



NATÁLIA MARTINS BARBOSA

**DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS DE LEITE DE
ALTA PRODUÇÃO SUPLEMENTADAS COM UM COMPLEXO
DE MINERAIS VIA PARENTERAL**

LAVRAS – MG

2022

NATÁLIA MARTINS BARBOSA

**DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS DE LEITE DE
ALTA PRODUÇÃO SUPLEMENTADAS COM COMPLEXO DE
MINERAIS VIA PARENTERAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração Reprodução Animal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. José Camisão de Souza, Ph.D.

Orientador

LAVRAS – MG

2022

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Barbosa, Natália Martins.

Desempenho reprodutivo de vacas de leite de alta produção
suplementadas com um complexo de minerais via parenteral /
Natália Martins Barbosa. - 2022.

83 p.

Orientador(a): José Camisão Souza.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Reprodução animal. 2. Nutrição. 3. Suplementação mineral.
I. Souza, José Camisão. II. Título.

NATÁLIA MARTINS BARBOSA

**DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS DE LEITE DE
ALTA PRODUÇÃO SUPLEMENTADAS COM COMPLEXO DE
MINERAIS VIA PARENTERAL**

**REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF HIGH PRODUCTION
DAIRY COWS SUPPLEMENTED WITH A MINERAL
COMPLEX VIA PARENTERAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração Reprodução Animal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 17 de fevereiro de 2022.

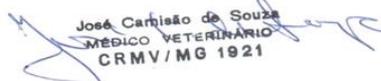
Ph. D. Jose Camisão de Souza UFLA

Dr. Marcos Brandão Dias Ferreira EPAMIG

Dr. Nadja Gomes Alves UFLA

Prof. José Camisão, de Souza, Ph.D.

Orientador



José Camisão de Souza
MÉDICO VETERINÁRIO
CRMV/MG 1921

LAVRAS – MG

2022

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que permitiu que tudo isso acontecesse, que foi um verdadeiro guia nessa jornada. Sem a sua infinita sabedoria, jamais teria conseguido.

Aos meus pais, Everaldo e Luci, por sempre serem minha base e me apoiarem em todos os momentos. Obrigada por tudo, sem vocês eu não estaria aqui, vocês foram fundamentais para minha formação no curso de zootecnia.

Ao meu irmão Victor, pelo companheirismo e por compartilhar comigo o amor pelos animais.

A todos os meus familiares e amigos que estiveram comigo nesta caminhada.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Departamento de Ciências Veterinárias, pela oportunidade de realização deste mestrado. Em especial, ao professor José Camisão de Souza, pelo privilégio de ter sido sua orientada e por poder lhe acompanhar a campo durante esses anos, por todos os conselhos pessoais e profissionais e pela disponibilidade em ensinar e ajudar.

A todos os professores que transmitiram seus ensinamentos durante esta trajetória.

A todos os membros do Grupo de Estudos em Reprodução – GERE, que contribuíram grandemente para a realização deste estudo, principalmente aos membros que participaram como estagiários durante todo o trabalho.

A todos os colaboradores da Fazenda Palmito, por me receberem e me acolherem muito bem, pelos ensinamentos, pelas amizades conquistadas e por me tornar parte da família.

A todos os colegas do mestrado, em especial minha amiga Nathália e minha parceira de experimento Giovanna, pela ajuda nos momentos difíceis e pelo companheirismo.

A minha amiga Jelieny por me ajudar nas correções e pelo apoio durante todo esse processo. Ao Marcelo pelas correções e explicações sobre o assunto.

A todas as meninas que passaram pela Rep 302, pela boa convivência, amizade, troca de conhecimento e apoio durante o mestrado.

A empresa Virbac pelo apoio e financiamento desse projeto, sem sua parceria não seria possível conduzir esse estudo. Ao Bruno pela ajuda e suporte durante todo o projeto.

A todos os animais que fizeram parte da minha jornada como acadêmica e estagiária, em especial aos meus animais de estimação, deixo aqui registrado o meu agradecimento e compromisso em sempre honrá-los e respeitá-los.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte desse processo, o meu muito obrigado.

Serei eternamente grata a todos!

RESUMO

O período de transição é o momento mais crítico no ciclo produtivo de vacas leiteiras, principalmente para animais de alta produção, que estão sujeitos a grandes desafios e alterações em seu metabolismo natural. A suplementação mineral estratégica nesta fase é uma alternativa para amezinar os problemas nutricionais e metabólicos deste período, tendo em vista que os minerais desempenham importantes funções no organismo animal, como nas dinâmicas metabólicas, imunológicas e hormonais. Assim sendo, espera-se que a suplementação mineral injetável parenteral interfira positivamente no status metabólico, com reflexos positivos sobre o eixo reprodutivo, escore de condição corporal e desempenho reprodutivo de vacas leiteiras de alta produção. No presente estudo, foram utilizadas 108 vacas da raça Holandesa pretoebranco, entre primíparas e múltiparas, com peso médio de 600 kg. As vacas foram bloqueadas por produção de leite, paridade, data prevista de parto, e posteriormente alocadas para um de dois tratamentos (FOSF, n=54) ou controle (CONT, n=54). No FOSF foram administrados 10 mL de Fosfosal®, via intramuscular, aproximadamente 30 (± 15) dias antes do parto, ao parto e 30 (± 15) dias após o parto; enquanto os animais do grupo controle não receberam suplementação. Todos os animais foram submetidos ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF); D0: 2 mL de benzoato de estradiol e 1 mL de GnRH, seguidos da colocação de 2 implantes intravaginais de progesterona, sendo um de primeiro uso e outro de terceiro uso; D7: 5 mL de prostaglandina e foi retirado o primeiro implante de progesterona; D9: 5 mL de prostaglandina, 0,5 mL de cipionato de estradiol e retirada do segundo implante de progesterona; D11: inseminação. Amostras de sangue foram coletadas de um sub-grupo de 27 animais de cada tratamento para obtenção de plasma no D0 e no D8 do protocolo hormonal e 10 dias após a IATF, para mensuração das concentrações de progesterona (P4) e fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1). Foi avaliado o escore de condição corporal aos 30 (± 15) dias antes do parto, ao parto, 30 (± 15) dias pós-parto e no D0 da IATF. Também foram avaliadas as estruturas ovarianas, sendo as seguintes variáveis respostas de medida: diâmetro do folículo pré-ovulatório (DFP) no dia da remoção do primeiro CIDR (D8 do protocolo de IATF) e o diâmetro do corpo lúteo (DCL) 10 dias após a IATF. O período (1, 2, 3 e 4) influenciou ($P < 0,00001$) o ECC, porém, não houve efeito do tratamento ou da interação tratamento x período. A taxa de prenhez aos 30 e 60 dias foi maior ($p = 0,01$) no grupo

FOSF, sendo respectivamente, 32,58 % no CON e 48,94% no FOSF e 59,57% no CON e 83,33 no FOSF. O número de serviços por concepção foi menor ($p=0,04$) no grupo FOSF. Odiâmetro do folículo dominante (FD) tendeu a ser maior($p=0,075$) no grupo FOSFdo que no CON (x e y mm, respectivamente).Os resultados evidenciam que a utilização desse complexo mineral foi capaz de melhorar o desempenho reprodutivo de vacas de leite de alta produção, por meio de ações independentes da produção de progesterona ou IGF-I.

Palavras-chave: minerais, reprodução, período de transição, vacas leiteiras.

