Implications for animal welfare. in.: Moberg GP, Mench JA (Eds.) The biology of animal stress basic principles and implications for animal welfare. New York. CABI Publishing, p. 1-22.

- Nagalakshmi, D.; Ramulu, S.P.; Rani, M.U. (2012). Effect of graded levels of zinc supplementation on growth performance and oxidative defense mechanism in rats. **IOSR. J. Pharm.**, 2, pp. 36-41.
- Paulino, M.F., Detmann, E., Valente, E.E.L., Barros, L.V., 2008. Nutrição de bovinos em pastejo. In: Anais do 4º Simpósio sobre Manejo Estratégico da Pastagem, Viçosa. pp.131-169.
- Paulino, M.F., Detmann, E., Valente, E.E.L., Barros, L.V., 2008. Nutrição de bovinos em pastejo. In: Anais do 4º Simpósio sobre Manejo Estratégico da Pastagem, Viçosa. pp.131-169.
- Percival, S. S. Copper and immunity, *The American Journal of Clinical Nutrition*, Volume 67, Issue 5, May 1998, Pages 1064S–1068S, <https://doi.org/10.1093/ajcn/67.5.1064S>.
- Perea, A., F. Clemente, J. Martinell, M. Villanueva-Peñacarrillo, and I. Valverde. 1995. Physiological effect of glucagon in human isolated adipocytes. *Horm. Metab. Res.* 27:372–375. <https://doi.org/10.1055/s-2007-979981>.
- Pogge, D. J., Richter, E. L., Drewnoski, M. E., Hansen, S. L. Mineral concentrations of plasma and liver after injection with a trace mineral complex differ among Angus and Simmental cattle. **J. Anim. Sci.** 2012.90:2692–2698. doi:10.2527/jas2012-4482.
- Poppi, D. P.; Mclennan, S. R. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 1, p. 278-290, 1995.
- Prasad, A. S. (2009) Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. **Curr. Opin. Clin. Nutr.**, 12 (2009), pp. 646-652. 10.1097/MCO.0b013e3283312956.
- Richeson, J. T. and Kegley, E. B. Effect of supplemental trace minerals from injection on health and performance of highly stressed, newly received beef heifers. **The Professional Animal Scientist** 27 (2011):461–466.
- Richeson, J. T.; Kegley, E. B. (2011). Effect of supplemental trace minerals from injection on health and performance of highly stressed, newly received beef heifers. **The Professional Animal Scientist.** 27 461–466.

- Russell, J. B. *Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition*. Ithaca: James B. Russell, 2002. 119 p.
- Ryan, A. W., E. B. Kegley, J. Hawley, J. G. Powell, J. A. Hornsby, J. L. Reynolds, and S. B. Laudert. 2015. Supplemental trace minerals (zinc, copper, and manganese) as sulfates, organic amino acid complexes, or hydroxy trace mineral sources for shipping-stressed calves. **Prof. Anim. Sci.** 31:333–341. doi:10.15232/pas.2014-01383
- Sampaio, C.B., Detmann, E., Paulino, M.F., Valadares Filho, S.C., Souza, M.A., Lazzarini, I., Paulino, P.V.R., Queiroz, A.C., 2010. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. *Trop. Anim. Health Prod.*, 42, 1471-1479.
- Sampaio, C.B., Detmann, E., Paulino, M.F., Valadares Filho, S.C., Souza, M.A., Lazzarini, I., Paulino, P.V.R., Queiroz, A.C., 2010. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Trop. Anim. Health Prod.**, 42, 1471-1479.
- Santos MER, Fonseca DD, Balbino EM, Monnerat JPIS, Silva SD (2009b). Capim-braquiária diferido e adubado com nitrogênio: produção e características da forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38(4), 650-656.
- Santos MER, Fonseca DD, Euclides VPB, Ribeiro Júnior JI, Nascimento Júnior D D, Moreira LDM (2009a). Produção de bovinos em pastagens de capim-braquiária diferidas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38(4), 635-642.
- Santos MER, Fonseca DM, Souza BML, Rocha GO, Carvalho NA, Carvalho RM, Carvalho BHR (2018). Todo ano tem seca. Está preparado? In F. D. Resende, G. R. Gustavo & I. M. Oliveira (Eds), Entendendo o conceito do boi777 (pp. 107-121). Jaboticabal: Gráfica Multipress LTDA.
- Shaeffer, G. L., K. E. Lloyd, and J. W. Spears. 2017. Bioavailability of zinc hydroxychloride relative to zinc sulfate in growing cattle fed a corn-cottonseed hull-based diet. **Anim. Feed Sci. Technol.** 232:1–5. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2017.07.013.
- Silva FFD, Sá JFD, Schio AR, Ítavo LCV, Silva RR, Mateus RG (2009). Grazing supplementation: availability and quality x supplementation levels x performance. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38(SPE), 371-389.

- Smart, M. E.; Gudmundson, J.; Christensen, D. A. (1981). Trace mineral deficiencies in cattle: A review. *Can. Vet. J.*22:372–376.
- Soetan, K.O.; Olaiya, C.O.; Oyewole, O.E. (2010) The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. ***Afr. J. Food Sci.***, 4, 200–222.
- Sordillo L. M. Aitken S. L. 2009. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. ***Vet. Immunol. Immunopath.***128:104–109.
- Souza, M.A., Detmann, E., Paulino, M.F., Sampaio, C.B., Lazzarini, I., Valadares Filho, S.C., 2010. Intake, digestibility, and rumen dynamics of neutral detergent fibre in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and/or starch. ***Trop. Anim. Health Prod.***, 42, 1299-1310.
- Spears J.W.; Kegley E.B.; Mullis L.A. (2004). Bioavailability of copper from tribasic copper chloride and copper sulfate in growing cattle. ***Anim. Feed Sci. Technol.*** 2004; 116: 1-13.
- Spears, J. W. (1996). Organic trace minerals in ruminant nutrition. ***Anim. Feed Sci. Technol.*** 58:151–163.
- Spears, J. W., E. B. Kegley, L. A. Mullis. 2004. Bioavailability of copper from tribasic copper chloride and copper sulfate in growing cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 116:1–13. doi:10.1016/j.anifeedsci.2004.06.002.
- Swanson JC, Morrow-Tesch J (2001) Cattle transport: Historical, research, and future perspectives. *Journal of Animal Science* 79: 102-109.
- Van Soest, P. J. Nutritional ecology of the ruminants. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p
- VanValin, K. R., O. N. Genter-Schroeder, R. N. Carmichael, C. P. Blank, E. L. Deters, S. J. Hartman, E. K. Niedermayer, S. B. Laudert, and S. L. Hansen. 2018. Influence of dietary zinc concentration and supplemental zinc source on nutrient digestibility, zinc absorption, and retention in sheep. ***J. Anim. Sci.*** 96:5336–5344. doi:10.1093/jas/sky384.
- Vissek, W. L. Ammonia: its effects on biological systems, metabolic hormones, and reproduction. ***Journal of Dairy Science***, Champaign, v. 67, n. 3, p. 481-498, 1984.

- Wagle, S. R., and W. R. Ingebretsen Jr. 1973. Stimulation of glycogenolysis by epinephrine and glucagon and its inhibition by insulin in isolated rat liver hepatocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 52:125–129. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(73\)90963-7](https://doi.org/10.1016/0006-291X(73)90963-7).
- Wei, J., Ma, F., Hao, L., Shan, Q., Sun, P. Effect of differing amounts of zinc oxide supplementation on the antioxidant status and zinc metabolism in newborn dairy calves. *Livestock Science.* 230 (2019) 103819. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.103819>.

CAPÍTULO 2 - IMPACTO DO ESTRESSE INDUZIDO PELA PRIVAÇÃO DE ÁGUA E ALIMENTO POR 48 HORAS E DA SUPLEMENTAÇÃO COM FONTES DE MINERAIS SOBRE O METABOLISMO E DESEMPENHO DE BOVINOS NELORE RECRIADOS A PASTO DURANTE O PERÍODO SECO.

RESUMO GERAL: Dois estudos foram conduzidos para investigar como 2 fontes de minerais Cu e Zn e a privação de água e alimento por 48 horas afetam o metabolismo e desempenho de bovinos Nelore recriados a pasto. No primeiro estudo, vinte animais Nelore, castrados, canulados no rúmen (peso corporal (PC):350 kg \pm 132 kg; 20 meses) foram blocados por PC e distribuídos aleatoriamente em baias individuais, em um arranjo fatorial 2 x 2. O primeiro fator foi: suplementação com minerais Cu e Zn (1) inorgânico (ING; óxido de zinco e sulfato de cobre) ou (2) hidroxilado (HDX; Selko®IntelliBond®, Indianapolis, USA). O segundo fator foi: (1) animias com acesso regular a água e alimento (SPRIV) ou (2) com privação de água e alimentos por 48 horas (CPRIV). O período experimental durou 57 dias e foi dividido em 2 períodos: (1) adaptação de d-21 a d-1 e (2) avaliação de d0 a d 36. A digestibilidade e consumo foram avaliados em d3-d5, d11-d13 e d32-d34. Os parâmetros ruminais foram mensurados no d0-d2, a cada 12 horas e em d-2, d7, d15 e d36. A privação não afetou ($P = 0,294$) o consumo de matéria seca e o consumo de nutrientes, mas uma interação entre privação x período foi detectada ($P = 0,027$) para digestibilidade da matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), fibra insolúvel em detergente neutro (DFDN) e fibra insolúvel em detergente ácido (DFDA). CPRIV apresentou maior a DMS, DMO, DFDN e DFDA nos d3-d5. No entanto, CPRIV apresentou menor digestibilidade em períodos mais prolongados, como da MS d11-d13 e d32-d34, da MO no período de d11-d13, e das frações fibrosas no período de d32-d34. HDX tendeu a aumentar o consumo de matéria seca e consumo de nutrientes ($P = 0,075$). Houve tendência de HDX ($P = 0,099$) aumentar DFDN em 1,6 pontos percentuais em relação a ING. Durante d0 a d2 a concentração de ácidos graxos voláteis (AGV) reduziu de 62,3 para 20,1 mMol/dL, enquanto o pH ruminal aumentou 7,3 para 8,2 (Interação privação x horário; $P < 0,001$) em CPRIV. A proporção de acetato aumento em CPRIV até 24 horas de privação, mas ao final das 48 horas foi semelhante entre CPRIV e SPRIV (Interação privação x horário; $P = 0,002$). As proporções de propionato e butirato reduziram enquanto as de isobutirato, isovalerato ($P < 0,001$) e valerato ($P = 0,055$) aumentaram em CPRIV (Interação privação x horário). A concentração de nitrogênio amoniacal ruminal foi menor as 12 horas e maior as 24 horas em CPRIV (Interação privação x horário; $P < 0,001$). No experimento 2, oitenta e quatro animais Nelores machos, não castrados (PC = 260 kg \pm 35 kg) foram atribuídos a piquetes de *Brachiaria brizantha* cv. *Marandu* por 131 dias em delineamento de blocos casualizados com arranjo fatorial (2 x 2). Dentro dos blocos os animais foram distribuídos aleatoriamente entre os tratamentos. As concentrações séricas de ureia e ácidos graxos não esterificados foram maiores nos dias 2 e 7 em animais privados e posteriormente tornaram-se semelhantes entre os tratamentos (interação privação x dia; $P = 0,006$). Proteína total e arpartato aminotransferase séricos foram maiores no dia 2 em CPRIV e posteriormente diferenças deixaram de existir (interação privação x dia; $P = 0,080$). As concentrações de albumina ($p = 0,033$) e glicose ($p = 0,080$) foram maiores em CPRIV. Animais HDX apresentaram menor pico de ureia no dia 2 e seus valores se mantiveram inferiores no dia 12 e 105 (interação mineral x período; $P = 0,029$). A concentração de Cu no fígado foi maior em SPRIV/HDX (interação mineral x privação;

P = 0,003), enquanto a concentração de Zn no fígado foi semelhante entre tratamentos (P = 0,121). Foi detectado interação entre privação x período (P < 0,001) para peso corporal e GMD. Animais CPRIV apresentaram perda de 34,5 kg o que resultou em menor peso corporal no dia 2. Nos primeiros dias após a privação (dia 2 ao 12) os animais CPRIV apresentaram maior GMD e recuperaram o peso perdido, mantendo PC semelhante os tratamentos. A partir do dia 12 o desempenho foi similar entre os tratamentos. Em conclusão, a privação de água e alimento impactou parâmetros de digestibilidade de nutrientes e fermentação ruminal a curto e longo prazo. Após a privação, os animais foram capazes de recuperar o PC, resultando em nenhuma diferença de desempenho entre animais privados de água e alimento e sem privação. Além disso, a suplementação com Cu e Zn hidroxilado aumentou Cu no fígado e tendeu a aumentar o consumo de matéria seca e digestibilidade da FDN, mas não foi capaz de alterar o desempenho.

Palavras chaves: Bovinos de corte, cobre, estresse, mineral hidroxilado, zinco

IMPACT OF STRESS INDUCED BY DEPRIVATION OF WATER AND FEED FOR 48 HOURS AND SUPPLEMENTATION WITH SOURCES OF MINERALS ON THE METABOLISM AND PERFORMANCE OF NELORE CATTLE DURING BACKGROUND PHASE ON PALISADE GRASS IN THE DRY PERIOD

GENERAL ABSTRACT: Two studies were conducted to investigate how the supplementation of 02 trace mineral (TM) sources of Cu and Zn and 48-hours water/feed deprivation would affect performance and metabolism of grass-fed beef cattle. In the first study, Twenty castrated and rumen-canulated Nelore steers (BW = 350 kg \pm 132 kg; 20m) were blocked by BW and randomly distributed in individual pens, in a 2 x 2 factorial arrangement: supplemental Cu and Zn sources from inorganic (ITM; sulfate) vs. hydroxy (HTM, Selko ®IntelliBond®, Indianapolis, USA); and 48-hours deprivation (WFD) vs. unrestricted (WFU) access to water and feed. The 57d of study was divided in two periods: (1) Adaptation from -21d to -1d and (2) evaluation from 0d to 36d. Intake and nutrient digestibility were evaluated on 3d-5d, 11d-13d and 32d-34d. Ruminal parameters were measured during deprivation period on d0-d2, every 12h, and on -2d, 7d, 15d and 36d. Deprivation did not affect ($P>0.10$) DMI and nutrient intake, although interaction between deprivation x period was detected ($P<0.05$) for DMD, OMD, NDFD and ADND. WFD increased DMD, OMD, NDFD and ADFD shortly after the deprivation period (3d-5d), However, deprivation interrupted digestibility in longer periods, such as 11d-13d and 32d-34d. HTM tended to increase DMI and nutrients intake ($P=0.075$) and NDFD in 1.6% compared ITM. Several ruminal parameters were affected by deprivation: VFA concentration decreased from 62.3 to 20.1 mMol/dL, while rumen pH increased from 7.3 to 8.2 (deprivation x time; $P<0.05$); decreased propionate, butyrate and increased isobutyrate, isovalerate and valerate, lower ruminal ammoniacal nitrogen at 12 hours and higher at 24 hours in WFD (deprivation x time; $P<0.05$), respectively. In the second study, eighty-four intact Nelore males (BW=260 kg \pm 35 kg) were blocked by BW and randomly assigned to *Urochloa brizantha* cv. Marandu paddocks for 131d in a 2X2 factorial arrangement. Within the blocks, animals were randomly distributed among the same treatments as describe in study 1. WFD animals increased serum urea and NEFA 2d and 7d (deprivation x day; $P<0.05$); increased AST and total protein on 2d (deprivation x day; $P=0.080$), and increased albumin ($P=0.033$) and glucose ($P=0.080$). HTM lowered urea peak on 2d and remained lower on 12d and 105d (mineral x period; $P<0.05$). Liver Cu was higher in WFU/HTM animals (mineral x deprivation; $P<0.05$). Interaction between deprivation x period ($P<0.05$) was detected for BW and ADG. WFD lost 34.5 kg, resulting in lower BW on 2d. on 2d and 12d after deprivation, WFD increased ADG and recovered the BW lost. On 12d, no performance differences between treatments ($P>0.10$). In conclusion, water and feed deprivation impact nutrient digestibility and ruminal fermentation parameters in short and long-term. After deprivation, animals were able to compensate, recovering BW faster, resulting in no performance differences between deprived and unrestricted feed and water. Additionally, the supplementation of hydroxy Cu and Zn increased liver Cu and tended to increase DMI and NDFD, but was not able to change the performance.

Keywords: Beef cattle, copper, hydroxychloride, stress, zinc

1. INTRODUÇÃO

Procedimentos de gestão praticados na pecuária de corte permite que os animais passem por eventos estressores como desmame e transporte (Carroll e Forsberg, 2007). Sob tais circunstâncias, é comum ocorrer privação de água e alimento (Haley et al., 2005; Marques et al., 2012), impactando negativamente a fermentação ruminal (Cole et al., 1986), saúde e desempenho (Breazile, 1988; Grandin, 1997; Loerch e Fluharty, 1999). Dentre os efeitos sobre a microbiota ruminal (Meiske et al. 1958) podemos destacar a redução da população bacteriana, capacidade fermentativa (Cole et al., 1986) e, conseqüentemente, o consumo diário (Cole & Hutcheson, 1985). Adicionalmente, tal perturbação do ambiente ruminal pode promover a liberação de endotoxinas microbianas que, uma vez na corrente sanguínea, estimulam uma resposta de fase aguda (Carroll et al., 2009).