ABSTRACT

The transition period is the most critical moment in the production cycle of dairy cows, especially for high-production animals, which are subject to great challenges and changes in their natural metabolism. Strategic mineral supplementation at this stage is an alternative to alleviate the nutritional and metabolic problems of this period, given that minerals play important roles in the animal organism, such as in metabolic, immunological and hormonal dynamics. Therefore, parenteral injectable mineral supplementation is expected to positively affect the metabolic status, with positive effects on the productive axis, body condition score and reproductive performance of high-producing dairy cows. In the present study, 108 black and white Holstein cows, between primiparous and multiparous, with an average weight of 600 kg will be used. Cows will be blocked by milk production, parity, expected calving date, and later allocated to one of two treatments (FOSF, n=54) or control (CONT, n=54). In the FOSF group will be administered 10 mL of Phosphosal®, intramuscularly, approximately 30 (± 15) days before parturition, at parturition and 30 (± 15) days after parturition, while the animals in the control group will not receive supplementation. All animals will be submitted to the fixed-time artificial insemination protocol (FTAI); D0: 2 mL of estradiol benzoate and 1 mL of GnRH, followed by the placement of 2 intravaginal progesterone implants, one for the first use and the other for the third use; D7: 5 mL of prostaglandin and the first progesterone implant will be removed; D9: 5 mL of prostaglandin, 0.5 mL of estradiol cypionate and removal of these two progesterone implants; D11: insemination. Blood samples will be collected from a subgroup of 27 animals from each treatment to obtain plasma on D0 and D8 of the hormonal protocol and 10 days after FTAI, to measure the concentrations of progesterone (P4) and insulin-like growth factor 1 (IGF-1). The body condition score (BCS) will be evaluated at 30 (± 15) days before delivery, at delivery, 30 (± 15) days post partum and on D0 of the FTAI. The ovarian structures will also be evaluated, with the following measurement response variables: diameter of the preovulatory follicle (DFD) on the day of removal of the first CIDR (D8 of the FTAI protocol) and the diameter of the corpus luteum (DCL) 10 days after the FTAI. The period (1, 2, 3 and 4) influenced ($P < 0.00001$) the BCS, however, there was no effect of the treatment or the treatment VS period interaction. The pregnancy rate at 30 and 60 days ($p = 0.01$) was significantly higher for the FOSF group,

being respectively 32.58% for the CON and 48.94% for the FOSF group and 59.57% for the CON and 83.33% FOSF, respectively. The number of services per conception was lower ($p=0,04$) for the FOSF group. There was a trend of an effect of treatments on the diameter of the dominant follicle (DF), where the DF in the FOSF group was greater ($p=0.075$) than the control group. The use of this mineral complex was able to improve the productive performance of high producing dairy cows, through actions independent of the production of progesterone or IGF-I, but relate only to a larger dominant follicle.

Keywords: minerals, reproduction, transition period, dairy cows.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Balanço energético no período de transição.....	21
Figura 2 - Modelo fisiológico dos fatores que regulam as concentrações circulantes de P4 em vacas em lactação.....	26
Figura 3 - Concentrações séricas (médias dos quadrados mínimos) de progesterona e IGF-I no D8 do protocolo de IATF e 11 dias após a inseminação artificial. PTT, P Dia e PTT*Dia, probabilidades dos efeitos fixos de tratamento, dia da coleta e interação, respectivamente; CON= grupo controle sem suplementação e FOSF= grupo suplementado via parenteral.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção de leite de vacas HPB em lactação com e sem suplementação mineral parenteral.	48
Tabela 2 - ECC em vacas de leite HPB durante o período de transição.	49
Tabela 3 - Parâmetros reprodutivos de vacas de leite HPB sem e com suplementação mineral parenteral injetável.	50
Tabela 4 - Diâmetro de estruturas ovarianas de vacas de leite HPB sem e com suplementação mineral parenteral injetável.	53
Tabela 5 - Efeito de tratamento, dia e interação na concentração de P4 e IGF1 séricas em vacas HPB em lactação.	54

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
3 REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1 Desafios reprodutivos em vacas de leite de alta produção	17
3.2 Períodos de transição.....	19
3.2.1 Balanço energético negativo	20
3.2.2 Hormônios	24
3.2.2.1 Fator de crescimento semelhante à insulina	24
3.2.2.2 Progesterona.....	25
3.2.3 Escore de condição corporal	27
3.3 Minerais	29
3.3.1 Selênio	29
3.3.2 Magnésio	31
3.3.3 Potássio.....	33
3.3.4 Cobre	34
3.3.5 Fósforo.....	36
3.4 Suplementação mineral	38
3.4.1 Suplementação mineral injetável	39
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
4.1 Preceitos éticos.....	41
4.2 Descrições dos métodos	41
4.2.1 Área de estudo/Local.....	41
4.2.2 Animais experimentais	41
4.2.3 Desenho experimental e tratamentos.....	42
4.2.4 Manejo alimentar e sanitário.....	43
4.2.5 Manejo reprodutivo	43
4.2.6 Produção de leite	44
4.2.7 Escore de condição corporal	44
4.2.8 Amostragem de sangue.....	44
4.2.9 Avaliação de estruturas ovarianas	45

4.3Análises laboratoriais	45
4.3.1IGF-1	45
4.3.2Progesterona.....	46
4.4Análises estatísticas.....	46
5- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
5.1Produção de leite.....	47
5.2Escore de Condição Corporal	48
5.3Taxa de prenhez e número de serviço por concepção	49
5.4Estruturas ovarianas	50
5.5Progesterona e IGF-1	53
6- CONCLUSÃO	55
7 - REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

A pecuária leiteira mundial vem crescendo substancialmente nos últimos anos, sendo o Brasil o quinto maior produtor de leite no ranking mundial (CONAB, 2018). Em 2019, a produção de leite no território brasileiro atingiu a marca de 34,84 bilhões de litros, totalizando um crescimento de 2,7 % em relação ao ano anterior, de acordo com o IBGE (2021).

Com o desenvolvimento da indústria de laticínios, a procura por animais geneticamente superiores e cada vez mais produtivos foi modificando a composição do rebanho em fazendas leiteiras. Concomitantemente, em resposta à elevada produtividade e às altas demandas metabólicas, esses animais tendem a apresentar maior número de afecções e enfermidades (BARBAT et al., 2010). Deste modo, é necessário o desenvolvimento de estratégias que possam minimizar o intenso balanço energético negativo (BEN), déficits na fertilidade e a frequente ocorrência de doenças metabólicas e problemas sanitários.

O período de transição (entre 3 semanas pré e pós-parto) é demasiadamente crítico quando se trata de vacas leiteiras, pois esta fase é caracterizada pelo baixo consumo de matéria seca (MS) e pela alta demanda de energia para a manutenção da gestação e produção de leite, aumentando a probabilidade de o animal entrar em um quadro de BEN (ESPOSITO et al., 2014). Como consequência, podem ocorrer perda excessiva de reservas de gordura corporal com reflexos no escore de condição corporal (ECC) e modificações nas concentrações de metabólitos (ácidos graxos não esterificados (AGNE), betahidroxibutirato (BHB) e glicose) e de hormônios (somatotropina – GH, insulina e fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1)), que podem impactar de forma negativa a fertilidade. Assim, o monitoramento da nutrição e da saúde das vacas nesse período é essencial para compensar possíveis alterações metabólicas e fisiológicas indesejáveis, buscando assim minimizar prejuízos futuros (ROCHE et al., 2013).

Os minerais são elementos essenciais para o bom funcionamento do metabolismo e desempenham papel fundamental no sistema imunológico e reprodutivo de vacas leiteiras (SHANKAR e PRASAD 1998). A deficiência de minerais no final da gestação pode ocasionar perdas reprodutivas, devido à alta demanda dos mesmos para o crescimento fetal final, produção de colostro e, eventualmente, produção máxima de leite. (ANDRIEU, 2008). Deste modo, a suplementação mineral adequada neste período

pode ser uma das ferramentas mais eficientes para diminuir os impactos negativos durante o período de transição e beneficiar a fertilidade.

A suplementação mineral pode ser fornecida na dieta e/ou de forma injetável pelas vias subcutânea ou intramuscular. Contudo, a suplementação oral possui alguns entraves que, se não forem solucionados de forma precisa, podem causar deficiência ou toxicidade desses elementos aos animais (SILVEIRA, 2017). Em comparação, a forma injetável pode apresentar muitas vantagens, suprimindo eficientemente todas as necessidades e maximizando o desempenho reprodutivo.

A suplementação mineral injetável como forma de suplementar fósforo, potássio, magnésio, selênio e cobre dará suporte para várias funções metabólicas no organismo animal, principalmente produtivas e reprodutivas. O fósforo atua na síntese de fosfolípidos e de AMPc, substâncias-chaves nas cascatas de transdução hormonal desencadeadas pelos hormônios reprodutivos. A carência desse mineral na dieta causa menor taxa de concepção, redução da atividade ovariana, cistos foliculares e anestro pós-parto (HURLEY & DOANE, 1989). Além disso, a sua deficiência também gera doenças como a hipofosfatemia, resultando em menor produção de leite e fertilidade (MACWILLIAMS et al., 1982; Call JW et al., 1987; GRÜNBERG, 2014). A suplementação de magnésio é importante no pós-parto, para a sua reposição no organismo e para homeostase de cálcio no sangue, além disso, estudos mostram que sua adição na dieta antecipa o retorno da ciclicidade em vacas leiteiras (FADLALLA; OMER; ATTA, 2020). O selênio é um antioxidante que atua juntamente com as enzimas superóxido dismutase e glutatona peroxidase na retirada de radicais livres e aumento da sobrevivência das células do organismo, resultando em melhor produção e fertilidade dos animais (GALADARI, S et al., 2017; HOSNEDLOVA et al., 2017). O cobre faz parte da enzima lisil oxidase, que é essencial para a estabilização da matriz extracelular das células da granulosa dos folículos, sendo sua suplementação essencial para o desenvolvimento normal dos folículos ovarianos e manutenção da fertilidade em bovinos (KENDALL et al., 2003).

Assim, hipotetizamos que a suplementação mineral parenteral no período periparto melhora a produção leiteira e os índices reprodutivos de vacas leiteiras de alta produção.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo é investigar os efeitos da suplementação mineral parenteral supranutricional de fósforo, potássio, magnésio, selênio e cobre durante o peri-parto sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de vacas leiteiras de alta produção.

2.2 Objetivos específicos

O objetivo específico deste trabalho é determinar os efeitos dessa suplementação no periparto com relação às seguintes variáveis: 1) Balanço energético negativo pós-parto; 2); Dinâmica de escore corporal; 3) Avaliação dos diâmetros do folículo dominante e do corpo lúteo; 4); Concentrações de progesterona e IGF-I; 5) Taxas de prenhez; 6) Acompanhamento da produção leiteira.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Desafios reprodutivos em vacas de leite de alta produção

Vacas de leite de alta produção foram submetidas à intensa seleção genética visando à produção leiteira em larga escala. A intensa produtividade das vacas dá através de sua competência em mobilizar gordura e tecido muscular e direcioná-los à produção de leite no início da lactação. Porém, este processo pode implicar em uma queda significativa na fertilidade, devido ao maior consumo e à perda da condição corporal, que resulta em modificações nas concentrações de metabólitos e hormônios no sangue (PRYCE et al., 2001; TAYLOR et al., 2003).

Assim sendo, as vacas são submetidas a mecanismos homeorréticos para regular o aumento repentino da produção de leite no início da lactação, juntamente com o ciclo estral logo após o parto e em meio ao balanço energético negativo (BERRY et al., 2016).

Para sustentar a lactação, esses animais apresentam demandas energéticas muito superiores às vacas não lactantes, o que explica o aumento no consumo. O aumento na ingestão de matéria seca causa elevação drástica no fluxo sanguíneo hepático, resultando em uma maior metabolização de hormônios esteroides e, com isso, menor circulação de estradiol e progesterona no organismo (SAGSRITAVONG et al., 2002).

A alteração da circulação desses hormônios pode estar relacionada com o atraso da ovulação em vacas após a luteólise, mesmo ocorrendo a secreção desses hormônios

pelo folículo e pelo corpo lúteo (SARTORI et al., 2002). Este é o mesmo motivo pelo qual vacas de alta produção de leite ovulam folículos com diâmetros maiores, porém, com baixas concentrações circulantes de estradiol, ocorrendo o mesmo com o volume de tecido lúteo e progesterona circulante (LOPEZ et al., 2005).

As modificações no metabolismo de estrógeno e progesterona resultam em várias alterações de fertilidade, pois existe uma participação ativa desses hormônios em praticamente todos os processos da fisiologia reprodutiva. Menor duração da manifestação do estro, maior taxa de dupla ovulação, elevada ocorrência de cistos foliculares, menor taxa de concepção e maior mortalidade embrionária precoce são alguns exemplos de problemas que podem ocorrer (WILTBANK et al., 2006; WALSH; WILLIANS; EVANS, 2011;).

A função do ovário na primeira ovulação é muito importante para a análise do impacto da produção de leite na fertilidade do gado, pois os ovários precisam receber sinais de LH e FSH da hipófise para a produção de estradiol e inibina para o retorno da ciclicidade. Porém, de acordo com LOPEZ et al. (2005), no sistema moderno de produção leiteira de vacas confinadas, os ovários não são capazes de transmitir informações um para o outro e não têm comunicação com hipotálamo e hipófise (LOPEZ et al. 2005). Devido a isto, o pico de LH e o estro são comprometidos, pois existe esta falha na habilidade do folículo pré-ovulatório em se conectar com o eixo hipotalâmico-hipofisário para desencadear a ovulação (EVANS et al. 2011). Todas estas alterações ocorrem em função da vaca leiteira ser altamente ativa metabolicamente (BERRY et al., 2016).

A alta produção de leite interfere também no desenvolvimento embrionário, pois o metabolismo acelerado desses animais trás transtornos ao sistema imunológico inato no pós-parto (LUCY et al., 2014). Isto ocorre devido à ineficiência de células do sistema imunológico em combater os mecanismos normais de contaminação e infecção do útero logo após o parto, induzindo às perdas embrionárias (BERRY et al., 2016).

Outro fator não menos importante que afeta a reprodução de vacas de alta produção leiteira é o balanço energético negativo (BEN) (SANTOS 2009). O BEN pode ocorrer na fase em que esses animais estão atravessando o pós-parto, período em que possuem exigências energéticas elevadas pelo fato de o pico de lactação ocorrer entre as quatro e oito semanas subsequentes ao parto (WALSH; WILLIANS; EVANS, 2011). Sendo assim, em animais acometidos pelo BEN, parte da exigência é suprida pelo aumento do consumo alimentar e o restante pela mobilização de reservas corporais

(GRUMMER, 2007). Durante a lactação, vacas que estiverem em BEN irão apresentar menores concentrações plasmáticas de insulina e IGF-I, hormônios que agem na reprodução por meio de ações diretas nas células ovarianas, no crescimento folicular e também sobre a secreção e a função dos receptores de gonadotrofinas (LUCY, 2008) e tudo isto interfere de forma negativa nos índices reprodutivos.

Em um estudo, foi avaliada a relação da produção de leite com o desempenho reprodutivo de vacas e se esta associação sofre influência do nível de produção do rebanho. Um rebanho com vacas produzindo 8 Kg/dia acima da média diária de leite apresentou 1,3% de risco menor de prenhez (razão de risco = 0,987), enquanto em um rebanho com menor produção as vacas demonstraram 14,8 % de risco mais alto de engravidarem (razão de risco = 1,148) (REARTE et al., 2018). O trabalho demonstrou que a relação entre produção de leite e desempenho reprodutivo é estatisticamente significativa, mesmo sendo um efeito pequeno.

Os parâmetros necessários para bons índices de produção de leite e de fertilidade seguem caminhos opostos. Vacas de alta produção precisam se adaptar metabolicamente para suprir a produção de leite e isso prejudica as concentrações de hormônios e metabólitos importantes para o ciclo reprodutivo. É possível minimizar tais alterações com estratégias nutricionais durante o período de transição e através de uma gestão personalizada do monitoramento de fatores relacionados a esse período, como o escore de condição corporal e as concentrações de metabólitos e hormônios envolvidos no BEN.