Em adição, a privação de água e alimento ativa o eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal, ocasionando aumento na concentração plasmática de cortisol, que somado a privação de nutrientes pode mobilizar ácidos graxos do tecido adiposo (Ward et al., 1992; Henricks et al., 1994; Marques et al., 2019) e aminoácidos do músculo para síntese de enzimas e gliconeogênese no fígado (Baxter e Forsham, 1972). Parte do nitrogênio (N) oriundo dos aminoácidos mobilizados do músculo é convertido em ureia (Takemoto et al., 2017) para manter a reciclagem de N para o rúmem (NRC, 1985). Essa cascata de reações pode reduzir o consumo, desempenho e imunocompetência, levando à maior suscetibilidade a doenças (Fluharty et al., 1994; Blecha, 2000; Cooke, 2017).

Desta forma, adotar estratégias nutricionais que impactam de forma positiva na saúde dos animais é importante para melhorar a produtividade e bem-estar animal (Duff & Galyean, 2007). Adicionalmente, a suplementação com microminerais pode ser uma estratégia a ser adotada para melhorar a saúde e desempenho animal (George et al., 1997; Dorton et al., 2006; Wei et al., 2019; Cidrini et al., 2020). Portanto, a suplementação, principalmente com Cu e Zn, pode ser considerada uma estratégia para minimizar os efeitos negativos do estresse sobre os animais.

A melhoria do status mineral pode aumentar a concentração de enzimas do sistema antioxidante e resposta do sistema imunológico, melhorando o

desenvolvimento do animal (Halliwell & Gutteridge, 1999; Prasad, 2009; Nagalakshmi et al., 2012; Genther & Hansen, 2014; Alhidary et al., 2016; Wei et al., 2019). Em bovinos sob pastejo, elementos como Cu e Zn são comumente ingeridos abaixo dos requerimentos diário (Arthington e Ranches, 2021), podendo gerar deficiência desses elementos. A baixa ingestão combinada com a formação de complexos insolúveis com antagonistas da dieta como ferro (Fe), molibdênio (Mo) e enxofre (S) podem afetar sua absorção pelos animais e intensificar ainda mais o processo de deficiência (Spears, 1996; López-Alonso, 2012), prejudicando a competência imunológica. Isso implica na necessidade de fornecimento via suplementação para animais nestas condições e no uso de uma fonte de mineral que seja menos susceptível a interações com minerais antagonistas.

Fontes de minerais inorgânicos possuem maior solubilidade ruminal, podendo afetar sua reatividade com antagonistas e microrganismos ruminais, prejudicando sua biodisponibilidade (Caldera et al. 2019). Já é documentado que o uso de fonte hidroxilada de Cu e Zn pode aumentar a concentração desses minerais no fígado e plasma (Spears, 2004; Shaeffer et al., 2017), melhorar a digestibilidade dos nutrientes (Daniel et al., 2020; Guimarães et al., 2021; 2022) e desempenho dos animais (Cidrini et al., 2020) em relação a fonte sulfato de Cu e Zn.

Hipotetizamos que: 1) fermentação ruminal será prejudicada pela privação de água e alimento o que ocasionará menor produção de ácidos graxos, consumo e digestibilidade dos nutrientes nos primeiros dias de realimentação, além do mais, a privação de nutrientes irá induzir a mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo e aminoácidos do músculo para uso como substrato energético e reciclagem de N, 2) devido a menor solubilidade ruminal e maior biodisponibilidade, o uso de fonte hidroxilada de Cu e Zn aumentará a digestibilidade dos nutrientes e impedirá redução na concentração de Cu e Zn no fígado ocasionado pela indução do estresse através da privação, o que melhorará do status mineral e minimizará os impactos fisiológicos negativos do estresse, resultando em melhor desempenho dos animais. O objetivo deste estudo foi investigar como o fornecimento de duas fontes distintas de minerais e a privação de água e alimento por longo período (48 horas) influenciam a fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes, metabólitos sanguíneos, e desempenho de bovinos jovem da raça Nelore recriados a pasto no período da seca.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos de cuidado e manuseio dos animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Departamento de Descentralização do Desenvolvimento (CEUA DDD, protocolo 0008/2021).

2.1. Local

O estudo foi conduzido na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) em Colina, SP, Brasil (20°43'5" S, 48°32'38" W), de julho de 2021 a novembro de 2021 durante a estação. Nos últimos 25 anos (1992 a 2016) a média anual de precipitação média foi 1318 mm, e a precipitação de julho a novembro no mesmo período foi de 335 mm. Durante os 131 dias experimentais a precipitação total foi 557, o que representou um aumento de 66,3% do valor esperado nos últimos 25 anos.

2.2. Tratamentos experimentais

Os tratamentos foram distribuídos em arranjo fatorial para investigar o uso de diferentes fontes de minerais Cu e Zn, a privação de água e alimento por 48 horas e suas interações. As fontes de minerais Cu e Zn consistiram em: Animais recebendo suplemento proteico com minerais Cu e Zn (1) inorgânico (ING; óxido de zinco e sulfato de cobre) ou (2) hidroxilado (HDX; cloreto de zinco tetrabásico e cloreto de cobre tribásico; Selko ®IntelliBond®, Indianapolis, USA). O segundo fator foi: (1) animias com acesso regular a água e alimento (SPRIV) ou (2) com privação de água e alimentos por 48 horas (CPRIV).

Tabela 1: Composição química do suplemento proteico fornecido durante o experimento.

Item	Inorgânico	Hidroxilado
Ingredientes, %		
Farelo de soja	36,5	36,5
Caulim	23,0	23,0
Ureia	11,3	11,3
Milho	9,0	9,0
Minerais ^{1,2}	20,2	20,2
Composição, g/kg MS		
Matéria seca	894	888
Proteína bruta	577	535
Fibra insolúvel em detergente neutro	257	245
Fibra insolúvel em detergente ácido	90,2	91,2
Extrato etéreo	26	23
Matéria mineral	437	416
NNP equi. PB ³	325	325
mg/kg MS ⁴		
Cobre	260	260
Zinco	960	960

¹Calcário calcítico, fosfato monocálcio, cloreto de sódio, enxofre ventilado, monóxido de manganês, carbonato de cobalto, iodato de cálcio e selenito de sódio.

²Cálcio: 52 g/kg; fósforo: 15 g/kg; sódio: 40 g/kg; magnésio 2 g/kg; enxofre: 15 g/kg; flúor: 250 mg/kg; manganês, 200 mg/kg; cobalto: 15 mg/kg; iodo: 19 mg/kg; selênio: 5 mg/kg e monensina sódica: 200 mg/kg.

³NNP equi. PB: nitrogênio não proteico, expressado como equivalente proteico.

⁴Sulfato de cobre e óxido de zinco ou cloreto de cobre tribásico e cloreto de zinco tetrabásico.

2.3. Experimento 1: metabolismo animal

2.3.1. Animais, delineamento e dietas

Vinte animais Nelore, castrados, canulados no rúmen (peso corporal (PC) = 350 kg ± 132 kg; idade = 20 meses) foram distribuídos em baias individuais (2 x 5 m, com superfície de concreto, cocho e bebedouro) em delineamento em blocos casualizados com arranjo fatorial (2 x 2) e 5 repetições. O fator de blocagem foi o peso corporal inicial após jejum de sólidos e líquidos de 16 horas. Os animais foram

alimentados com feno de *Urochloa brizantha* cv. Marandu *ad libitum*, simulando um pasto de seca e suplemento proteico (ofertado na proporção de 2 g/kg de PC; Tabela 1).

2.3.2. Período experimental e aplicação dos tratamentos

O estudo teve duração de 57 dias e foi dividido em período de adaptação (d -21 ao d -1) e período de avaliação (d 0 ao d 36). Em d -21 foi aplicado somente o tratamento correspondente as fontes de minerais. No d 0, os grupos de animais que foram submetidos a privação, permaneceram por um período de 48 horas (d 0 ao d 2) sem acesso a água, suplemento e feno de *Urochloa brizantha* cv. Marandu (tabela 2), após este período os animais tiveram acesso regular à dieta experimental estabelecida para cada tratamento.

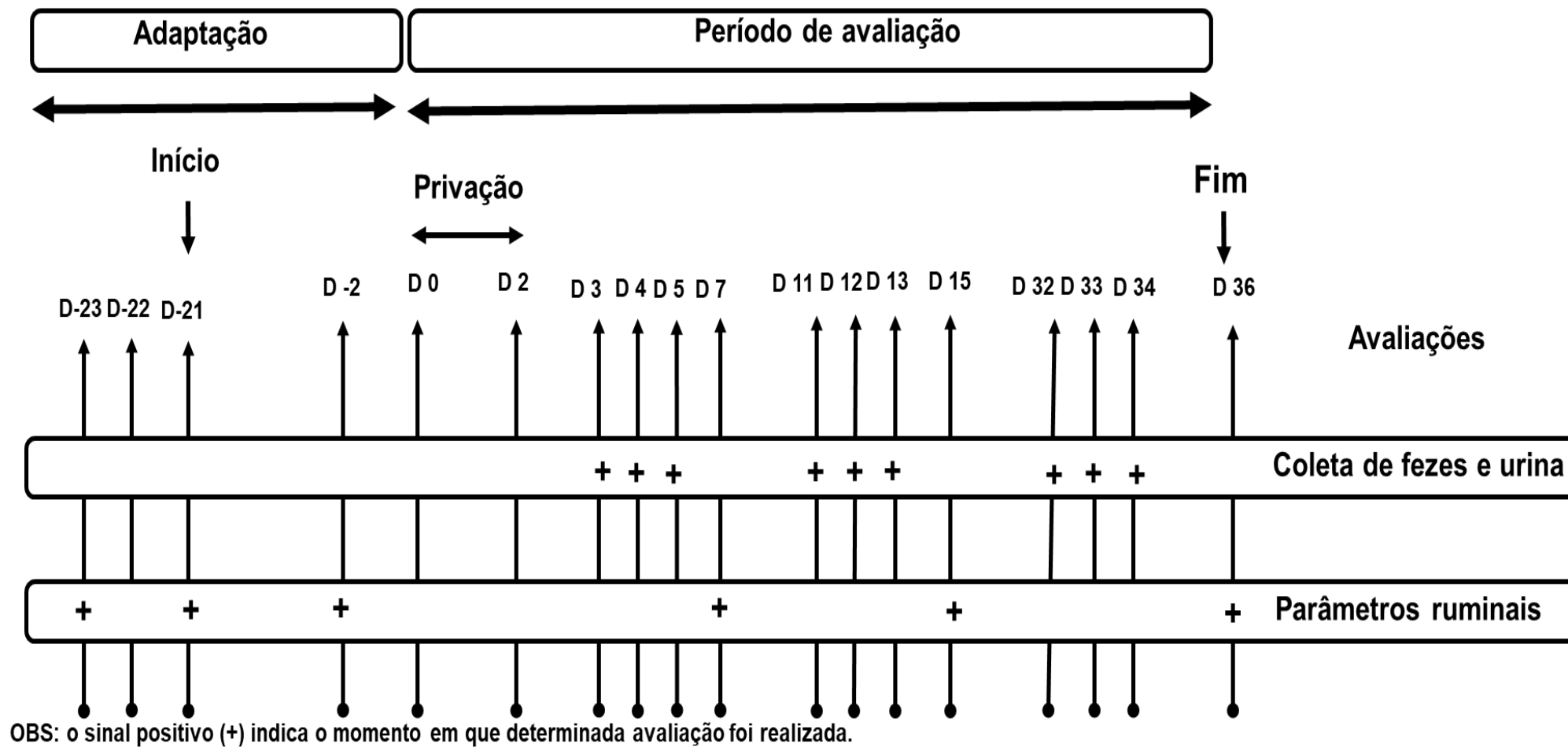


Figura 1: pontos de coleta de fezes, urina e parâmetros ruminiais durante o período experimental.

2.3.3. Avaliações experimentais

Consumo e digestibilidade: Dos dias 3 a 5, 11 a 13 e 32 a 34 (figura 1) o consumo de feno e suplemento foram mensurados (fornecido menos as sobras). Amostras de feno e suplemento (fornecido e sobras) também foram coletadas, homogeneizadas, resultando em uma amostra composta por animal dentro de cada período, para analisar o teor de matéria seca e perfil de nutrientes (matéria mineral, extrato etéreo, proteína bruta, fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e fibra insolúvel em detergente ácido (FDA)).

Nos mesmos dias que o consumo foi mensurado (figura 1), a produção fecal total foi coletada individualmente para determinação da digestibilidade total de nutrientes (matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), proteína bruta (DPB), fibra insolúvel em detergente neutro (DFDN) e fibra insolúvel em detergente ácido (DFDA). A produção fecal foi coletada e quantificada quatro vezes ao dia em balança eletrônica às 7:00 h, 15:00 h, 23:00 h e 7:00 h do dia seguinte e uma amostra representativa, com cerca de 10% do peso úmido da produção diária de cada animal foi coletada e armazenada a -20° C no mesmo dia da coleta.

Ao final dos três dias de coleta, as amostras coletadas foram homogeneizadas, separadas em três partes iguais e direcionadas para secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, moídas em moinho com peneira de 1 mm, formando uma amostra composta para análise de nutrientes. A digestibilidade total dos nutrientes (DTN) foi obtida através da seguinte fórmula: $DTN (\%) = ((IMS \times CNMS) - (MSFE \times CNFE) \times 100) / (IMS \times CNMS)$, onde IMS = Ingestão de matéria seca (kg), CNMS = Concentração de nutrientes da IMS (%), MSFE = Matéria seca fecal (kg), CNFE = Concentração de nutriente das fezes (%).

Síntese de proteína microbiana, eficiência microbiana e uso do nitrogênio:

A coleta total de urina foi realizada nos mesmos dias da coleta de fezes, por meio de um aparato de colheita ligado a um recipiente plástico contendo 500 mL de ácido sulfúrico (20%). No mesmo dia de coleta, foi amostrado 10 mL de urina da produção diária de cada animal, diluído em 40 mL de H₂SO₄ (0,036 N) e armazenada a -20°C para determinação dos teores de alantoína e ácido úrico (Chizzotti et al., 2008). Outro 50 mL de urina concentrada foi coletado e armazenado para a

determinação da quantidade de nitrogênio (N) total. A alantoína foi determinada pelo método colorimétrico, como descrito por Chen e Gomes (1992). O método calorimétrico também foi usado para determinar a concentração de ácido úrico na urina (Labtest Diagnostic S.A., Lagoa Santa, Brasil). Os derivados de purina (DP, mmol/dia) foram obtidos pela soma total da excreção de alantoína e ácido úrico, obtidos pela multiplicação das suas concentrações pelo volume total urinário diário.

As purinas absorvidas (PA) foram estimadas pelos derivados de purinas totais (DP) pela fórmula $PA = [DP - (0,301 \times PC^{0,75})] / 0,80$, onde PC é o peso corporal, $0,301 \times PC^{0,75}$ representa excreção endógena de DP e 0,80 é a recuperação de purinas absorvidas (Barbosa et al., 2011). A síntese de N microbiano (NMic) foi calculada pela PA usando a fórmula $NMic = [(70 \times PA) / (0,93 \times 1000 \times 0,137)]$, onde 70 representa a concentração de N nas purinas (mg/mmol), 0,93 é a digestibilidade das purinas e 0,137 taxa média de N-RNA pelo N-total para as bactérias isoladas no rúmen (Barbosa et al., 2011). Para obter a proteína microbiana, multiplicou-se o N microbiano por 6,25. A eficiência da síntese de proteína microbiana foi expressa em gramas de proteína microbiana por quilograma de MO digestível.

A excreção urinária de N foi obtida pela multiplicação do volume urinário pela concentração de N na urina (Chizzoti et al., 2006) e o mesmo padrão foi adotado para excreção de N fecal. O N retido/eficiência de uso do N foi determinada de acordo com Detmann et al. (2014), porém expresso em porcentagem, usando a seguinte fórmula:

$$N \text{ retido (\%)} = N \text{ retido (g/dia)} / N \text{ ingerido (g/dia)} * 100.$$

O N retido foi obtido pela diferença entre o N consumido e o N excretado nas fezes e na urina.

Parâmetros ruminais: Nos dias -23, -2, 7, 15 e 36 do período experimental (figura 1) às 0, 6, 12 e 18 horas após a alimentação, e do dia 0 ao 2 (a cada 12 horas) amostras de líquido ruminal foram coletadas (aproximadamente 150 mL/animal/tempo). As amostras foram filtradas em 4 camadas de gaze. Após o processo de filtração, procedeu-se a mensuração do pH do rúmen (50 mL de fluido ruminal) em potenciômetro digital (DM-22, Digimed, São Paulo, Brasil). Além disso, para a determinação do nitrogênio amoniacal (N-NH₃), adicionou-se 1 mL de H₂SO₄ 0,5 M em 50 mL de líquido ruminal e uma outra alíquota de 10 mL foi coletada para determinação de ácidos graxos de voláteis (AGV). Ambas amostras foram agrupadas

em todos os tempos de amostragem e armazenadas a -20°C para posterior análise laboratorial. O N-NH₃ foi determinado pelo método colorimétrico fenol-hipoclorito (Weatherburn, 1967) e os AGCC (AGCC totais, acetato, propionato, butirato, valerato, isobutirato e isovalerato) foram determinados por cromatografia gasosa (GCMS QP 2010 plus, Shimadzu®, Kyoto, Japan) usando coluna capilar (Stabilwax, Restek®, Bellefonte, USA; 60 m, 0,25 mm ø, 0,25 µm crossbond carbowax polyethylene glycol) de acordo com o método descrito por Palmquist et al. (1971).

2.4. Experimento 2: Desempenho animal

2.4.1. Área experimental

O experimento foi conduzido em área composta pela forrageira *Urochloa brizantha* cv. Marandu. A área era dividida em 12 piquetes (3,75 hectares) totalizando 45 ha. Todos os piquetes apresentavam bebedouro tipo australiano e cocho para suplementação (espaçamento de 25 cm linear por animal). O pasto foi vedado no final de abril de 2021 para ser utilizado durante o período experimental (julho de 2021 a novembro de 2021).

2.4.2. Animais, delineamento experimental e método de pastejo

Oitenta e quatro animais jovens, não castrados, da raça Nelore (peso corporal = 265 kg ± 35 kg; idade = 13 meses) foram atribuídos aos piquetes em delineamento de blocos casualizados em arranjo fatorial (2 x 2), totalizando 4 tratamentos e 3 repetições. O peso corporal médio (média dos pesos obtidos de pesagens em dois dias consecutivos) foi o fator de blocagem. Foram utilizados 4 piquetes por bloco e 7 animais por piquete. Os animais foram manejados em pastejo sob lotação contínua, com taxa de lotação fixa.

O suplemento foi fornecido para todos os animais diariamente às 10 horas da manhã. Ajuste na quantidade de suplemento fornecido foi feito no fim do período de adaptação e a cada período experimental.

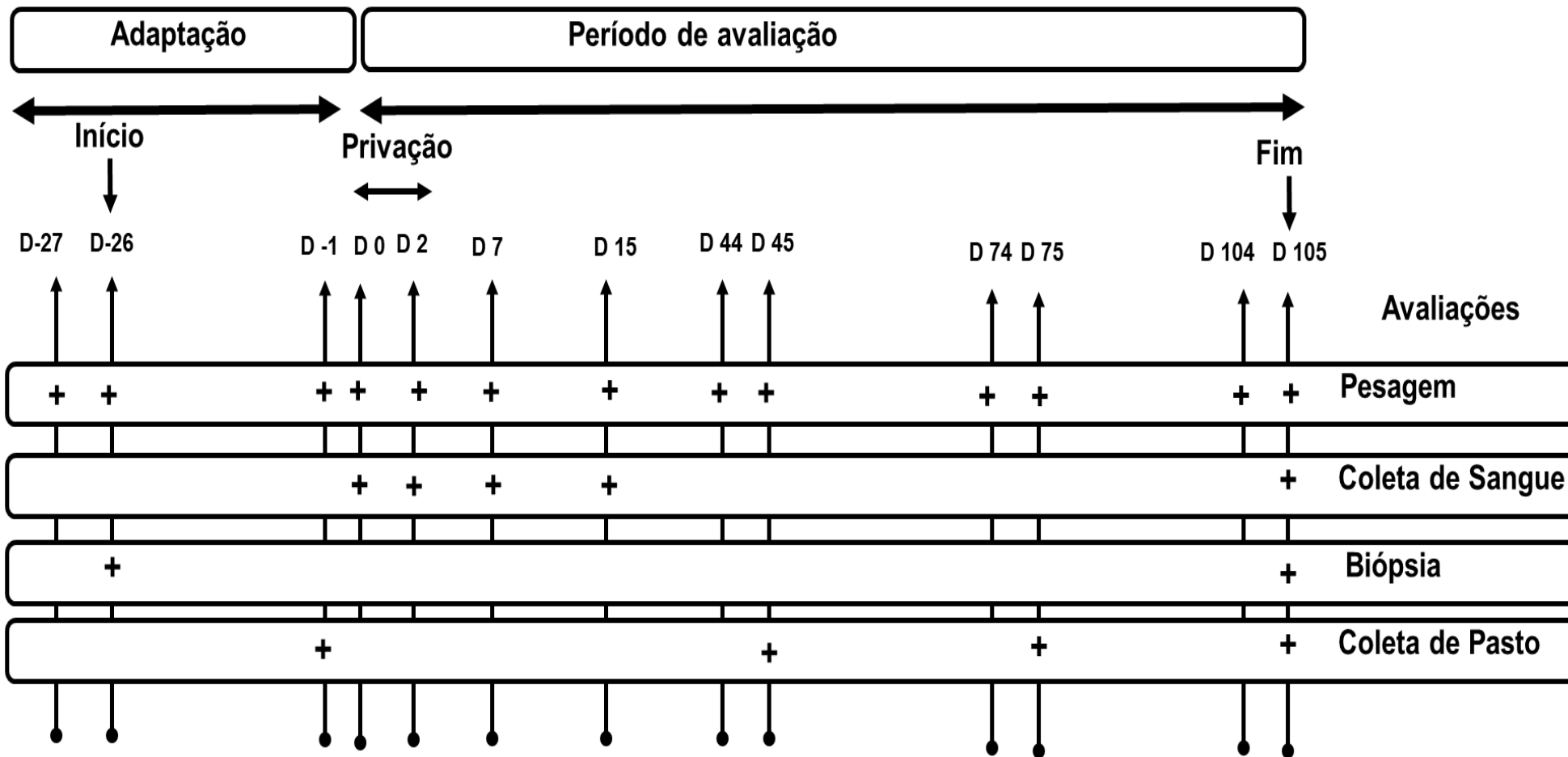
2.4.3. Período experimental e aplicação dos tratamentos

O período experimental teve duração de 131 dias e foi dividido em período de adaptação a área experimental (d -26 ao d -22) e dieta (d -21 a d -1) e período de

avaliação (d 0 ao d 105) (figura 2). No d -26 os animais foram selecionados e destinados as suas unidades experimentais com os tratamentos pré estabelecidos. Em d -21 foi aplicado o tratamento referente às fontes de minerais e no d 0 os animais destinados à privação foram mantidos em currais por 48 horas sem acesso a qualquer tipo de alimento e água. Ao mesmo tempo, os animais não privados, foram mantidos na área experimental com acesso regular a água, pasto e suplemento proteico. Após a conclusão do período de privação (na manhã do dia 2), os animais foram alocados em seus respectivos piquetes com acesso a água, pasto e suplemento com os mesmos tratamentos pré-estabelecidos em d -26.

2.4.4. Avaliações experimentais

Desempenho animal: O peso corporal individual foi registrado e calculado 2 dias consecutivos no início do experimento (d -27 e d -26), antes da aplicação da privação (d -1 e d 0), em d 44 e d 45, d 74 e d 75 e em d 104 e d 105. O PC individual também foi coletado em d 2 (imediatamente após a privação), d 7 e d 15. O PC perdido foi expressado como a mudança percentual do peso corporal médio registrado em d -1 e d 0 em relação ao PC registrado em d 2. Todas as pesagens foram realizadas sem jejum, sempre às 7 horas da manhã (figura 3). O GMD foi calculado com base nas pesagens dos dias -27 e -26, -1 e 0, 2, 15, 44 e 45, 74 e 75 e 104 e 105.



OBS: o sinal positivo (+) indica o momento em que determinada avaliação será realizada.

Figura 3: Pontos de coleta do peso corporal, amostras de sangue, biópsia de fígado e pasto.

Amostras de sangue: Foram selecionados dois animais/piquete que apresentavam peso corporal similar a média do piquete. O sangue foi coletado por punção venosa jugular em dois tubos de 10 ml, sem heparina-lítio, sempre antes da suplementação, nos dias 0 (imediatamente antes da privação), 2 (imediatamente no fim da privação), 7, 15 e 105 (figura 3). Todas as amostras de sangue foram colocadas imediatamente em caixas contendo gelo, centrifugadas (2500 x g por 30 minutos a 4°C) para coleta do soro, e armazenado em ultrafreezer a - 80 °C no mesmo dia da coleta.

Foram analisadas as concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (AGNE), glicose, proteína total, ureia, albumina e aspartato amino transferase (AST). As concentrações séricas de AGNE foram determinadas usando um kit comercial colorimétrico (HR Série NEFA - 2; Wako Pure Chemical Industries Ltd. EUA, Richmond, VA) com as modificações descritas por Pescara et al. (2010). Ureia, glicose, albumina e proteínas totais foram analisadas utilizando kits bioquímico comercial (Bioclin; Quibasa - Química Básica Ltda, Belo Horizonte, MG, Brasil) e o analisador bioquímico (Cobas Mira Plus; Roche Diagnostic Sysms) e AST foi analisado utilizando o kit (Bioclin; Quibasa - Química Básica Ltda, Belo Horizonte, MG, Brasil).

Biópsia de fígado: A biópsia de fígado foi realizada nos dias -26 e 105 do período experimental nos mesmos animais destinados à coleta de sangue (figura 3). As amostras foram coletadas através de agulha de biópsia, por acesso percutâneo e transtorácico (BRAGA et al., 2009), após anestesia local com 5 ml de lidocaína e incisão entre a 11ª e 12ª costelas. As amostras de fígado foram colocadas em criotubos, imediatamente congeladas e armazenadas em nitrogênio líquido até o processamento e, posteriormente determinado as concentrações de Cu e Zn.

Massa de forragem: Para determinação da massa de forragem foi utilizado o método da dupla amostragem (SOLLENBERGER e CHERNEY, 1995), onde a massa foi associada às leituras de altura do dossel (50 pontos de altura normal e comprimida) pelo uso do prato ascendente (rising plate meter). Em cada piquete foram selecionados três pontos de altura mínima, média e alta (determinados em função de 2 desvios padrões). Uma amostra de forragem de 0,25 m² de cada ponto selecionado foi coletada ao nível do solo e posteriormente uma subamostra foi seca em estufa a

55°C por 72 horas para determinação da matéria seca parcial (MS). Foi realizada uma equação de regressão linear, através dos dados de massa e suas respectivas alturas, onde foi estabelecida uma relação entre a altura do dossel e a massa de forragem, da seguinte forma: $MF \text{ (kg/há)} = a + b \times h \text{ (cm)}$; onde: MF = massa de forragem em kg/ha de matéria seca, h = altura do dossel em cm, a = intercepto da regressão e b = coeficiente angular da regressão.

Composição morfológica do pasto: A avaliação dos componentes morfológicos do dossel forrageiro foi realizada através de amostras colhidas na altura média de cada piquete, conforme descrito acima. As amostras foram separadas manualmente em: folha morta, colmo morto, colmo verde (bainha foliar e colmo) e folha verde. Após separação, os componentes foram pesados e parcialmente secos em estufa de 55°C por 72 horas para a obtenção da matéria seca e proporção de cada componente no dossel forrageiro.

Determinação do valor nutritivo da forragem: O pastejo simulado foi utilizado para representação da fração consumida pelos animais. As amostras foram coletadas pelo método "hand-plucking" (DE VRIES, 1995) e parcialmente secas em estufa de circulação de ar, a 55°C, por 72 horas e posteriormente moídas em peneira de malha com crivo de 1 mm. Foram determinados os teores de matéria seca (método 934.01), material mineral (método 942.05) extrato etéreo (método 920.39) e proteína bruta (método 978.04) de acordo com a AOAC (1995). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados conforme a metodologia sequencial descrita por ROBERTSON e VAN SOEST (1981).

Tabela 2: Características quantitativas e qualitativas da *Urochloa brizantha* cv Marandu durante os períodos experimentais.

Item	¹ Experimento 1			² Experimento 2			
	d 3 a 5	d 11 a 13	d 33 a 34	d -26 a -1	d 0 a 45	d 46 a 75	d 76 a 105
Altura, cm	-	-	-	36,7	35,6	30	29
Massa, kg/ha	-	-	-	5964	5596	3567	5343
Massa de folhas verdes, kg/ha	-	-	-	110	0	1027	2336
Massa de folhas verdes e senescente, kg/ha	-	-	-	1387	1240	1140	2413
Densidade, kg MS/m ³	-	-	-	1,63	1,70	1,11	2,08
Oferta de forragem, Kg MS/Kg PC	-	-	-	11,9	10,6	6,93	9,46
Oferta de folhas verdes e mortas, kg MS/Kg PC	-	-	-	2,81	2,36	2,25	4,34
Taxa de lotação (AU/ha)	-	-	-	1,13	1,19	1,15	1,29
g/kg de MS							
Folha verde	-	-	-	20	0	295	438
Colmo verde	-	-	-	55	0	77	194
Folha morta	317	329	316	214	222	30	14
Colmo morto	683	671	684	710	778	598	354
g/kg de MS							
Matéria seca	933	932	934	837	845	296	284
Proteína bruta	29,8	34,4	30,9	50,7	50,2	82,6	93,7
FDN	779	751	757	757	750	700	699
FDA	475	462	469	411	402	364	339
EE	13,6	16,1	13,8	11,1	11,4	11,6	11,5
MM	44,9	48,2	47,5	66,8	65,5	65,2	64,1
CNF	133	150	151	114	122	140	132
mg/kg MS							
Cu	3,91	3,99	3,77	2,73	2,19	4,48	5,04
Zn	13,0	14,6	15,2	17,9	17,7	18,2	19,4

¹Feno colhido durante o período seco; ² amostras de pastejo simulado.

2.5. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas usando o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC, EUA). Todos os dados foram submetidos ao teste Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos resíduos e remoção dos outliers. As variáveis foram comparadas entre os tratamentos pela ANOVA usando um delineamento em blocos casualizados em um arranjo fatorial 2 x 2 (fonte de mineral x privação), considerando o animal (experimento 1) e piquete (experimento 2) como unidade experimental.

Experimento 1: A declaração do modelo para os parâmetros ruminais mensurados durante a privação continha o efeito da fonte de mineral, privação, horário bem como suas interações. Para o restante das variáveis, o modelo continha o efeito da fonte de mineral, privação, período, bem como suas interações. O bloco foi incluído como efeito aleatório. Os parâmetros ruminais mensurados nos horários 0, 6, 12 e 18 horas pós alimentação, nos dias -23, -2, 7, 15 e 36, foram apresentados como a média entre os valores obtidos em cada horário, para representar o dia de coleta. Todas as variáveis foram analisadas como medida repetida no tempo utilizando o REPEATED do SAS (SAS Institute, Inc. Cary, NC). Os parâmetros ruminais mensurados ao longo da privação e durante o período experimental foram analisados usando os valores obtidos no dia -23 como covariável independente.

Experimento 2: A declaração do modelo para desempenho e metabólitos sanguíneos, continha o efeito da fonte de mineral, privação, dia bem como suas interações. Para concentração Cu e Zn no fígado, foi declarado o efeito da fonte de mineral, privação e suas interações. O bloco foi incluído como efeito aleatório. As variáveis de desempenho e metabólitos sanguíneos foram analisados como medida repetida no tempo utilizando o REPEATED do SAS (SAS Institute, Inc. Cary, NC). A concentração de Cu e Zn no fígado mensurados ao final do experimento foram analisados usando os valores obtidos no dia -26 como covariável independente.

As matrizes para cada variável foram selecionadas com base no menor critério de BIC (Bayesian information criterion). Todos os resultados foram relatados como médias de mínimos quadrados e separados usando PDIFF. A significância foi estabelecida em $P \leq 0,05$ e as tendências foi declarada em $0,05 < P \leq 0,10$.

3. RESULTADOS

3.1. *Experimento 1*

Consumo, digestibilidade, metabolismo do nitrogênio e eficiência microbiana

Nenhuma interação foi detectada entre os fatores estudados sobre as variáveis relacionadas ao consumo ($P > 0,10$; Tabela 3), mas um efeito da fonte de minerais foi detectado ($P < 0,075$). HDX apresentou aumento de 9,8% no CF ($P=0,052$), CMS 9,3% maior ($P = 0,066$) e aumento de 11,3% no CMS% ($P = 0,050$) comparado a ING. No entanto, o CS ($P = 0,550$), assim como o consumo de PB (0,756) não foram afetados pelos fatores estudados. Em razão do maior CMS, HDX proporcionou um aumento de 9,9% no consumo de MO, 10,1% consumo de FDN e 10,3% no consumo de FDA. Nenhum efeito da privação foi detectado sobre as variáveis relacionadas ao consumo dos animais ($P = 0,324$).

Interação privação \times período foi detectada para digestibilidade dos nutrientes ($P < 0,05$; tabela 3). CPRIV apresentou maior digestibilidade da MS, MO, FDN e FDA logo após o período de privação (dias 3 a 5; Figura 3). No entanto, CPRIV reduziu a digestibilidade em períodos mais prolongados, como da MS 11 a 13 e 32 a 34, da MO no período de 11 a 13, e das frações fibrosas no período de 32 a 34. Tendência da fonte de mineral sobre a DFDN ($P = 0,099$; figura 4) foi verificada, HDX melhorou a DFDN em 1,6 pontos percentuais. Houve uma interação entre privação \times período para excreção fecal ($P < 0,05$; Tabela 3). A excreção fecal foi maior nos dias 3 a 5 em CPRIV, e nos períodos seguintes as diferenças tornaram-se inexistente (Figura 5).