3.2 Períodos de transição

O período de transição (PT) engloba o tempo de três semanas antes e três semanas depois do parto, que corresponde respectivamente ao final da gestação e início da lactação (RIC et al., 1995; DRACKLEY, 1999). Possivelmente é a fase mais desafiadora na vida produtiva de uma vaca leiteira devido à grande demanda energética para o desenvolvimento final do feto e produção de leite inicial. Além disso, há menor ingestão de matéria seca associada a outros problemas, como o balanço energético negativo, resistência à insulina, mobilização de lipídeos, perda do escore de condição corporal e estresse oxidativo (KOLK et al., 2017; LEBLANC, 2010).

Outro fator que aumenta a exigência de nutricional de vacas leiteiras no período de transição é a colostrogênese, que inicia por volta de três semanas antes do parto

(GUY et al., 1994) e necessita de grande aporte de nutrientes para a produção, devido à alta concentração de proteínas, gordura e minerais que o compõem (THIELEN et al., 2007).

Além dos ajustes fisiológicos e metabólicos necessários no período de transição, ocorrem também alterações inflamatórias causadas por uma série de fatores, que originam-se principalmente devido ao trauma do tecido da glândula mamária durante o parto e do trato gastrointestinal. Assim, se esse trauma evoluir de forma patológica, pode afetar o sistema imunológico e também explicar a menor ingestão de alimentos (HORST et al., 2021).

Tais modificações homeostáticas acontecem normalmente em vacas saudáveis de alta produção para favorecer a lactação ou em decorrência do estímulo imunológico e suas sequelas. Porém, se as vacas receberem uma dieta adequadamente formulada que atenda a todas suas necessidades, o metabolismo energético e a função imunológica durante o período de transição serão provavelmente favorecidos (LEBLANK 2010).

Além da dieta, o monitoramento de todo o processo de transição pode ser uma alternativa para amenizar os danos resultantes desta fase, principalmente se tratando de problemas reprodutivos. Uma análise de regressão múltipla de *stepwise* foi feita em um conjunto de dados sobre 500 lactações, observando as relações entre características metabólicas medidas antes e depois do parto. Os resultados obtidos foram que os intervalos mais longos entre partos e concepções estão relacionados às concentrações alteradas de IGF-1 e ureia e às mudanças no escore de condição corporal (WATHES et al., 2007).

Tais descobertas são de grande importância para as bases de novos estudos sobre o período de transição em vacas, o que contribui para a elucidação de diversas questões que impactam a fisiologia da vaca leiteira e contribuem para os avanços em rentabilidade, lucratividade e sustentabilidade da pecuária leiteira.

3.2.1 Balanço energético negativo

O balanço energético negativo (BEN) é uma condição muito típica do período de transição e que afeta de forma muito significativa o metabolismo animal, impactando no desempenho produtivo e reprodutivo.

O BEN é caracterizado por um balanço negativo de energia, onde o animal necessita de maior aporte energético do que lhe está disponível. Este processo inicia-se

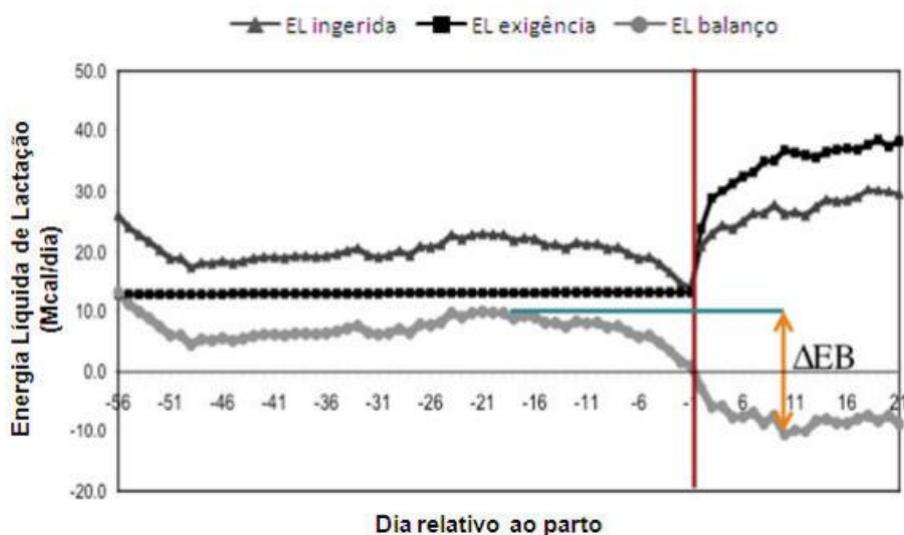
no pré-parto, onde o consumo de matéria seca é reduzido e as exigências energéticas, protéicas e minerais encontram-se aumentadas, devido ao início da colostrogênese e desenvolvimento do feto e da placenta (GUY et al., 1994; DRACKLEY, 1999; HAYIRLI et al., 2002; ADEWUYI et al., 2005; Xu et al., 2015).

As exigências nutricionais de energia líquida e proteína metabolizável de uma vaca aumentam em 26 e 25%, respectivamente, quatro dias após o parto (BELL et al., 1995). De acordo com o NRC (2001), dois dias antes do parto uma vaca plurípara de 750 kg possuía a exigência de 60,7 MJ/de, após o parto, o mesmo animal passou a ter a necessidade de 120,4 MJ/d, produzindo 25 Kg de leite/d. Sendo assim, pode-se concluir que as exigências de consumo de energia praticamente dobraram.

Quando o animal não consegue suprir esta exigência após o parto, tem início a mobilização de suas reservas corporais, elevando as taxas de lipólise. Como resultado, as concentrações circulantes de ácidos graxos não esterificados no sangue aumentam significativamente (AGNE) (TIAGO 2013).

O pico de lactação acontece antes do pico de ingestão de matéria seca (IMS) e tal divergência é uma das maiores responsáveis pelo quadro de BEN. Na figura 1, é possível observar que no final da gestação há uma redução na energia líquida ingerida, em resposta à baixa IMS, circunstância esta que é acentuada após o parto (GRUMMER 2009).

Figura 1 - Balanço energético no período de transição.



Fonte: adaptado de GRUMMER, 2009.

Os motivos que explicam o decréscimo do CMS no período próximo ao parto ainda não estão completamente elucidados. Durante certo tempo, acreditou-se que podia ser causado pelo menor volume ruminal, devido ao crescimento fetal final que causaria eventual compressão do rúmex (FORBES 1997; INGVARTSEN e ANDERSEN, 2000). Porém este fator não se aplica ao período de transição, pois, como relatado por Park et al. (2001), a capacidade de retenção de líquido do rúmen não é modificada nesta fase, indicando que tal condição fisiológica não diminui o CMS. Assim sendo, existem outros fatores que podem estar envolvidos na regulação da ingestão de alimento no período de transição.

Segundo Drackley et al. (2005), a queda na ingestão pode ocorrer devido a diminuição na concentração de progesterona e aumento de estrógeno no sangue. Por outro lado, Ferguson (1996) acredita que o motivo pode estar associado ao aumento da infiltração de gordura no fígado de vacas leiteiras. Mesmo com tais evidências, ainda são necessários estudos mais aprofundados para obtenção de respostas mais concretas.

Vários estudos evidenciam que o BEN está relacionado com muitos problemas de produtividade geral do rebanho leiteiro pós-parto, gerando menor produção de leite, aumento na incidência de doenças e diminuição da fertilidade em vacas pós-parto (OSPINA et al., 2010a; CHAPINAL et al., 2012).

O aumento na ocorrência de doenças é causado pela menor quantidade e atividade fagocitária dos neutrófilos sanguíneos e outros elementos do sistema imune, em consequência do estado nutricional e fisiológico que se encontra a vaca durante BEN, causando depressão no sistema imune do animal (GOOF e HORST, 1997).