Tabela 3: Consumo e digestibilidade de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxilado ou inorgânico.

Variáveis	SPRIV		CPRIV		EPM	P-Valor						
	ING	HDX	ING	HDX		M	P	M x P	Per	M x Per	P x Per	M x P x Per
Consumo MS, Kg/dia												
Forragem (CF)	4,81	5,44	5,04	5,38	0,49	0,052	0,712	0,525	0,011	0,434	0,323	0,324
Suplemento (CS)	0,57	0,57	0,53	0,58	0,07	0,546	0,775	0,594	0,250	0,960	0,800	0,550
Total (CMS)	5,38	6,01	5,58	5,96	0,54	0,066	0,776	0,627	0,004	0,421	0,265	0,397
%PC (CMS%)	1,56	1,80	1,72	1,85	0,19	0,050	0,294	0,330	0,009	0,644	0,639	0,663
Consumo nutrientes, Kg/dia												
MO	4,87	5,49	5,07	5,44	0,50	0,053	0,745	0,607	0,006	0,426	0,292	0,353
PB	0,50	0,50	0,48	0,49	0,04	0,870	0,830	0,904	0,012	0,953	0,600	0,756
FDN	3,71	4,20	3,89	4,17	0,35	0,075	0,709	0,603	0,003	0,551	0,280	0,414
FDA	2,28	2,59	2,38	2,55	0,23	0,051	0,697	0,509	0,004	0,447	0,287	0,355
Coeficiente de digestibilidade, g/Kg MS												
MS	549	559	551	564	12,3	0,362	0,815	0,914	0,078	0,431	0,006	0,664
MO	561	570	562	576	11,1	0,475	0,857	0,892	0,074	0,306	0,008	0,641
PB	707	701	708	696	25,7	0,610	0,897	0,848	0,003	0,383	0,165	0,290
FDN	594	615	601	613	9,02	0,099	0,770	0,642	0,022	0,459	0,024	0,261
FDA	614	639	619	628	9,44	0,222	0,859	0,540	0,005	0,288	0,021	0,338
Excreção fecal, kg/dia	2,42	2,63	2,49	2,59	0,21	0,301	0,846	0,680	0,001	0,913	0,027	0,647

SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas; ING: fonte inorgânica de Cu e Zn; HDX: fonte hidroxilada de Cu e Zn; EPM: erro padrão da média; M: efeito a fonte de mineral; P: efeito da privação; Per: efeito do período experimental; M x P: interação entre fonte de mineral e privação; M x Per: interação entre fonte de mineral e período experimental; P x Per: Interação entre privação e período experimental; M x P x Per: Interação entre fonte de mineral, privação e período experimental.

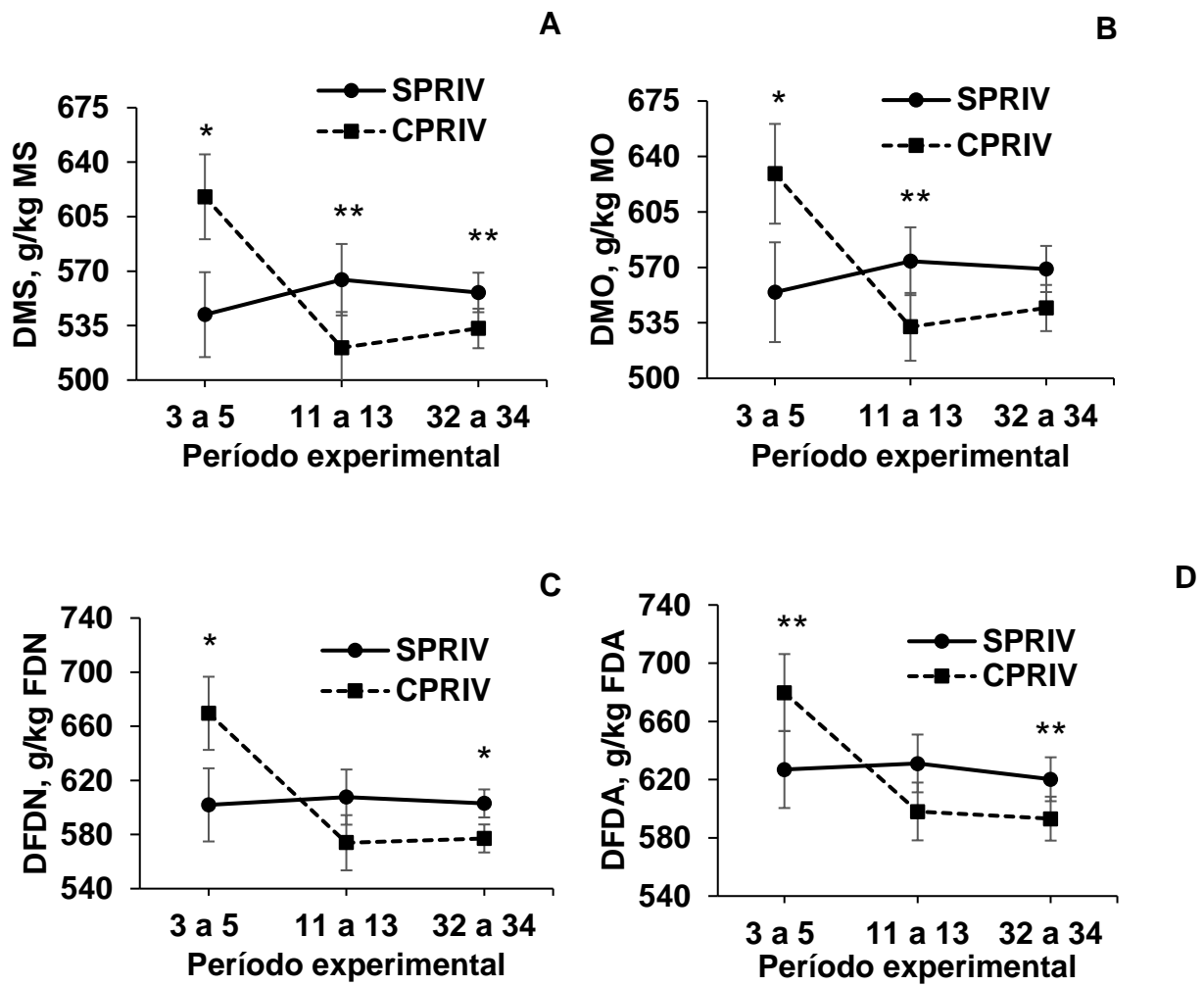


Figura 3: Digestibilidade da MS (DMS; A), MO (DMO; B), FDN (DFDN; C) e FDA (DFDA; D) de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxí ou inorgânico. * $P \leq 0,05$; ** $0,05 < P \leq 0,10$. SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas;

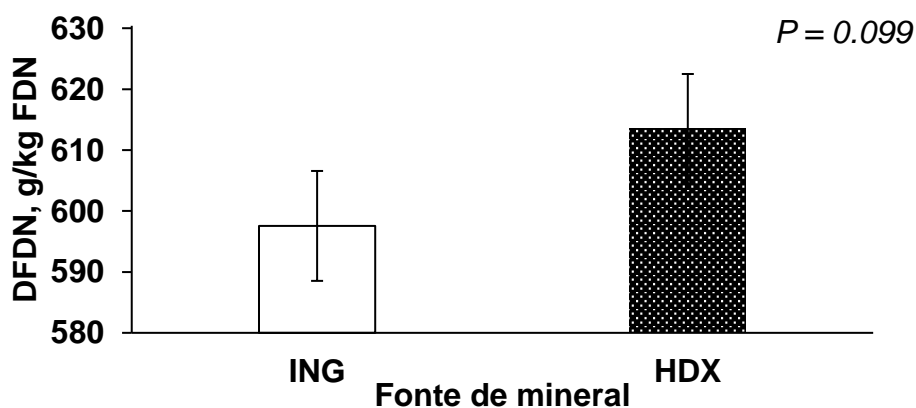


Figura 4: Digestibilidade de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxí ou inorgânico.

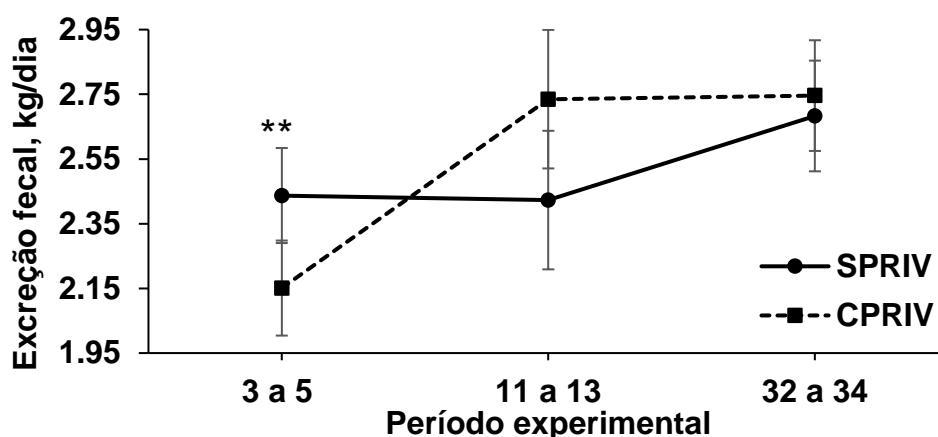


Figura 5: Digestibilidade de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxí ou inorgânico. SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas.

Tendência de interação entre privação x período foi observada para relação PB:MOD ($P = 0,054$; Tabela 4). Menor relação PB:MOD foi obtida em CPRIV nos dias 3 a 5, posteriormente os valores foram similares entre os tratamentos (Figura 6). Efeito da fonte de mineral sobre a relação PB:MOD também foi detectado ($P = 0,005$), ING apresentou maior relação PB:MOD. Tanto as variáveis relacionadas a utilização do nitrogênio quanto as relacionadas à eficiência microbiana (Tabela 4) não foram impactadas pelos fatores estudados ($P > 0,10$).

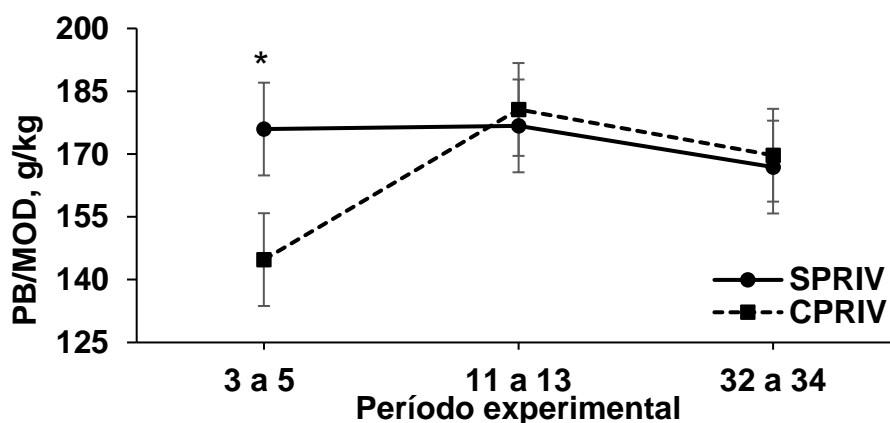


Figura 6: Relação PB/MOD de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxí ou inorgânico. * $p \leq 0,05$; ** $0,05 < P \leq 0,10$. SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas.

Tabela 4: Relação PB/MOD, metabolismo do nitrogênio e eficiência microbiana de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxilado ou inorgânico.

Variáveis	SPRIV		CPRIV		EPM	P-Valor						
	ING	HDX	ING	HDX		M	P	M x P	Per	M x Per	P x Per	M x P x Per
PB/MOD (g/kg)	187	160	172	158	6,10	0,005	0,239	0,325	0,041	0,710	0,054	0,767
Utilização do N												
N consumido (g/dia)	79	79	77	79	6,68	0,874	0,834	0,902	0,013	0,953	0,601	0,757
N Urina (g/dia)	31,5	30,4	30,3	29,7	2,47	0,566	0,489	0,844	0,142	0,622	0,995	0,397
N Fezes (g/dia)	22,8	23,0	22,3	23,6	1,53	0,669	0,990	0,737	0,001	0,583	0,115	0,599
N retido (g/dia)	24,9	26,1	24,9	25,7	4,68	0,808	0,960	0,960	0,021	0,560	0,385	0,144
N retido (% do consumido)	28,8	31,1	31,4	31,8	2,93	0,660	0,570	0,756	0,104	0,413	0,399	0,115
Eficiência microbiana												
Pmic (g/dia)	108	148	77	121	24,8	0,247	0,417	0,955	0,542	0,894	0,249	0,536
ESPMic (g PMic /kg MOD)	38,3	45,9	27,6	38,2	6,96	0,364	0,359	0,884	0,535	0,913	0,648	0,506

SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas; ING: fonte inorgânica de Cu e Zn; HDX: fonte hidroxilada de Cu e Zn; EPM: erro padrão da média; M: efeito a fonte de mineral; P: efeito da privação; Per: efeito do período experimental; M x P: interação entre fonte de mineral e privação; M x Per: interação entre fonte de mineral e período experimental; P x Per: Interação entre privação e período experimental; M x P x Per: Interação entre fonte de mineral, privação e período experimental. PB/MOD: relação proteína bruta:matéria orgânica digestível; Pmic: proteína microbiana; ESPMic: eficiência de síntese de proteína microbiana.

Parâmetros Ruminais

Efeito da fonte de mineral foi detectado na proporção molar de acetato ($P = 0,027$). ING apresentou maior acetato ruminal (Tabela 5). A proporção molar de propionato, isobutirato e valerato não foram afetadas pelos tratamentos ($P > 0,10$; Tabela 5), mas tendência de interação entre privação \times período foi detectada no butirato ($P = 0,065$) e isovalerato ($P = 0,057$) e efeito no AGV total ($P = 0,004$). Houve declínio na proporção molar de butirato no dia 7 em CPRIV, enquanto nos dias 15 e 36 não houveram diferenças entre os tratamentos (Figura 7). A proporção molar de isovalerato (Figura 7) e concentração de AGV total (Figura 8) apresentaram declínio no dia 7 em SPRIV, enquanto em CPRIV os valores se mantiveram mais estáveis, e nos dias 15 e 36 as diferenças entre os tratamentos deixaram de existir. A relação Ac:Pr assim como o nitrogênio amoniacal não foram afetados pelos tratamentos ($P > 0,10$). Tendência foi detectada para pH ruminal ($P = 0,09$), onde CPRIV apresentou menor pH ruminal.

Tabela 5: Parâmetros ruminais de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxilado ou inorgânico.

Variáveis	SPRIV		CPRIV		EPM	P-Valor						
	ING	HDX	ING	HDX		M	P	M x P	Per	M x Per	P x Per	M x P x Per
AGV Total, mMol/dL	65,22	70,59	73,69	72,23	4,72	0,653	0,258	0,438	0,151	0,813	0,004	0,930
Ácidos graxos voláteis, mMol/100mMol												
Acetato	74,67	73,86	75,25	74,31	0,34	0,027	0,155	0,863	<0,001	0,438	0,777	0,101
Propionato	17,22	17,65	17,40	17,44	0,29	0,404	0,949	0,506	0,009	0,562	0,195	0,476
Isobutirato	0,66	0,57	0,56	0,57	0,03	0,285	0,117	0,140	0,012	0,998	0,885	0,399
Butirato	6,20	6,25	6,07	6,28	0,12	0,248	0,616	0,467	0,035	0,750	0,057	0,961
Isovalerato	0,74	0,64	0,70	0,73	0,05	0,502	0,658	0,205	<0,001	0,719	0,065	0,241
Valerato	0,50	0,69	0,46	0,58	0,10	0,150	0,490	0,733	0,483	0,517	0,541	0,539
Ac:Pr	4,35	4,20	4,33	4,29	0,08	0,262	0,696	0,515	0,009	0,547	0,222	0,516
Amônia	10,67	9,69	8,52	10,45	1,62	0,770	0,655	0,349	<0,001	0,794	0,523	0,843
pH	7,12	7,09	6,93	6,94	0,09	0,925	0,090	0,802	<0,001	0,574	0,241	0,932

SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas; ING: fonte inorgânica de Cu e Zn; HDX: fonte hidroxilada de Cu e Zn; EPM: erro padrão da média; M: efeito a fonte de mineral; P: efeito da privação; Per: efeito do período experimental; M x P: interação entre fonte de mineral e privação; M x Per: interação entre fonte de mineral e período experimental; P x Per: Interação entre privação e período experimental; M x P x Per: Interação entre fonte de mineral, privação e período experimental.

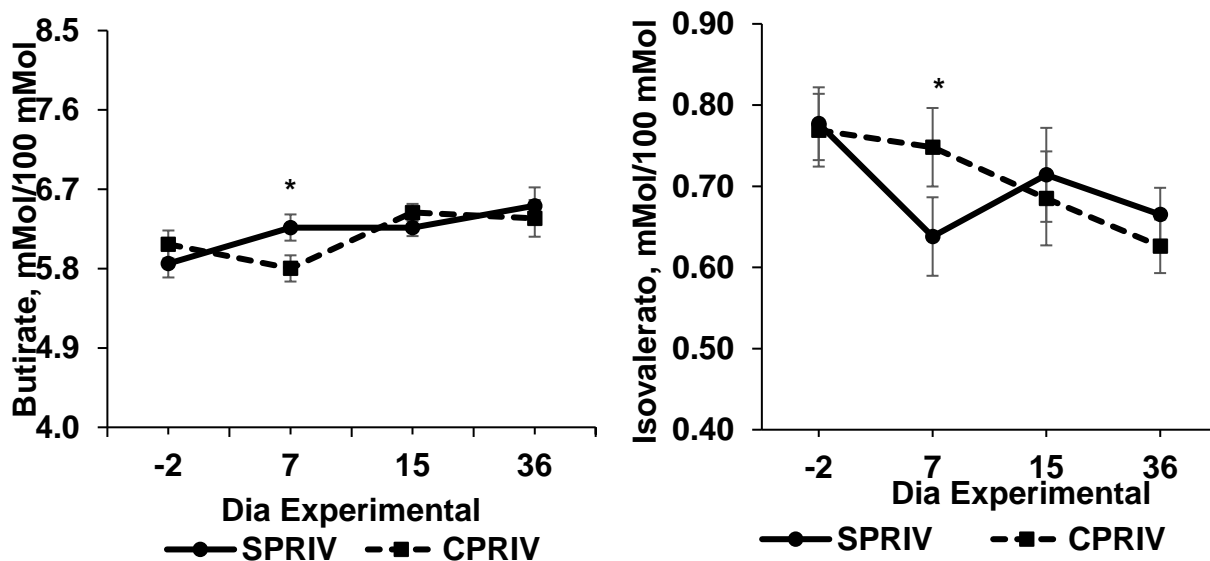


Figura 7: Proporção molar de Butirato e Isovalerato no rúmem de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxí ou inorgânico. * $P \leq 0,05$; *** $0,05 < P \leq 0,10$. SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas.

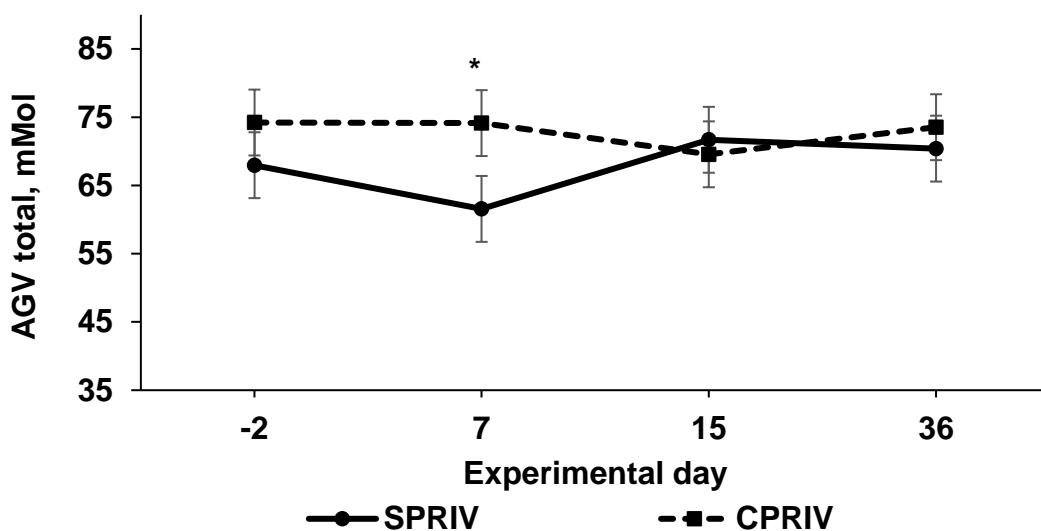


Figura 8: Concentração de AGV no rúmem de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxí ou inorgânico. * $P \leq 0,05$; *** $0,05 < P \leq 0,10$. SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas.

Parâmetros ruminais durante o período de privação

Os parâmetros ruminais foram mensurados durante as 48 horas de privação (Tabela 6). Interação entre privação x horário foi detectada ($P < 0,05$) para todos os parâmetros ruminais, exceto para valerato, no qual houve tendência ($P = 0,055$). A concentração de AGV ruminal reduziu de 62,3 para 20,1 mMol/dL durante as 48 horas de privação em CPRIV, e se manteve estável em SPRIV ($P < 0,001$; Figura 11A). Durante 12 e 24 horas de privação, CPRIV apresentou maior proporção de acetato ruminal e nos horários 36 e 48 os valores se mantiveram semelhantes a SPRIV ($P = 0,002$; Figura 9A). Tanto o propionato quanto o butirato ruminal reduziram durante o período de privação em CPRIV ($P < 0,001$; Figura 9B e C), o que representou uma redução de 26,9% e 44,8%, respectivamente. Por outro lado, ao final das 48 horas de privação, foi observado aumento de 262,5% e 254,5% na proporção de isobutirato e isobalerato em CPRIV ($P < 0,001$; Figura 10A e B). A proporção de valerato foi aumentada somente com 36 e 48 horas de exposição á privação em CPRIV ($P = 0,055$; Figura 10C).

A concentração de nitrogênio amoniacal foi maior em 12 horas e menor em 24 horas após o início da privação em SPRIV e, nos horários 0, 36 e 48 as concentrações foram similares entre os tratamentos ($P < 0,001$; Figura 11B). De maneira geral, CPRIV manteve a concentração de amônia estável durante as 48 horas de privação. O pH ruminal aumentou de 7,3 para 8,2 em CPRIV ($P < 0,001$; Figura 11C).

Tabela 6: Parâmetros ruminais durante o período de privação, de novilhos Nelore submetidos ou a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxilado ou inorgânico.

Variáveis	SPRIV		CPRIV		EPM	P-Valor						
	ING	HDX	ING	HDX		M	P	M x P	H	M x H	P x H	M x P x Per
Ácidos graxos voláteis, mMol/100mMol												
Acetato	74,0	75,1	76,3	76,5	0,50	0,231	<0,001	0,431	0,048	0,534	0,002	0,200
Propionato	17,7	17,3	14,7	13,3	0,64	0,170	<0,001	0,419	<0,001	0,153	<0,001	0,172
Butirato	6,11	5,89	4,27	4,32	0,17	0,597	<0,001	0,427	<0,001	0,977	<0,001	0,636
Isobutirato	0,69	0,70	1,48	1,81	0,17	0,338	<0,001	0,374	<0,001	0,271	<0,001	0,229
Isovalerato	0,85	0,75	1,91	2,43	0,28	0,477	<0,001	0,312	<0,001	0,495	<0,001	0,483
Valerato	0,76	0,62	1,02	1,39	0,34	0,736	0,169	0,449	<0,001	0,990	0,055	0,602
AGV Total, mMol/dL	68,7	61,6	42,6	41,8	2,95	0,181	<0,001	0,289	<0,001	0,625	<0,001	0,464
N-NH ₃ , mg/dL	8,06	7,61	7,49	6,89	1,31	0,617	0,541	0,945	0,011	0,109	<0,001	0,565
pH	7,4	7,5	7,9	7,8	0,05	0,709	0,001	0,329	<0,001	0,680	<0,001	0,345

SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas; ING: fonte inorgânica de Cu e Zn; HDX: fonte hidroxilada de Cu e Zn; EPM: erro padrão da média; M: efeito a fonte de mineral; P: efeito da privação; H: horas de privação; M x P: interação entre fonte de mineral e privação; M x H: interação entre fonte de mineral e horas de privação; P x H: Interação entre privação e horas de privação; M x P x H: Interação entre fonte de mineral, privação e horas de privação.

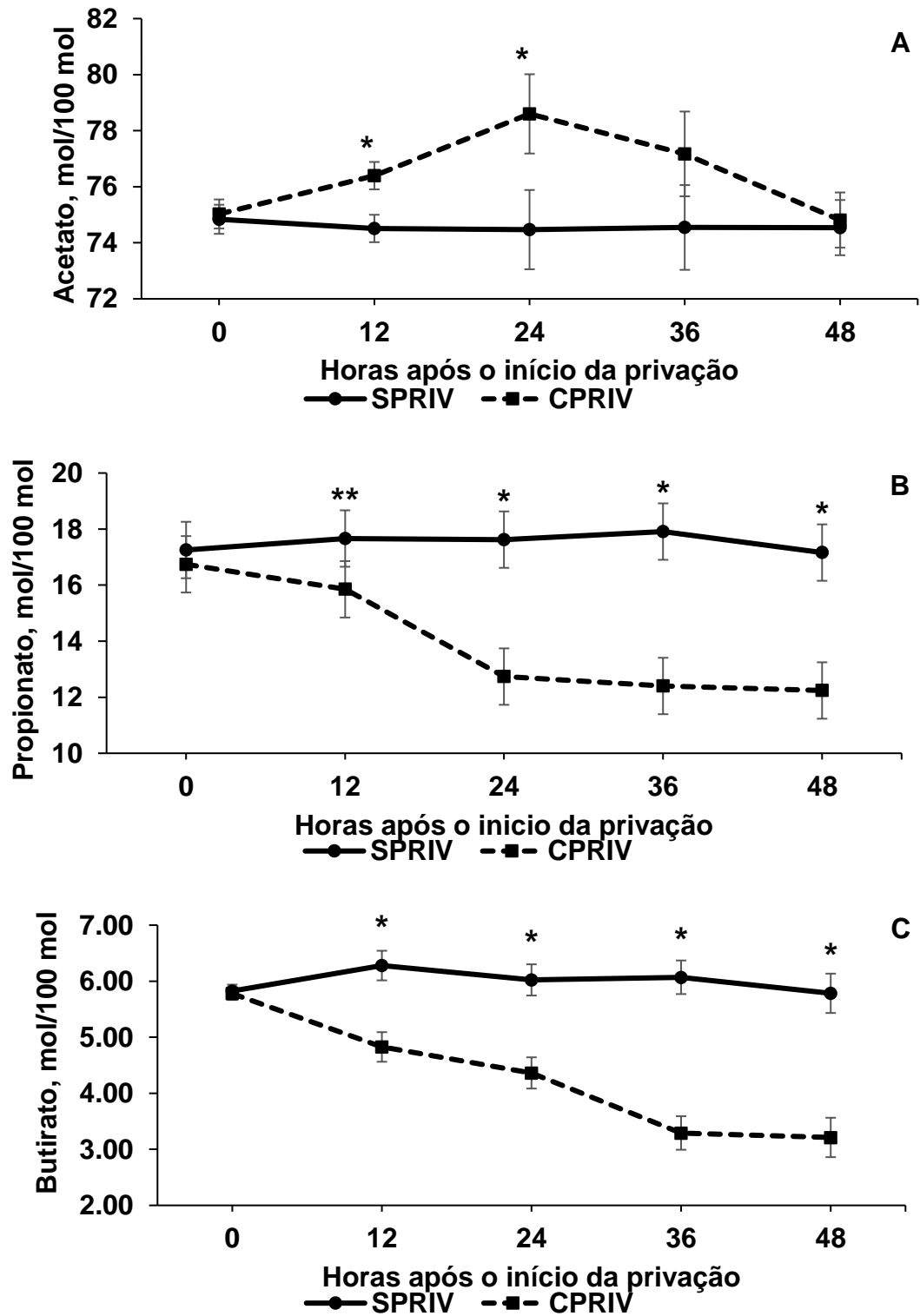


Figura 9: Proporção molar de acetato (A), propionato (B) e butirato (C) durante a privação, de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidróxi ou inorgânico. * $P \leq 0,05$; ** $0,05 < P \leq 0,10$. SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas;

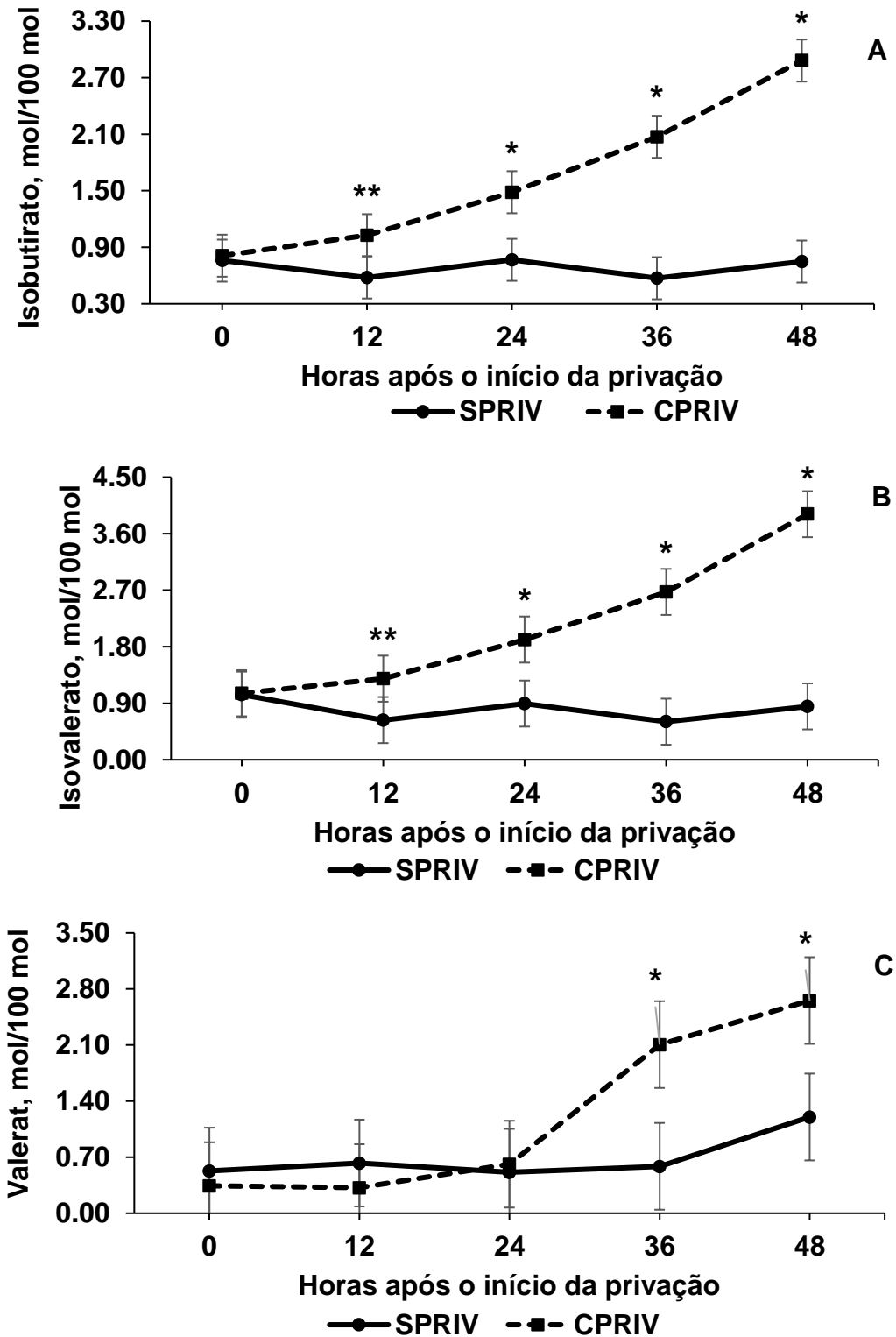


Figura 10: Proporção molar de Isobutirato (A), Isovalerato (B) e valerato (C) durante o período de privação, de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidróxi ou inorgânico. * $P \leq 0,05$; ** $0,05 < P \leq 0,10$. SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas.