As adaptações para suprir a demanda de nutrientes para a lactação e a manutenção rápida e involução do útero, a nível molecular, induzem a ativação dos mecanismos de defesa locais e sistêmicos da vaca, induzindo a inflamação, além de mudanças significativas na expressão gênica (ESPOSITO et al., 2014).

Assim, tais condições fisiológicas associadas ao fornecimento insuficiente de energia predisõem as vacas leiteiras às doenças metabólicas, como aumento de problemas digestivos e locomotores Collard et al., (2000), desordens metabólicas como fígado gorduroso e cetose, retenção de placenta, deslocamento de abomaso e maior tendência à instalação de infecções (GRUMMER et al., 2005).

As relações das respostas inflamatórias causadas no BEN na menor fertilidade ainda não são bem elucidadas, devido ao extenso efeito em vários processos fisiológicos (ESPOSITO et al., 2014). Contudo, já foi estabelecido que a severidade do BEN

afetadiretamente a fertilidade devido à baixa pulsatividade de LH, sendo este o fator determinante para o atraso do retorno à ciclicidade durante o pós-parto (JORRISTMA et al., 2003).

A baixa pulsatividade do LH é causada pelas altas concentrações de ácidos graxos não esterificados, liberados durante este período, o que prejudica o desenvolvimento dos folículos. Esta falha no crescimento folicular diminui a produção de estradiol e também afeta a produção de progesterona pelo corpo lúteo após a ovulação (BUTLER 2000).

Em uma meta-análise envolvendo 27 experimentos e totalizando 1508 vacas (488 primíparas e 1020 multíparas), foram feitas análises da relação do BEN no início da lactação (4 a 21 dias após o parto) com características de fertilidade em geral. Os resultados obtidos demonstraram que o intervalo entre o parto e o início da atividade lútea e primeira observação de cio foram reduzidos com o aumento do BEN e o mesmo não teve efeito sobre a taxa de concepção ao primeiro serviço (CIVEIRO, M. et al., 2021). Isso demonstra que o aumento do BEN no início da lactação pode aumentar os dias em aberto do parto até a concepção, já que atrasa a ovulação.

O BEN não afeta a população folicular ou o momento de reiniciar o crescimento do folículo dominante após o parto, mais sim o destino ovulatório do primeiro folículo dominante (DISKIN et al., 2003). Isso pode ser uma possível consequência da menor competência funcional dos folículos produzidos no período de BEN e explicação para o maior intervalo de dias em aberto (BRITT, 1991; BEAM E BUTLER, 1999).

Nas últimas décadas, o BEN e suas consequências para a produção animal têm sido amplamente estudados, resultando em várias recomendações nutricionais para o período de transição (MANN et al., 2015).

Para que o BEN possa ser minimizado, além das estratégias nutricionais, o manejo adequado do período seco e de transição é imprescindível. Após o parto, o monitoramentocriterioso dos primeiros meses deve ser feito para que qualquer eventual problema seja detectado e as devidas providências sejam tomadas em termos de manejo, buscando minimizar seus impactos negativos na produção e na reprodução de vacas leiteiras de alta produção.

Portanto, mensurar as concentrações de metabólitos e hormônios circulantes no metabolismo energético após o parto pode ser essencial para prever a menor fertilidade durante a lactação (LOMANDER et al., 2012).

3.2.2Hormônios

3.2.2.1Fatorde crescimento semelhante à insulina

Os hormônios conhecidos como fatores de crescimento semelhante à insulina (IGFs), também podem ser chamados desomatomedinas (IGF-1 e IGF-2). Trata-se de polipeptídeos de cadeia única, que possuem conexão estrutural e funcional com a pró-insulina (HAFEZ & HAFEZ, 2004). São produzidos no fígado através da ação do hormônio de crescimento (GH), mas é sabido que praticamente todos tecidos conseguem sintetizar IGFs, diferente da insulina (GLUCKMAN et al., 1986; SHEEHY et al., 2017).

A síntese de IGF-1 acontece quando o GH se liga a receptores dos hepatócitos, ativando assim o transdutor de sinal J quinase 2 e o ativador de transcrição STAT 5, aumentando a expressão e síntese do IGF-1(BARCLAY et al., 2011).

Durante o BEM, o eixo do GH - IGF-1 é desaclopado devido à regulação negativa de receptores de GH no fígado (MCGUIRE et al., 1995 ; KOBAYASHI et al., 1999). Com isso, abaixa expressão hepática de GH pode levar à menor produção de IGF-1 no fígado (SILVA et al., 2017). O aumento de GH circulante é para promover a sua ação sobre a lipólise e gliconeogênese, o que favorece a produção de leite (LUCY; JIANG; KOBAYASHI, 2001). Assim, os IGFs são dependentes da concentração do GH, pois, funcionam como principais mediadores da ação desse hormônio e também possuem um efeito sinérgico com os hormônios relacionados à reprodução (ZULU et al., 2002).

Os IGFs realizamdiversas funções no organismo, com ações semelhantesa da insulina,como na regulação da diferenciação e proliferação de vários tipos celulares, no crescimento e no metabolismo entre outras (HAFEZ & HAFEZ, 2004). Na reprodução especificamente, eles são responsáveis por quase todo ciclo reprodutivo, com participação na esteroideogênese, proliferação celular, atividade da aromatase, foliculogênese, ovulação, implantação e desenvolvimento embrionário (ZULU et al., 2002). Além disso, também atuam nos tecidos ovarianos pra síntese de DNA e progesterona (VANDERHAAR et al., 1995).

A participação do IGF-1 na fertilidade é de extrema importância, pois, atua como um sinal de monitoramento que permite que eventos reprodutivos ocorram

quando as condições nutricionais estão boas, auxiliando para que bons resultados reprodutivos sejam alcançados (VELAZQUEZ; SPICER; WATHES, 2008).

Kawashima et al. (2007) afirmam que o IGF-1 é um sinal metabólico de retomada da função ovariana em vacas leiteiras de alta produção. Com isso, a menor concentração circulante de IGF-1 diminui a resposta pró-inflamatória e também atrasa o início da primeira ovulação após o parto (KAWASHIMA et al., 2007; O'CONNOR et al., 2008).

A resposta inflamatória prejudicada pela menor circulação de IGF-1 no pós-parto afeta a saúde uterina em vacas lactantes durante este período (ROCHE, 2006), sendo que enfermidades como a retenção de placenta e endometrite podem ser desencadeadas. As concentrações IGF-1 permanecem baixas durante a lactação e dificilmente retornaram aos valores normais após a lactação (NAKADA K. et al., 2006).

Vários estudos encontraram maior ocorrência de prenhez à primeira inseminação artificial em vacas com altas concentrações circulantes de IGF-1 comparado a vacas com baixa IGF-1 circulante (PUSHPAKUMARA; GARDNER; REYNOLDS, 2003; TAYLOR et al., 2004 ; KAWASHIMA et al., 2007; FALKENBERG et al., 2008; GOBIKRUSHANTH et al., 2018).

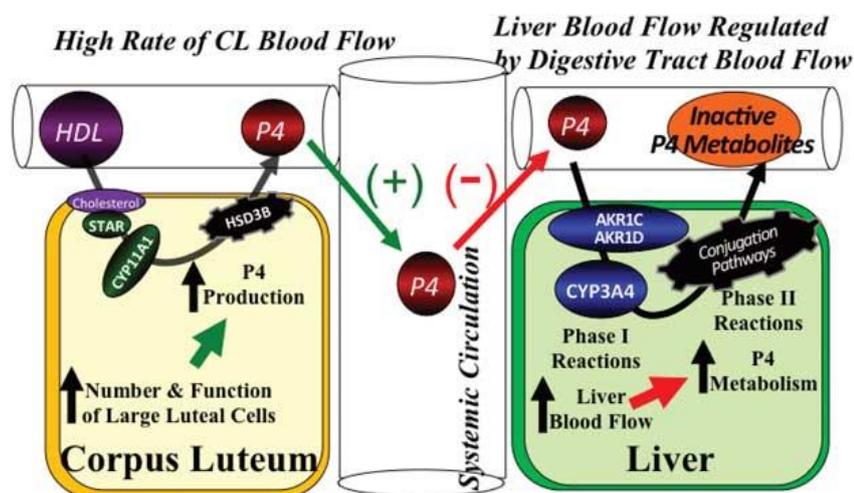
Os dados apresentados acima mostram que vacas leiteiras submetidas ao BEN no pós-parto apresentam uma concentração menor de IGF-1 circulante, o que aumenta as chances de falhas no retorno do ciclo reprodutivo (VELAZQUEZ; SPICER; WATHES, 2008). Assim, o IGF-I endócrino é sinalizador de competência metabólica para o restabelecimento da fertilidade durante o período pós-parto em gado leiteiro.