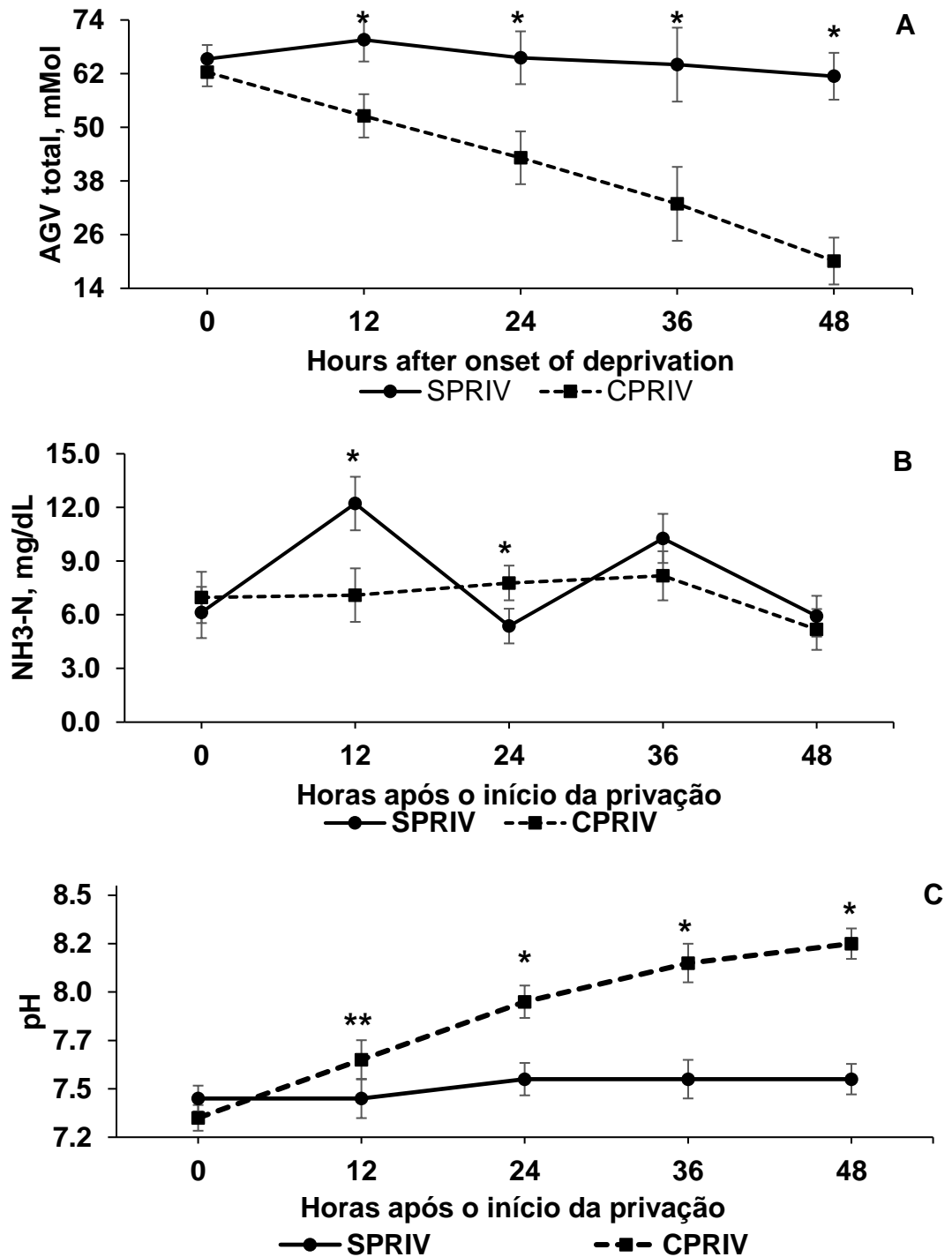


Figura 11: Concentração de AGV (A), Nitrogênio amoniacal (B) e pH ruminal (C) durante o período de privação, de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidróxi ou inorgânico. * $P \leq 0,05$; ** $0,05 < P \leq 0,10$. SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas.

3.2. Experimento 2

Metabólitos sanguíneos

Interação entre privação × dia foi detectada na ureia ($P < 0,001$, figura 12A), AGNE ($P = 0,006$; figura 12D) e tendência na proteína total ($P = 0,055$, figura 12B) e AST ($P = 0,080$; figura 12C). Imediatamente após o período de privação (dia 2), essas variáveis foram maiores em CPRIV. Ureia e AGNE permaneceram mais elevados até o dia 7 em CPRIV, após esse período diferenças deixaram de existir entre os tratamentos.

Efeito da privação foi detectado na albumina ($P = 0,033$) e tendência na glicose ($P = 0,080$). A concentração de albumina e glicose foram 3,7% e 9,6% maiores em CPRIV. Interação entre mineral × dia foi observada para ureia ($P = 0,029$; Figura 13). De forma geral, HDX apresentou menor pico no dia 2 e seus valores se mantiveram inferiores nos dias 12 e 105.

Tabela 7: Metabólitos sanguíneos de novilhos Nelore submetidos ou não a privação e água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxilado ou inorgânico.

Variáveis	SPRIV		CPRIV		EPM	P-Valor						
	ING	HDX	ING	HDX		M	P	M x P	Dia	M x Dia	P x Dia	M x P x Dia
Ureia, mg/dL	23,0	20,9	29,8	26,1	1,31	0,007	<0,001	0,429	<0,001	0,029	<0,001	0,246
Albumina, g/dL	2,69	2,68	2,77	2,81	0,07	0,759	0,033	0,574	<0,001	0,479	0,413	0,197
Proteína total, g/dL	5,86	5,99	6,10	5,95	0,19	0,928	0,468	0,326	<0,001	0,166	0,055	0,487
AST, U/L	70,5	67,5	73,1	71,0	2,72	0,464	0,383	0,895	<0,001	0,336	0,080	0,205
Glicose, mg/dL	85,8	84,5	94,0	92,5	3,25	0,760	0,080	0,979	<0,001	0,519	0,241	0,527
AGNE, mmol/L	0,79	0,74	0,86	0,83	0,07	0,587	0,257	0,861	<0,001	0,988	0,006	0,587

SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas; ING: fonte inorgânica de Cu e Zn; HDX: fonte hidroxilada de Cu e Zn; EPM: erro padrão da média; M: efeito a fonte de mineral; P: efeito da privação; Dia: dia experimental; M x P: interação entre fonte de mineral e privação; M x Dia: interação entre fonte de mineral e horas de privação; P x Dia: Interação entre privação e dia experimental; M x P x Dia: Interação entre fonte de mineral, privação e dia experimental.

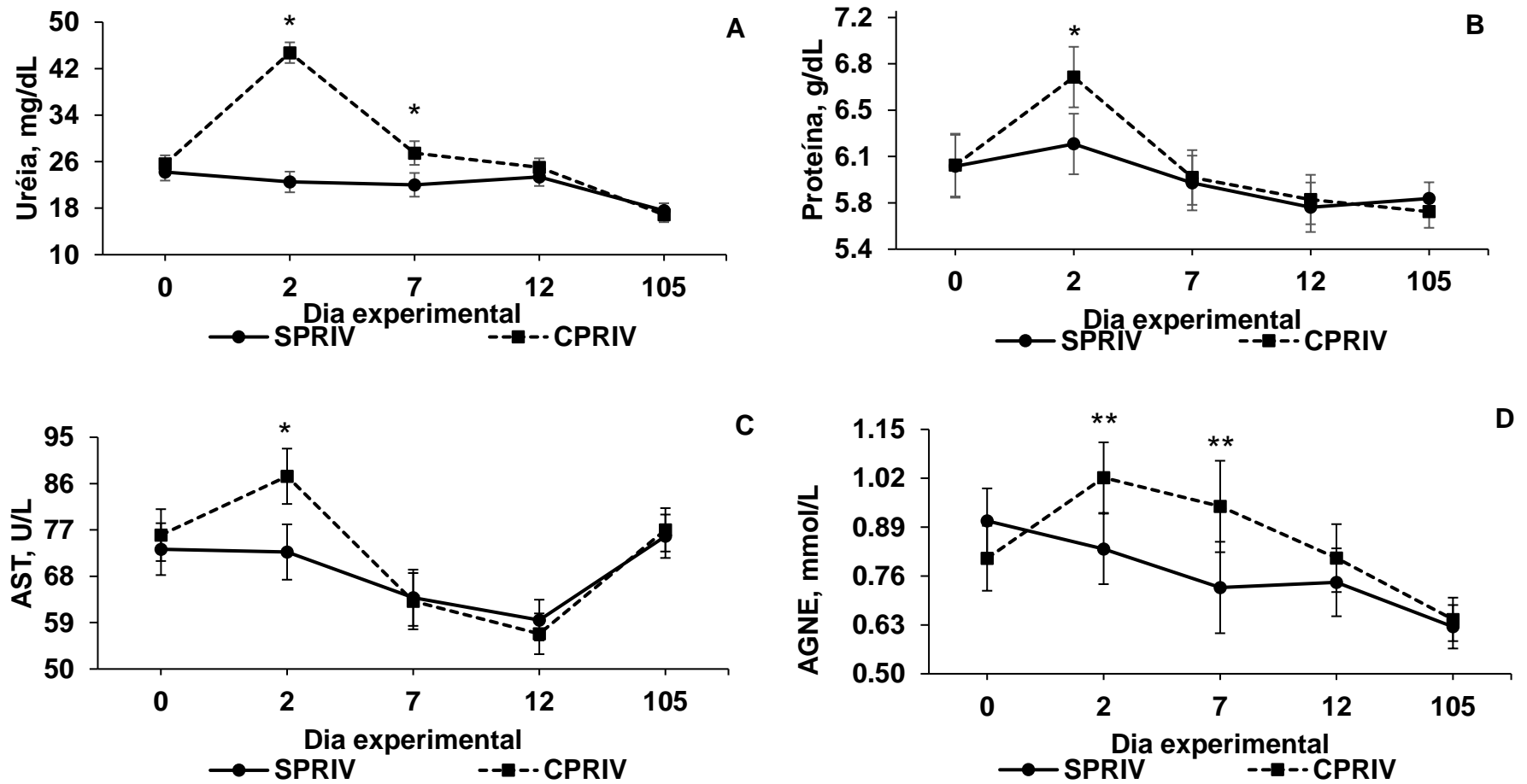


Figura 12: Concentração sérica de uréia (A), proteína total (B), aspartato aminotransferase (AST; C) e ácidos graxos não esterificados (AGNE; B) de novilhos Nelore submetidos ou não a privação e água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidróxi ou inorgânico. * $P \leq 0,05$; ** $0,05 < P \leq 0,10$. SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas.

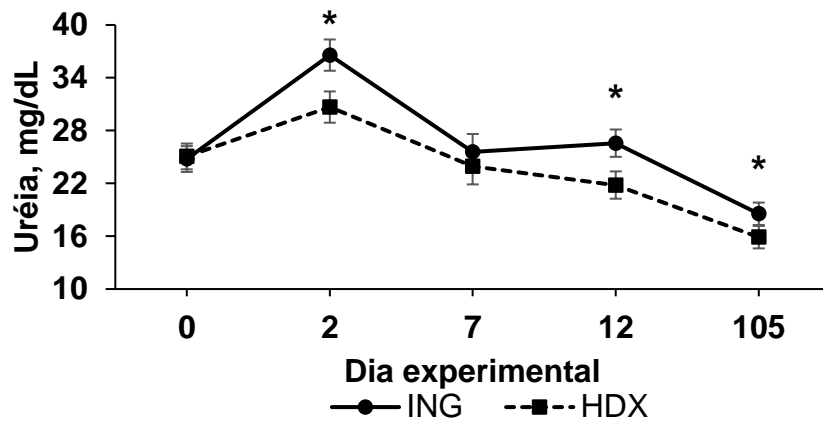


Figura 13: Concentração de sérica de uréia de novilhos Nelore submetidos ou não a privação e água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxí ou inorgânico. * $P \leq 0,05$; ** $0,05 < P \leq 0,10$.

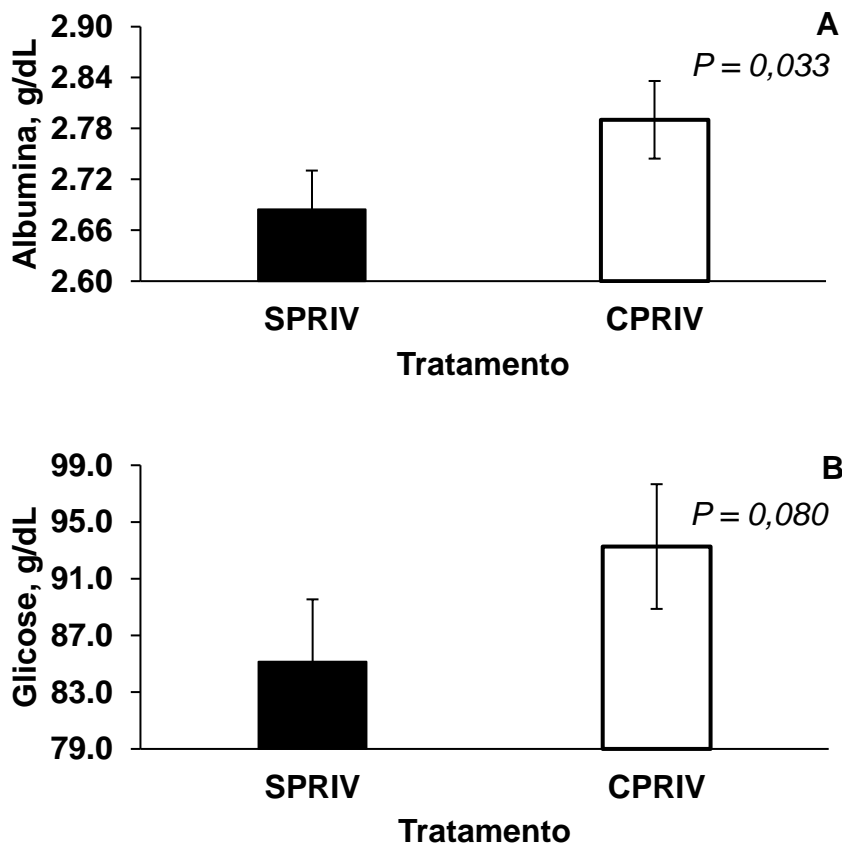


Figura 14: Concentração de sérica de albumina (A) e glicose (B) de novilhos Nelore submetidos ou não a privação e água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxí ou inorgânico. SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas.

Concentração de minerais Cu e Zn no fígado

Interação entre mineral x privação foi detectada ($P < 0,05$) para concentração de cobre no fígado, enquanto a concentração do Zinco não foi alterada ($P > 0,05$) pelos fatores estudados (Tabela 8). Maior concentração de Cu no fígado foi observada em SPRIV/HDX quando comparado aos demais tratamentos.

Tabela 8: Concentração de cobre e zinco no fígado de novilhos Nelore submetidos ou não a privação e água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxilado ou inorgânico.

Variável	SPRIV		CPRIV		EPM	P-valor		
	ING	HDX	ING	HDX		M	P	M x P
Fígado, mg/kg								
Cu	97,0	182,4	116,6	85,7	18,2	0,109	0,028	0,003
Zn	34,8	31,2	30,5	32,2	1,83	0,522	0,327	0,121

SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas; ING: fonte inorgânica de Cu e Zn; HDX: fonte hidroxilada de Cu e Zn; EPM: erro padrão da média; M: efeito a fonte de mineral; P: efeito da privação; M x E: interação entre M x P.

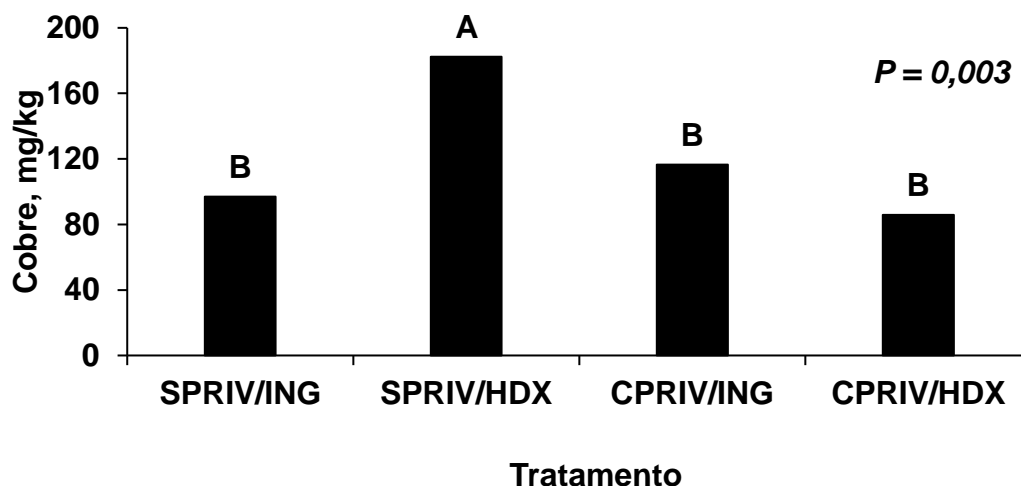


Figura 15: Concentração de cobre no fígado de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidroxilado ou inorgânico. SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas; ING: fonte inorgânica de Cu e Zn; HDX: fonte hidroxilada de Cu e Zn.

Desempenho animal

Foi detectado interação privação x dia ($P < 0,001$) para peso corporal e GMD (Tabela 9). CPRV apresentou redução de 12,7% (34,5 kg) no peso corporal no dia 2. Em razão do maior GMD nos primeiros dias de realimentação e reidratação (dia 2 a 12), CPRIV recuperou o peso perdido durante a privação e apresentou PC semelhante a SPRIV. A partir do dia 12 o GMD foi similar entre os tratamentos ($P > 0,10$; Figura 16B), mantendo a igualdade do PC.

Tabela 9: Desempenho e peso perdido de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidróxi ou inorgânico.