3.2.2.2 Progesterona

A progesterona é um hormônio esteroide secretado principalmente pelo corpo lúteo e pela placenta em animais. Sua produção é derivada do colesterol, utilizando apenas duas enzimas (CYP11A1 e HSD3 β)(WILTBANK et al., 2014). A quantidade de progesterona produzida pelo corpo lúteo está relacionada com a quantidade de colesterol que é transportada para dentro da célula e não com alterações na atividade das enzimas envolvidas (WILTBANK et al. , 1993 , BELFIORE et al. , 1994). A maior síntese de progesterona é determinada também pelo volume do corpo lúteo e pelo número de células luteais(WILTBANK et al., 2014).

Além de sua produção no corpo lúteo, outro fator que regula a circulação de progesterona no sangue é a taxa de metabolização no fígado. Quanto maiores as alterações no fluxo sanguíneo, maior a variação de progesterona no sangue (WILTBANK et al., 2006). Com isso, vacas com maior produção de leite possuem menores concentrações circulantes de progesterona, devido ao aumento do CMS e aumentos correspondentes no metabolismo de progesterona (WILTBANK et al., 2014).

Figura 2 - Modelo fisiológico dos fatores que regulam as concentrações circulantes de P4 em vacas em lactação.



Fonte: WILTBANK et al., 2014.

O desenvolvimento do folículo em um ambiente com progesterona elevada aumenta a prenhez na primeira inseminação artificial quando comparado com vacas com ambiente uterino de baixa progesterona (STEVENSON; LAMB, 2016). Vários estudos indicam que o aumento da progesterona no período inicial de desenvolvimento da onda folicular pré-ovulatória pode resultar na melhora substancial da fertilidade (FONSECA et al., 1983; SILVA et al., 2007; CUNHA et al., 2008; DENICOL et al., 2012).

O BEN afeta a secreção de progesterona nos ciclos estrais subsequentes ao parto e a partir do terceiro ciclo estral a secreção de progesterona é menor comparado aos dois primeiros ciclos (VILLA-GODOY et al., 1988). Tal fato indica que os acontecimentos do início do pós-parto afetam a fertilidade posterior.

Em outro estudo semelhante realizado por Britt (1992), foram medidas as concentrações de progesterona durante os primeiros cinco ciclos estrais após o parto em dois grupos de vacas, um com alto ECC e outro com baixo ECC. Foram encontradas

diferenças entre os dois grupos somente nos três últimos ciclos estrais. Desta forma, concluiu-se que a função do corpo lúteo (secreção de progesterona) está associada às condições existentes durante o desenvolvimento inicial do folículo ovulatório e não às condições do momento próximo à ovulação (BRITT, 1992),

A progesterona desempenha um papel essencial no início da gestação, na implantação e desenvolvimento embrionário através do gene do receptor de progesterona em mamíferos (MCNEILL et al., 2006). A sobrevivência embrionária pode ser afetada pelas concentrações altas ou baixas de progesterona (MORRIS; DISKIN, 2008).

A concentração de progesterona circulante após a IA possui correlação com a taxa de P/IA, de acordo com uma análise de regressão linear completa (STRONGE et al., 2005). Além disso, as mudanças induzidas pelo aumento da progesterona no ambiente uterino após IA são responsáveis pelo avanço no alongamento do concepto de bovinos para manutenção e desenvolvimento da gestação (ROCHE; RIZOS, 2009; LARSON et al., 2011; CARTER et al., 2008 and 2010).

Desta forma, a concentração circulante de progesterona é muito importante em vários aspectos e em todos os momentos do ciclo reprodutivo da fêmea bovina, com ênfase para o início do desenvolvimento folicular, manutenção da gestação e desenvolvimento embrionário inicial. Todas estas fases se dão durante o BEN, podendo a concentração deste hormônio estar alterada, impactando negativamente na fertilidade. Com isso, é interessante minimizar o BEN e monitorar a quantidade de progesterona durante o período de transição, para caso necessário fazer alguma intervenção.

3.2.3 Escore de condição corporal

Ao longo das fases da lactação o animal possui diferentes níveis de reservas corporais e de mobilização de gordura, que variam de acordo com as exigências, consumo e demanda energética (RATHBUN, FM et al 2017; SHEEHY, MR et al 2017). O armazenamento corporal de gordura pode ser avaliado através do escore de condição corporal (ECC), um método de pontuação visual e subjetivo (FERGUSON, JD et al., 1994). Apesar de ser essencial em todas as fases da lactação, o ECC é muito usado durante o período de transição, devido às alterações e desafios enfrentados pelo animal e ao déficit energético neste momento. (BEWLEY, J.M. et al., 2010; MORIN, P.A. et al., 2017).

A classificação do ECC pode ser realizada por vários métodos, porém, todos eles partem de um mesmo princípio, onde se considera os valores mais altos para vacas mais gordas e os valores mais baixos para vacas mais magras. A escala mais utilizada para avaliar o ECC em vacas leiteiras é de 1 a 5 (um a cinco), com intervalos de 0,25 (zero vírgula vinte e cinco)(EDMONSON et al., 1989).

Vários estudos têm relacionado o ECC com saúde e reprodução. Porém, apesar de animais que chegam ao parto com ECC alto ou que perdem 1 (um) ponto na escala do ECC no início da lactação possuir mais chances de desenvolverem algum problema adverso, o ECC não deve ser utilizado como único método de previsão de doenças ou danos reprodutivos (BEWLEY & SCHUTZ 2008).

De acordo com Garnsworthy (2008), para minimizar o BEN e beneficiar saúde e reprodução, a vaca de leite deve atingir um escore menor ou igual a três ($\leq 3,0$) ao parto. Se o animal atingir um escore maior que 3 (três), pode haver uma tendência maior de ocorrência de enfermidades metabólicas durante o período de transição. Isto pode ser explicado pela maior taxa de mobilização de reservas corporais (BONATO et al., 2015). A causa exata do efeito negativo do ECC maior que três ($>3,0$) não é conhecida, porém, pode estar associado a impactos negativos da leptina, adiponectina, insulina ou qualquer outro hormônio associado à massa gorda na função hipotalâmica ou ovariana (ROCHE et al., 2009).

O ECC mais alto ao parto pode causar impactos na fertilidade de vacas, como por exemplo, maior número de dias em aberto para o primeiro estro e menor taxa de prenhez (GONZÁLEZ 2002). Isto ocorre devido a menores graus de desenvolvimento e competência funcional do folículo, atividade ovariana retardada, alterações nos pulsos do hormônio luteinizante (LH) e respostas foliculares deficientes às gonadotrofinas (CHAGAS et al., 2007).

A qualidade oocitária também pode estar relacionada com o ECC. De acordo com Dominquez, vacas com más condições corporais foram relacionadas a uma diminuição de número de oócitos de boa qualidade em comparação com vacas de melhor condição corporal (DOMINQUEZ, 1995)

Em diferentes estudos, foi possível observar redução da taxa de concepção no primeiro serviço, ou menores chances de concepção, quando a vaca perdia maior pontuação do ECC após o parto, comparadas a vacas que perdia menor pontuação (BUTLER; SMITH, 1989; DOMEQ et al., 1997; BUCKLEY et al., 2003; ROCHE et al., 2004; ROCHE et al., 2007).