Variável	SPRIV		CPRIV		EPM	P-valor		
	ING	HDX	ING	HDX		M	P	M x P
Peso corporal, kg								
d -26	265	265	266	266	12,0	0,977	0,620	0,907
d 0	267	268	271	269				
d 2	263	264	237	234				
d 7	265	266	267	265				
d 15	271	271	274	271				
d 45	280	282	282	282				
d 75	274	273	273	276				
d 105	306	308	305	306				
Peso perdido ¹ , %	1,28	1,32	12,5	12,8	0,29	0,615	<0,001	0,715
Ganho médio diário, kg/dia								
d -26 a 0	0,079	0,100	0,191	0,125	0,03	0,774	<0,001	0,609
d 2 a 15	0,582	0,528	2,905	2,791				
d 15 a 45	0,297	0,379	0,261	0,366				
d 45 a 75	-0,204	-0,294	-0,304	-0,204				
d 75 a 105	1,052	1,206	1,041	0,984				

¹Percentual de peso corporal perdido entre em d0 e d2; SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas; ING: fonte inorgânica de Cu e Zn; HDX: fonte hidroxilada de Cu e Zn; EPM: erro padrão da média; M: efeito da fonte de mineral; P: efeito de privação. Dia $P < 0,001$, interação dia x privação $P < 0,001$, interação dia x mineral $P = 0,230$, dia x mineral x privação $P = 0,179$.

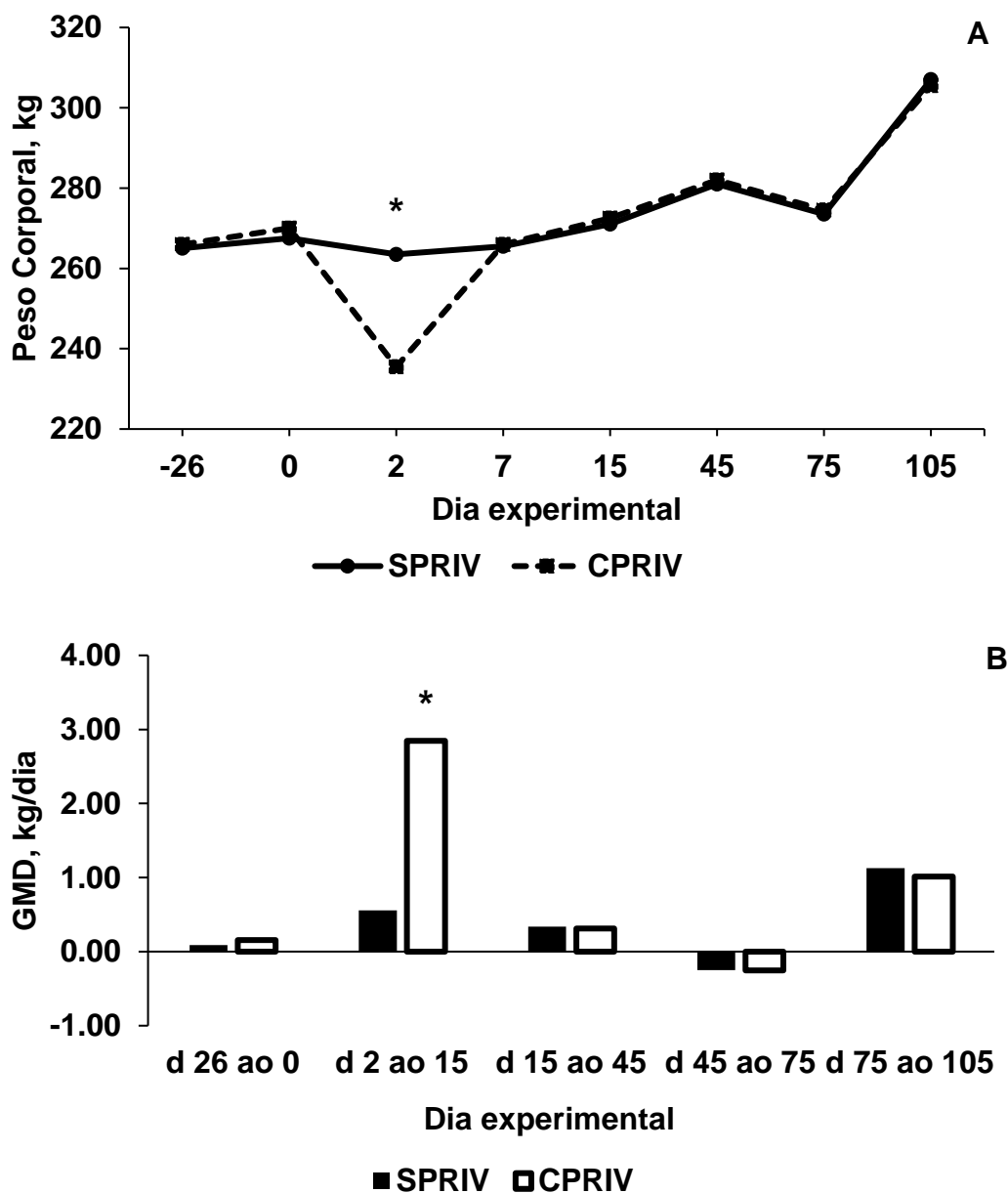


Figura16: Peso corporal (A) e ganho médio diário (B) de novilhos Nelore submetidos ou não a privação de água e alimento por 48 horas, recebendo suplemento proteico com fontes de Cu e Zn hidróxi ou inorgânico. * $P \leq 0,05$; ** $0,05 < P \leq 0,10$. SPRIV: animais com acesso regular a água e alimento; CPRIV: animais privados de água e alimento por 48 horas.

4. DISCUSSÃO

Procedimentos de gestão praticados na pecuária de corte permitem que os animais passem por eventos estressores como desmame e transporte (Carroll e Forsberg, 2007). Sob essas circunstâncias, é comum ocorrer privação de água e

alimento (Haley et al., 2005; Marques et al., 2012), ocasionando efeito prejudicial sobre a fermentação ruminal (Cole et al., 1986), podendo alterar a proporção dos ácidos graxos de cadeia curta no rúmem, que por sua vez é dependente do tempo de privação, tipo de dieta e quantidade de dieta fornecida (Cole e Hutcheson, 1985; Cole et al., 1986).

Neste sentido, Cole et al. (1986) ao realizar dois experimentos com tempos de privação diferentes durante o transporte ou em baias (Experimento 1: 13 horas e Experimento 2: 46 horas) combinado com o fornecimento de dieta a base de feno de alfafa ou dieta total com 50% de concentrado observaram que ao final do período de privação, independente da dieta, transporte e tempo que os animais ficaram em jejum, a concentração de AGV decresceu. No entanto, ao final das 13 horas de privação a proporção de acetato e propionato foram inalteradas, enquanto que a concentração de butirato decresceu e as de isobutirato, isovalerato e valerato aumentaram. Já no experimento 2, quando os autores submeteram os animais ao jejum de 46 horas, a proporção de acetato foi aumentada somente em animais que receberam dieta com 50% de concentrado ou nos animais que foram privados durante o transporte. Além disso, as proporções de propionato e butirato decresceram, enquanto as proporções de isobutirato, isovalerato e valerato aumentaram, independente dos fatores estudados. No presente estudo, como a dieta fornecida era a base de feno de *Brachiaria* spp. e os animais foram privados em baias por longo período (48 horas), o comportamento dos AGVs do rúmem foram semelhantes ao demonstrado (Figuras 8, 9 e 10).

Durante a privação pode ocorrer redução da população bacteriana do rúmem devido a falta de substratos para degradação e fermentação ruminal, resultando em queda na concentração de AGV e aumento do pH (Galyean et al., 1981). De fato, foi observado o mesmo comportamento de resposta para AGV e pH ruminal no presente estudo. A redução na população bacteriana vem acompanhada de queda na proporção de propionato e butirato e aumento acentuado de isobutirato, isovalerato e valerato. Esses últimos são produtos da fermentação de aminoácidos dietéticos (Allison e Bryant, 1963). Segundo Cole et al. (1985), o aumento na proporção desses ácidos no rúmem é devido a diminuição da síntese de proteína microbiana e aumento da lise e catabolismo dos microrganismos.

Diferente dos AGVs, a concentração do nitrogênio amoniacal foi constante no rúmeme de animais privados. No geral, a privação não afetou a concentração média de nitrogênio amoniacal. Porém, ao longo do período de privação, animais que estavam se alimentando regularmente apresentaram variações que coincidiram com momentos de pico e queda na concentração de amônia no rúmeme, resultando em diferenças momentâneas entre os animais com e sem privação. Suportando nosso resultado, Cole e Hutcheson, (1981), também não verificaram diferenças na concentração média de nitrogênio amoniacal ruminal entre animais privados ou não. Normalmente, em situações onde a dieta consumida é deficiente em nitrogênio (N), o fornecimento contínuo de N para os microrganismos do rúmeme pode ser visto como uma estratégia de sobrevivência do animal (Van Soest, 1994), sob tais circunstâncias, o animal pode reduzir a excreção urinária de N e aumentar a reciclagem de N para o rúmeme (HENNESSY; NOLAN, 1988). No entanto, quando a deficiência de N se agrava, o animal mobiliza tecido corporal para manter a reciclagem de N (NRC, 1985). Neste caso, os animais que foram privados podem ter utilizado esse mecanismo para manter os níveis de nitrogênio amoniacal ruminal.

Após eventos como a privação e transporte, é comum observar menor consumo de matéria seca pelos animais (Fluharty et al., 1994), podendo chegar em média a 1,5% do PC durante as 2 primeiras semanas de realimentação (Hutcheson e Cole, 1986). No presente estudo, as variáveis relacionadas ao consumo não foram afetadas pela privação (Tabela 3). Em razão da repleção ruminal, o máximo consumo de FDN proposto por Mertens (1994) seria de 1,2% do peso corporal, podendo variar em função do tipo de volumoso presente na dieta (Oliveira et al. 2011). Em nosso estudo, o consumo médio de FDN em %PC foi de 1,14%, portanto, acreditamos que o baixo consumo de matéria seca (média de 1,73% do PC) ocasionado pela repleção ruminal impossibilitou diferenças no consumo entre animais privados e não privados.

Durante a privação ocorre perdas fecais (Cole et al. 1986) que podem ocasionar esvaziamento do trato gastrointestinal. No entanto, durante a realimentação e reidratação o conteúdo gastrointestinal que foi perdido é recomposto, o que pode reduzir a excreção fecal nos primeiros dias após a privação. De fato, no presente trabalho, nos primeiros dias após a privação (dias 3 a 5) a excreção fecal foi menor em animais que foram privados e, nos períodos seguintes a excreção fecal foi

semelhante entre os tratamentos (Figura 5). Devido a esse comportamento, a digestibilidade da MS, MO, FDN e FDA foram maiores nos primeiros dias de realimentação e reidratação (dias 3 a 5) em animais que foram submetidos a privação (Figura 3). Embora a digestibilidade dos nutrientes citados serem inicialmente maior em animais que foram privados, ao final do período experimental a digestibilidade da MS, FDN e FDA foram inferiores em animais privados. A literatura indica que a população microbiana bem como os parâmetros ruminais são reestabelecidos em 3 dias após jejum de 32 horas em baias ou durante o transporte (Galyean et al., 1981). A partir disso, diferenças na degradação e fermentação ruminal seriam inexistentes em animais com e sem jejum. Em nosso estudo, foi verificado efeito negativo na digestibilidade dos nutrientes até 32 dias após a privação. Portanto, o efeito do jejum de longa duração (48 horas) sobre a população microbiana durante o período de realimentação e reidratação precisa ser investigado.

No estudo atual, o uso de fonte hidroxilada de Cu e Zn aumentou a digestibilidade da FDN em 1,63% quando comparada com a fonte inorgânica. Enquanto a digestibilidade da MS, MO e FDA não foram alteradas pela fonte de mineral. Corroborando com nossos resultados, Faulkner et al. (2017) e Daniel et al. (2020) verificaram aumento somente na digestibilidade da FDN quando a fonte hidroxilada foi utilizada. Em outro sentido, Guimarães et al. (2021; 2022) verificaram aumento tanto na digestibilidade da FDN quanto na digestibilidade da MS e FDA. De certa forma, o efeito do uso de fonte hidroxilada parece ser mais expressivo sobre a digestibilidade da FDN. Dessa maneira, Daniel et al. (2020) ao compilarem dados de 6 trabalhos que avaliaram a digestibilidade da FDN em bovinos suplementados com fontes hidroxiladas ou fontes sulfato, observaram que o uso de minerais hidroxilados proporcionou um adicional de 2,5% na digestibilidade da FDN. Consistente com os achados citados, estudos posteriores demonstraram que o aumento na digestibilidade da FDN quando fontes hidroxiladas foram utilizadas em relação a fontes sulfato foi entre 1,8 a 4,6% (Guimarães et al., 2021; Kuijk et al., 2022; Guimarães et al., 2022).

A menor digestibilidade da FDN ocorrida pelo uso de fonte sulfato é devido a maior solubilidade do Cu e Zn no rúmex (Guimarães et al., 2021). Foi demonstrado que altas concentrações de Zn reduziu a concentração de bactérias celulolíticas (Eryavuz e Dehority, 2009) bem com a atividade bacteriana celulolítica (Bonhomme et

al., 1979). Em adição, a alta concentração de cobre pode reduzir a população bacteriana (Hernandez-Sanchez, 2018), assim como a baixa concentração reduz a digestão da celulose in vitro (Ward e Spears, 1993) devido sua toxicidade às células bacterianas.

No presente estudo, animais que receberam fonte hidroxilada de Cu e Zn tiveram um aumento no CF, CMS e CMS% o que aumentou o consumo de MO, FDN e FDA. Em vacas leiteiras, Oba e Allen (1999) relataram que o aumento de uma unidade percentual na digestibilidade da FDN (in vivo ou in vitro) está associado a um aumento de 0,170kg no CMS. Miller et al. (2020) verificaram aumento no CMS de vacas leiteiras quando fontes hidroxiladas foram utilizadas e atribuíram o aumento no CMS à elevação digestibilidade da FDN. No estudo citado, para um ponto percentual adicional na digestibilidade da FDN houve um aumento de 0,342 kg no CMS. Em nosso estudo, para cada ponto percentual adicional na digestibilidade da FDN ocasionado pelo uso de fonte hidroxilada, ocorreu aumento de 0,313 kg no CMS. Com base no discutido, o uso de fonte hidroxilada de Cu e Zn além de melhorar a digestibilidade da FDN, possibilitou aumento do consumo de MS, MO, FDN e FDA em nosso estudo.

O maior consumo de MO e a inalteração no consumo de PB resultaram em menor relação PB:MOD em animais que receberam fonte hidroxilada. Em adição, animais que foram submetidos a privação apresentaram menor relação PB:MOD nos primeiros dias de realimentação e reidratação (3 a 5), pois inicialmente a maior digestibilidade da MO proporcionou maior consumo de MOD, o que reduziu a relação PB:MOD. No geral, o valor encontrado em nosso estudo está próximo dos 160 g de PB/kg de MOD sugerido por Poppi e McLeann (1995) como valor onde a síntese de proteína microbiana é maximizada, o que resultou em valores semelhantes de proteína microbiana e eficiência microbiana entre os fatores estudados. Sabe-se que o aumento do teor de N na dieta pode resultar em aumento da excreção de N nas fezes e na urina (Schwab e Broderick, 2017). Em nosso estudo, como o consumo de N foi similar entre os tratamentos, diferenças não foram observadas no N excretado via fezes e urina. Devido a esse comportamento, a retenção do N foi semelhante entre os tratamentos (aproximadamente 30,8%), mantendo-se próximo do ideal sugerido por Detmann et al., (2014) para bovinos na fase de recria.

Modificações nos parâmetros ruminais podem ocorrer durante a privação, mas essas alterações tornam-se inexistentes 3 dias após o jejum (Galyean et al., 1981). No presente estudo, observamos alterações no dia 5 após a privação (dia 7), com menor proporção de butirato e maior concentração de AGV e proporção de isovalerato em animais que foram privados, o que pode ter contribuído para um menor pH no rúmex desses animais. Ao analisarmos as figuras 7 e 8, e compararmos a coleta do dia 7 com a anterior à privação (dia -2), vemos que as alterações nos parâmetros citados acima ocorreram nos animais que estavam se alimentando regularmente, portanto, acreditamos que a diferença existente 5 dias após a privação seja devido a uma variação animal. Por outro lado, como a necessidade de enchimento do trato gastrointestinal durante os primeiros dias de realimentação pode ter contribuído para uma maior retenção da dieta consumida, um acúmulo de produtos da fermentação ruminal pode ter ocorrido, possibilitando aumento da concentração de AGV, redução do pH ruminal e modificação na proporção de butirato e isovalerato em animais que passaram por 48 horas de privação.

A maior digestibilidade da FDN obtida com o uso de fontes hidroxiladas de Cu, Zn e Mn vs sulfato pode alterar os parâmetros ruminais (Guimarães et al., 2021). Estudos conduzidos por Guimarães et al. (2021; 2022) mostraram que o uso de fonte hidroxilada de Cu, Zn e Mn pode aumentar a concentração de AGV no rúmex em relação à fonte sulfato. Daniel et al. (2020) não verificaram modificação na concentração de AGV, mas a proporção de butirato foi reduzida em animais que receberam minerais hidroxilados em relação a fonte sulfato. Da mesma forma, Guimarães et al. (2021) relataram menor proporção de butirato em animais que receberam fontes hidroxiladas de minerais em comparação com fonte sulfato. No presente estudo, verificamos uma pequena inferioridade na proporção de acetato em animais que receberam fonte hidroxilada.