O ECC antes do parto apresenta relação com as concentrações de BHB no sangue após o parto, em vacas de leite de alta produção. Em um estudo, foi avaliada a interação do ECC (21 dias antes do parto) com o BHB nos primeiros 14 dias de lactação. Os autores observaram que vacas com $ECC \geq 4,0$ (maior ou igual a quatro), aos 21 dias antes da data prevista para o parto, apresentavam o BHB mais alto (RODRIGUEZ et al., 2021). O BHB, como descrito nos tópicos acima, é um indicador de BEN e trás prejuízos à produtividade geral dos animais.

O ECC é uma excelente ferramenta a ser utilizada como auxílio para a tomada de decisão com relação às intervenções nutricionais que afetam a produção e reprodução. É um método fácil, prático, rápido e acessível, que pode ser realizado por qualquer colaborador presente em uma propriedade. A condição corporal revela à reposta do animal frente a sua condição atual e reflete as repostas do mesmo ao manejo em geral.

3.3.Minerais

Os minerais são elementos essenciais para todos os animais, satisfazendo todos os requisitos para um melhor desempenho da produção animal em geral (KURCUBIĆ et al., 2010). Estes elementos são responsáveis pela realização de diversas funções no organismo, compondo estruturas de biomoléculas, participando como cofatores enzimáticos e ativando ações hormonais.

Os minerais podem ser classificados em macronutrientes minerais (cálcio, fósforo, potássio, sódio, cloro, magnésio e enxofre) e em micronutrientes minerais (ferro, iodo, zinco, cobre, manganês, cobalto, molibdênio, selênio, cromo, vanádio, sílica, flúor, níquel, arsênio e estanho), classificados desta forma de acordo com a quantidade exigida pelo animal (PEDREIRA; BERCHIELLI, 2006).

3.3.1Selênio

Os estudos iniciais com o selênio (Se) tiveram início devido ao interesse com relação a sua toxicidade aos animais. Porém, em 1957, o elemento foi revelado como sendo essencial na dieta (SCHWARZ et al., 1957). O Se exerce funções indispensáveis em vários processos fisiológicos do sistema imunológico, agindo como antioxidantes, antimutagênicos e anticarcinogênicos. Atua, ainda, defendendo o organismo contra microorganismos e parasitas, através de seu efeito antiinflamatório (HOSNEDLOVA et al., 2017). O Se também participa do crescimento e do funcionamento do sistema

reprodutivo, principalmente das fêmeas, melhorando sua fertilidade (HOSNEDLOVA et al., 2017).

A função antioxidante do Se é guiada pela ação da enzima superóxido dismutase, que elimina com eficiência o radical superóxido das células e o transforma em peróxido de hidrogênio, que é menos tóxico. A menor ingestão de Se, juntamente com outros antioxidantes, leva à redução da atividade desta enzima e, com isso, os radicais livres passam pelo processo de tumorigênese (GALADARI, S et al., 2017).

A doença do músculo branco ou distrofia muscular nutricional é a enfermidade mais comum associada à deficiência de Se, juntamente com a vitamina E. Os sinais clínicos incluem rigidez muscular, fraqueza e decúbito (RADOSTITS et al., 2000). Esta enfermidade é caracterizada pela degeneração hialina das células em vários grupos musculares, principalmente do diafragma e do coração (SOBIECH, P.; KULETA, Z, 1999). Além destas consequências, especificamente em ruminantes, é marcada por alterações na frequência e na qualidade dos batimentos cardíacos (ŻARCZYŃSKA, K et al., 2013).

A deficiência de Se durante a gestação em vacas pode gerar um aumento da ocorrência de abortos e natimortos, como consequência da insuficiência cardíaca fetal (GIADINIS, N.D. et al., 2016; KAMADA, H. et al., 2014; UEMATSU, M et al., 2016). Em biópsias fetais, foram encontradas lesões no coração e no músculo esquelético, causadas pela doença do músculo branco (UNDERWOOD, E.J. et al., 2004). Existem relatos de que a menor concentração de progesterona durante gestação, causada pela falta de Se, seja a explicação para a não manutenção da gestação, causando abortos (KAMADA, H. et al., 2014).

A inclusão de Se na dieta de vacas melhora a fertilidade, diminui o número de serviços por concepção, aumenta as taxas de prenhez no primeiro serviço e resulta em menor número de dias para a concepção (Kommisrud et al.2005). Este mineral também é importante para a secreção adequada de progesterona durante a gestação, sendo essencial para sua produção no pós-parto (KAMADA, H. et al., 2014; KAMADA, H., 2017).

De acordo com a NRC em 1970, a exigência dietética de Se em ruminantes era, em média, 0,1 ppm. Já em 2001, a NCR alegou que as necessidades nutricionais atuais de Se em vacas leiteiras passaram a ser 0,3 mg/kg de MS, com base na necessidade de manutenção, crescimento, gestação e lactação. Estas necessidades podem ser maiores em períodos de transição ou em situações estressantes(NRC, 1970; 2001).

A suplementação de Se no período de transição pode impactar positivamente na saúde das vacas, principalmente devido à redução da ocorrência de estresse oxidativo e seus problemas associados (KHATTI et al., 2017). Em um estudo, uma única dose de Se e vitamina E (30 ml) administrados cinco dias antes do parto foi capaz de atender à demanda de Se em vacas leiteiras de alta produção durante este período (SNARSKA et al., 2015). Em outro estudo, um grupo de vacas foi supra-suplementado com fermento de Se, a 0,3 mg de Se/kg de matéria seca, durante as últimas semanas antes do parto. Foi possível observar melhora no metabolismo de nutrientes e redução da resposta inflamatória ocorrida após o parto (GONG; XIAO, 2021). Tais evidências mostram que o fornecimento de Se orgânico, acima das necessidades recomendadas, oferece melhor adaptação às mudanças metabólicas e imunológicas durante o período de transição.

A fertilidade também pode ser beneficiada pela suplementação de Se durante o período de transição. O aumento do conteúdo energético, juntamente com a suplementação de Vitamina E durante esta fase, melhorou a taxa de prenhez e auxiliaram na expressão precoce do estro após o parto (KHATTI et al., 2017).

Em ruminantes, o Se é pouco absorvido através da dieta, por estar presente nos alimentos em formas que são insolúveis no ambiente ruminal, como o Se elementar e os selenetos (PETERSON et al., 1963). Sendo assim, a suplementação injetável é mais eficiente do que se introduzida na dieta.

Como observado acima, o Se exerce funções extremamente importantes em vários processos fisiológicos e metabólicos do organismo. Sendo assim é indispensável a sua suplementação adequada, principalmente no período de transição, buscando formas alternativas para compensar a absorção ruminal ineficiente.

3.3.2 Magnésio

O magnésio (Mg) é um mineral essencial (LEROY, J, 1926), com inúmeras funções celulares (ROMANI & SCARPA, 2000). Este elemento está presente em importantes reações enzimáticas, nas quais pode se ligar às enzimas ou aos substratos (Cowan, 2002; Lüthi et al., 1999). O Mg participa da transmissão sináptica no sistema nervoso central, operando como um modulador (MOYKKYNEN et al., 2001) durante o acoplamento excitação-contração no músculo esquelético e ativação neuromuscular (LAMB & STEPHENSON, 1994). Atua, ainda, no sistema imunológico como segundo mensageiro (LI et al., 2011).

O Mg também é muito importante na via homeostática, estando relacionado à regulação das concentrações de cálcio no sangue de vacas leiteiras (VAN MOSEL; VAN'T KLOOSTER; MALESTEIN, 1990, 1991). Em uma meta análise, a inclusão de Mg na dieta do pré-parto de vacas (0,45-0,50% do DM) foi comprovada como sendo essencial para auxiliar na prevenção da hipocalcemia pós parto (LEAN et al., 2006). De outro modo, em um estudo, vacas foram suplementadas com fontes dietéticas de Mg no pré-parto, havendo aumento de Mg no sangue. Porém, não houve alteração das concentrações de cálcio no plasma e nem melhora do desempenho dos animais (LENO et al., 2017). Isto sugere que as fontes de Mg dietéticas utilizadas no experimento não foram eficientes. Sendo assim, o uso de outras formas de administração, como a injetável, pode trazer resultados mais satisfatórios.