A privação de água e alimento pode estimular uma resposta neuroendócrina, modulada pelo hormônio adrenocorticotrófico que é secretado pela hipófise anterior e atua nas glândulas adrenais, estimulando a liberação de glicocorticoides (principalmente cortisol) (Morberg, 2000). Os glicocorticoides estimulam a liberação de glicerol e ácidos graxos do tecido adiposo, bem como aminoácidos do músculo, direcionando esses nutrientes para o fígado para a síntese de enzimas e

gliconeogênese (Baxter e Forsham, 1972). De fato, a privação de água e alimento por 24 horas elevou o cortisol bem como a concentração plasmática de AGNE (Marques et al., 2012). Em adição, Cole et al. (1986) verificaram aumento na concentração sérica de proteína total ao final de 46 horas de privação. No estudo atual, tanto as concentrações séricas de AGNE e proteína total apresentaram pico imediatamente após a privação e diminuíram quando os animais tiveram acesso a água e alimento, demonstrando que houve tanto mobilização do tecido adiposo quanto do tecido muscular.

A privação de água e alimento pode resultar em deficiência de N e induzir a mobilização de tecido corporal para manter a reciclagem de N (NRC, 1985). O aumento na concentração da ureia plasmática ocasionado pela privação durante o transporte indica que houve desaminação dos aminoácidos, para utilização das cadeias de carbono no metabolismo energético enquanto o N é convertido a ureia (Takemoto et al., 2017). Nossos resultados demonstram que a concentração sérica de ureia é aumentada ao final da privação, diminui durante a realimentação, mas se mantém maior em animais que foram privados até o dia 7. Apoiando nossos resultados, Knowles et al. (1999) também observaram aumento na concentração de ureia no plasma imediatamente após a privação durante o transporte, sugerindo aumento na quebra de proteínas musculares.

A menor disponibilidade de glicose no trato gastrointestinal durante a privação pode resultar em declínio na concentração de glicose plasmática (Takemoto et al., 2017), o que estimula o fígado a aumentar a glicogenólise e gliconeogênese para manter as concentrações de glicose sanguínea. (Wagle e Ingebretsen, 1973; Eisenstein et al., 1974). De acordo com nossos dados, animais que foram privados tenderam apresentar maior concentração de glicose sanguínea, sugerindo aumento da glicogenólise e gliconeogênese em animais que passaram por longo período de privação. Consistente com nossos achados, Cole et al. (1986) também observaram aumento na concentração de glicose ao final de 46 horas de privação.

Diante de um estressor, o animal aumenta as concentrações plasmáticas de proteínas de fase aguda positiva, como haptoglobina e ceruloplasmina (Marques et al. 2012; 2019). Embora não tenhamos analisado as proteínas citadas, em nosso estudo, foi possível analisar a concentração sérica de albumina, que é sugerida como uma

proteína de fase aguda negativa, onde sua concentração no soro pode reduzir em condição de estresse (Ceciliani et al., 2012). Por outro lado, a albumina pode ser um marcador de desidratação, pois sua concentração pode ser aumentada em animais que passam por algum período sem ingerir água (Peñuela et al., 2011). Maior concentração sérica de albumina foi observada em animais que foram privados de água e alimento, isso sugere que a privação ocasionou desidratação nos animais.

O aspartato aminotransferase (AST) é um indicador de dano muscular e pode ser aumentada pela ocorrência de trauma e exercício muscular, o que é comum durante eventos como transporte (Fisher et al., 2010). No presente estudo, o pico da AST ocorreu imediatamente ao final da privação e nos períodos seguintes a concentração foi semelhante entre os tratamentos. Isso indica que durante eventos de privação em baias pode ocorrer dano muscular, principalmente pela interação entre os animais.

Animais suplementados com fonte inorgânica apresentaram maior pico de ureia no dia 2 e maior concentração nos dias 12 e 105 em comparação a animais que receberam fonte hidroxilada. O nitrogênio uréico do plasma pode ser oriundo da incorporação ineficiente de amônia ruminal em proteínas microbianas ou desaminação hepática de aminoácidos mobilizados do músculo esquelético (Conte et al., 2018). Portanto, pode-se especular que a maior concentração de ureia no soro de animais suplementados com fonte inorgânica seja devido a maior desaminação hepática ou pelo efeito negativo do Cu e Zn sobre as bactérias ruminais, que resultou em menor incorporação de amônia em proteínas microbianas.

Comparado a fonte sulfato, minerais hidroxilados podem apresentar menor solubilidade ruminal, o que permite escapar da interação com antagonistas (Caldeira et al., 2019), resultando maior absorção pelos animais (Shaeffer et al., 2017). A maior absorção pode elevar a concentração de minerais nos tecidos dos animais. Desta forma, é possível observar maior concentração de Cu e Zn no plasma e fígado de animais que receberam fonte hidroxilada (Spears et al., 2004; Shaeffer et al., 2017). Em contraste, Cidrini et al., (2020) observaram concentrações semelhantes de Cu e Zn no fígado de bovinos em pastejo que receberam fonte hidroxilada ou sulfato de Cu e Zn. Em nosso estudo, a concentração de zinco no fígado foi inalterada pela fonte de mineral, mas a concentração de cobre no fígado foi maior em animais que não foram

submetidos a privação quando a fonte hidroxilada foi utilizada. Como discutido anteriormente, devido a maior biodisponibilidade da fonte hidroxilada, era esperado maior concentração de Cu no fígado. No entanto, a privação impossibilitou um aumento na concentração de Cu no fígado. É demonstrado na literatura que animais estressados podem apresentar menor retenção de Cu que animais não estressados (Nockels et al., 1993), isso pode ter impossibilitado o aumento da concentração de Cu no fígado de animais que foram submetidos a privação. Como eventos de privação induzem o estresse oxidativo (Deters and Hansen, 2020), pode haver demanda de enzimas antioxidantes dependente de Cu, o que pode ter impedido o aumento desse mineral no fígado.

Eventos de privação durante o transporte ou em baias pode resultar em perda de peso corporal, que pode variar em função do tempo que os animais permanecem sem se alimentar e hidratar (Marques et. al., 2012; Beenken et al., 2021; Abreu et al., 2022). Períodos de privação que variam 8 a 48 horas, podem ocasionar perdas de PC na ordem de 5,9 a 14,5% (Beenken et al., 2021; Abreu et al., 2022). Em nosso estudo foi encontrado perda de aproximadamente 12,5%, valor inferior aos 14,5% encontrado por Abreu et al. (2022) com 48 horas de privação. Phillips et al. (1991) relataram perda corporal (6,8%) inferior ao nosso estudo após 48 horas de privação de água e alimento e observaram que 60,9% dessa perda foi representada pela excreção de fezes e urina. Contrariando nossa hipótese, a perda PC em nosso estudo, não foi o suficiente para manter alguma diferença no PC dos animais durante o período de realimentação e reidratação, que resultou em recuperação do peso perdido em 5 dias após a privação (Dia 7). Abreu et al. (2022) observaram recuperação do PC perdido 10 dias após a privação de água e alimento por 48 horas, permitindo que animais que não passaram pelo período de privação desempenhassem, apresentando diferença de 12 kg ao final do estudo. Já Phillips et al. (1991) observaram recuperação do peso perdido 4 dias após a privação ou transporte. O número de dias para recuperar o peso corporal perdido pode variar entre 2 a 14 dias (Lofgreen et al., 1975; Cole et al., 1979; Marques et al., 2019, Abreu et al., 2022). A privação em baias ou durante o transporte pode reduzir o desempenho dos animais durante o período de recebimento (Marques et al., 2012). No entanto, em nosso estudo foi possível observar maior desempenho

somente nos primeiros 10 dias após a privação, posteriormente o desempenho foi semelhante. O mesmo comportamento foi relatado por Abreu et al. (2022).

Melhora no desempenho dos animais que recebem fonte hidroxilada de Cu e Zn em relação a fonte sulfato é variável. Cidrini et al. (2020) observaram maior GMD (0,506 vs 0,469 kg/dia) e peso corporal (397 vs 392 kg) quando fonte hidroxilada de Cu e Zn foi utilizada em relação a fonte sulfato em bovinos sob pastejo durante a transição entre a estação seca e chuvosa. Em contraste, Ryan et al. (2012) avaliaram fontes sulfato, orgânicas e hidroxiladas em 350 animais oriundos de leilão (240 kg) alimentados com feno de grama bermuda por 42 e 45 dias experimentais. Tanto o peso corporal quanto o GMD foram similares entre os tratamentos assim como as concentrações plasmáticas de Cu e Zn. Uma de nossas hipóteses era que a suplementação com fonte hidroxilada melhoraria o desempenho dos animais. No entanto, não foi possível verificar esse comportamento no presente trabalho.

5. CONCLUSÃO

A privação de água e alimento imposta nesse estudo foi capaz de impactar vários parâmetros de digestibilidade de nutrientes e fermentação ruminal a curto e longo prazo. Após a privação, os animais foram capazes de recuperar o PC rapidamente, resultando em nenhuma diferença de desempenho entre animais privados de água e alimento e sem privação. Além disso, a suplementação com Cu e Zn hidroxilado aumentou Cu no fígado e tendeu a aumentar o consumo de matéria seca e digestibilidade da FDN, embora mudanças no desempenho também não tenham sido observadas entre as fontes de minerais.

6. REFERÊNCIAS

Abreu, M. J. I., Cidrini, I. A., Batista, L. H. C., Ferreira, I. M., Oliveira, K. A., Sousa, L. M., França, M. Q. S., Bisio, G. H. M., Resende, F. D., Siqueira, G. R., PSXV-9 Effect of Forty-Eight Hours of Feed and Water Deprivation on the Performance of Grazing Nellore Heifers, *Journal of Animal Science*, Volume 100, Issue Supplement_3, October 2022, Pages 289–290, <https://doi.org/10.1093/jas/skac247.526>.

- Allison, M. J. and M. P. Bryant. 1963. Biosynthesis of branched-chain amino acids from branched-chain fatty acids by ruminal bacteria. **Arch. Biochem. Biophys.** 101:269.
- AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 1995.
- Barbosa, A. M.; Valadares, R. F.; Valadares Filho, S. C.; Pina, D. S.; Detmann, E.; Leão, M. I. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle. **J Anim Sci.** 2011;89(2):510-519.
- Beenken, A. M., Deters, E. L., & Hansen, S. L. 2021. The effect of injectable vitamin C and road transit duration on inflammation, muscle fatigue, and performance in pre-conditioned beef steer calves. **Journal of Animal Science**, 99(12). <https://doi.org/10.1093/jas/skab312>
- Braga, M. M., Castilho, L. M. L., Dos Santos, M. N. Biópsia hepática em bovinos: proposta de nova técnica. Revista do Centro de Ciências Rurais, v. 15, n. 1, 2009.
- Ceciliani F, Ceron JJ, Eckersall, PD, Sauerwein H. 2012. Acute phase proteins in ruminants. **Journal of Proteomics.** 75:4207-4231. doi:10.1016/j.jprot.2012.04.004.
- Chen, X.B., Gomes, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- an overview of technical details. International feed research unit. **Rowett Research Institute**. Aberdeen, UK.(Occasional publication). 21p. 1992.
- Chizzotti, M. L.; Valadares Filho, S. C.; Valadares, R. F. D.; Chizzotti, F. H. M.; Tedeschi, L. O. (2008). Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Sci.** 113:218–225.
- Cidrini, I. A. Lage, J. F., Ferreira, I. M., Oliveira, K. A., Prados, L. F., Siqueira, G. R., Resende, F. D. PSXII-17 Trace minerals source influences the performance of Nellore cattle in the growing phase during the transition between dry to rainy season in Brazil, **Journal of Animal Science**, Volume 98, Issue Supplement_4, November 2020, Pages 445–446. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa278.776>.

- Cole, N. A., J. B. McLaren and M. R. Irwin. 1979. Influence of preensit feeding regimen and posttransit & vitamin supplementation on stressed feeder steers. *J. Anim. Sci.* 49:310.
- Conte, G., Ciampolini, R., Cassandro, M., Lasagna, E., Calamari, L., Bernabucci, U., & Abeni, F. (2018). Feeding and nutrition management of heat-stressed dairy ruminants. *Italian Journal of Animal Science*, 17(3), 604–620. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1404944>
- Daniel, J. B., S. K. Kvidera, and J. Martin-Tereso. 2020. Total-tract digestibility and milk productivity of dairy cows as affected by trace mineral source. *J. Dairy Sci.* 103:9081–9089. doi:10.3168/jds.2020-18754.
- De Vries, M.F.W. (1995). Estimating forage intake and quality in grazing cattle: a reconsideration of the hand-plucking method. *Journal of Range Management*. 48, 370-375
- Detmann, E., Valente, E.E., Batista, E.D., Huhtanen, P., 2014. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. *Livest. Sci.* 162, 141–153. <https://doi.org/10.1016/j>.
- Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária - Embrapa. (1999). Sistema brasileiro de classificação dos solos. Brasília, 412p.
- Fisher A, Niemeyer D, Lea J, Lee C, Paull D, Reed M, Ferguson D. 2010. The effects of 12, 30, or 48 hours of road transport on the physiological and behavioral responses of sheep. *Journal of Animal Science*, 88(6):2144-2152.
- Fluharty, F. L., Loerch³, S. C., & Dehority, B. A. (1994). Ruminant Characteristics, Microbial Populations, and Digestive Capabilities of Newly Weaned, Stressed Calves. 1994. *J. Anim. Sci.* 72:2969-2979. <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/72/11/2969/4632577>.
- Galyean, M. L.; Lee, R. W., & Hubbert, M. E. (1981). *INFLUENCE OF FASTING AND TRANSIT ON RUMINAL AND BLOOD METABOLITES IN BEEF STEERS 1'2*. <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/53/1/7/4661868>

- Hennessy, D. W.; Nolan, J. V. Nitrogen kinetics in cattle fed a mature subtropical grass hay with and without protein meal supplementation. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 39, n. 6, p. 1135-1150, 1988.
- Hutcheson, D. P., and N. A. Cole. 1986. Management of transitstress syndrome in cattle: nutritional and environmental effects. **J. Anim. Sci.** 62:555.
- Lofgreen, G. P., J. R. Dunbar, D. G. Addis and J. G. Clark. 1975. Energy level in starting rations for calves subjected to marketing and shipping stress. **J. Anim. Sci.** 41:1256.
- Mertens, D. R. 1994. Regulation of forage intake. In: G.C. Fahey Jr., editor, Forage quality, evaluation and utilization. American Society of Agronomy, Madison, WI. p. 450-493.
- National Research Council - NRC. Ruminant nitrogen usage. Washington, DC: Academic Press, 1985. 119 p.
- 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. **J. Anim. Sci.** 71, 2539–2545. <https://doi.org/10.2527/1993.7192539x>.
- Oliveira, A. S., E. Detmann, J. M. S. Campos, D. S. Pina, S. M. Souza, and M. G. Costa. 2011. Meta-analysis of the impact of neutral detergent fiber on intake, digestibility and performance of lactating dairy cows. **Rev. Bras. Zootecn.** 40:1587-1595.
- Palmquist, D. L. & Conrad, H. R. (1971). Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high grain or high fat diets. **Journal Dairy Sci.** 54:1025–1033.
- Peñuela, M.H.R; Uribe-Velásquez, L.F.; Sánchez, J.A. 2011. Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne. **Biosalud**, 10, 71–87.
- Pescara, J. B., J. A. A. Pires, And R. R. Grummer. (2010). Antilipolytic and lipolytic effects of administering free or ruminally protected nicotinic acid to feed restricted Holstein cows. **J. Dairy Sci.** 93:5385–5396.
- Poppi, D.P., Mclennan, S.R., 1995. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **J. Anim. Sci.** 73, 278–290. <https://doi.org/10.2527/1995.731278x>.

- Robertson, J.B.; Van Soest, P.J. The detergent system of analysis and its application to human foods. In: James, W.P. T.; Theander, O. (Eds.) The analysis of dietary fiber in food. New York: Marcel Dekker, p.123-158, 1981.
- Schwab, C.G., Broderick, G., 2017. A 100-Year Review: protein and amino acid nutrition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100, 10094–10112. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13320>.
- Sollenberger, L.E.; Cherney, D.J.R. Evaluating forage production and quality. In: BARNES, R.F.; Miller, D.A.; Nelson, C.J. (Eds.) Forages: the science of grassland agriculture. Ames: University Press, v.2, p.97-110, 1995.
- Takemoto S, Tomonaga S, Funaba M, Matsui T (2017) Effect of long-distance transportation on serum metabolic profiles of steer calves. **Animal Science Journal** 88(12):1970-1978.
- Van Soest, P.J.; Robertson, J.B. (1985) Analysis of forages and fibrous foods. Ithaca: Cornell University Press,. 202p.
- Ward, J. D., and J. W. Spears. 1993. Comparison of copper lysine and copper sulfate for ruminants using in vitro methods. **J. Dairy Sci.** 79;2994–2998. doi:10.3168/jds.S0022-0302(93)77638-9.
- Ward, J. R., D. M. Henricks, T. C. Jenkins, and W. C. Bridges. 1992. Serum hormone and metabolite concentrations in fasted Young bulls and steers. **Domest. Anim. Endocrinol.** 9:97–103.
- Weatherburn, N. W. (1967). Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, v.39, p. 971-97.