A suplementação de Mg no pós-parto ajuda no aumento das concentrações de Mg no sangue, auxiliando na recuperação do cálcio plasmático, que normalmente demora a retornar aos valores normais após o parto (RAMOS-NIEVES et al., 2009). Além disso, foi observada menor concentração de Mg (2,10 mg/dl) em vacas no pós-parto em comparação com outros minerais (FADLALLA; OMER; ATTA, 2020). Por isso, a suplementação de Mg no pós-parto é essencial, tanto para a reposição do próprio, como para a reposição de cálcio.

A necessidade dietética recomendada de Mg é de 1,2 a 3 g/kg de MS (NRC, 2001). Porém, durante o final da gestação de vacas leiteiras, há um gasto extra de 0,33 g de Mg diárias (NRC, 2001). O Mg em ruminantes é absorvido no rúmem por transporte ativo, através de um eletro-gradiente químico, e também por transporte passivo, por meio de um gradiente de concentração (EBEL H., 1990). A absorção no fluido ruminal varia de 11 a 37%.

A deficiência desse mineral pode causar duas principais doenças: a tetania das gramíneas e a febre do leite. A primeira é caracterizada pela ocorrência de um sinal clínico de hipomagnesemia em vacas, onde o nível de Mg no cefalorraquidiano diminui para um nível crítico ($<0,7$ mmol / L), em resposta a sua menor concentração no plasma sanguíneo. A partir disso, a atividade sináptica dos neurônios é prejudicada e causa sintomas de excitação e espasmos musculares (tetania) (NUTRITION, 2021).

A febre do leite é definida por hipomagnesemia e menores concentrações plasmáticas de Ca ($<1,4$ mmol / L), que prejudicam a habilidade das vacas em mobilizar o cálcio em resposta à hipocalcemia (NUTRITION, 2021). Esta doença normalmente ocorre no período próximo ao parto, devido ao aumento abrupto nas exigências de

cálcio para produção de leite. Isto tem relação com o Mg, devido ao seu envolvimento na absorção de cálcio no intestino e na mobilização de cálcio dos ossos, com objetivo de manter a homeostase do cálcio no plasma (SUTTLE, N., 2010).

As vacas com maiores concentrações de Mg durante o período de transição tiveram maior probabilidade de retomada da ciclicidade e de prenhez na primeira inseminação, aos 150 e aos 210 dias pós-parto. (JEONG et al., 2018). No mesmo estudo, foram constatadas maiores incidências de distocias, retenção de placenta e claudicação nos grupos de menor concentração de Mg. Com isso, a maior concentração sérica de Mg durante o período de transição, está relacionada a menores ocorrências de distúrbios no peri e pós-parto e também ao melhor desempenho reprodutivo em vacas leiteiras (JEONG et al., 2018).

A reprodução foi beneficiada, também, pela suplementação de óxido de Mg, contendo 40 a 60 % de Mg e fornecendo 20 g/vaca/dia durante o pré-parto. Houve menor intervalo entre partos e o próximo parto bem-sucedido no grupo suplementado com Mg, comparado ao tratamento controle (GAÁL et al., 2004).

Como demonstrado acima, a suplementação de Mg é muito importante para evitar doenças durante o período de transição e melhorar o desempenho reprodutivo de vacas de leite de alta produção. Além disso, este elemento faz parte do metabolismo de cálcio, que é também essencial para as funções no organismo animal.

3.3.3Potássio

O terceiro cátion monovalente mais presente no corpo é o potássio (K). Ele exerce funções extremamente importantes para o funcionamento celular, como regulação da pressão osmótica, transdução de sinais, regulação ácido-base, transmissão de impulsos nervosos e contração muscular. Atua, ainda, como ativador de enzimas e ajuda a metabolizar carboidratos e proteínas (CROPS, 1998;BERG et al., 2017).

A deficiência de K é rara, pois a maioria das forragens é rica neste mineral. Porém, existem fatores que podem predispor a sua diminuição no organismo, como diarreia e poliúria, que aumentam sua excreção. A alta ingestão de sódio e o estado fisiológico de estresse também atrapalham a absorção de K pelo organismo animal (CROPS, 1998).

O primeiro sintoma de deficiência de K é a redução do consumo de ração. Apesar de ser um sinal muito inespecífico, ele pode vir acompanhado de retardo do

crescimento em animais jovens, musculatura enfraquecida, acidose intracelular, distúrbios nervosos e menores frequências cardíacas (CROPS, 1998).

A suplementação de K deve ser feita diariamente, pois não existem reservas volumosas no organismo (CROPS, 1998). A recomendação de adição de K na dieta para vacas é de 1,0 % da MS. Porém, vacas de leite de alta produção podem ter sua exigência de K elevada para 1,9 % da MS da dieta (NRC, 2001).

No pré-parto, a presença de K na dieta normalmente se encontra acima do recomendado, devido à alta quantidade de K presente nas forragens (ALP, 2008), tendo em vista que a alimentação de vacas secas geralmente é baseada exclusivamente em forragem. Estas dietas possuem uma diferença cátion-aniônica muito alta (LIESEGANG et al., 2007), o que pode prejudicar a homeostase do cálcio em vacas periparturientes (RÉRAT et al., 2009). Isto pode fazer com que o animal desenvolva alcalose metabólica e menor capacidade de manter a homeostase de Ca (GOFF; HORST, 1997). Para evitar tais problemas, três semanas antes do parto é indicado que seja feita uma diminuição da quantidade de K na dieta, para cerca de 0,65% da MS correspondente (CROPS, 1998).

A exigência nutricional de K é muito variável, dependendo da quantidade do elemento presente na forragem e do balanço de cátions e ânions da dieta. Sendo assim, é preciso estar atento à composição mineral do volumoso, para que seja feita uma suplementação adequada do elemento, evitando quadros de deficiência ou excesso.

3.3.4 Cobre

O cobre (Cu) é um elemento importante para o organismo animal, atuando como cofator em centenas de reações enzimáticas envolvidas na produção de glóbulos vermelhos, energia, hormônios, colágeno e proteção contra prejuízos oxidativos (MARTA LÓPEZ-ALONSO and MARTA MIRANDA., 2020).

A adição de Cu na dieta de bovinos varia entre 4 e 10 mg/kg de MS (GOONERATNE W. et al., 1989). Para vacas em lactação, são recomendados 11 mg/kg de MS de Cu na dieta (NRC, 2001).

As exigências nutricionais de Cu variam muito em ruminantes, devido às concentrações de outros componentes da dieta, como enxofre (S) e molibdênio (Mo) (JERRY W. et al., 2003). Além disso, a absorção de Cu em ruminantes é baixa (<1,0–10,0%), resultante de interações complexas que ocorrem no ambiente ruminal (UNDERWOOD, et al., 1999).

Pequenas alterações nas concentrações de S e Mo na dieta já são capazes de gerar uma grande mudança na absorção, distribuição ou excreção de Cu no organismo de ruminantes, causando sintomas de deficiência ou toxicidade de Cu (GOONERATNE W. et al., 1989). Somado a isto, os bovinos não possuem mecanismos reguladores eficientes para o Cu (NRC, 2005), o que os torna mais suscetíveis à intoxicação do que outras espécies (SUTTLE N.F., 2010). Isto ocorre devido à falha do controle homeostático da absorção. Assim, quando o animal é exposto a uma maior concentração de Cu na dieta, o organismo promove mecanismos para armazenar o excesso de Cu no fígado, tornando menor a sua excreção pela bile (SUTTLE, 2012; MARTA LÓPEZ-ALONSO and MARTA MIRANDA., 2020).

A deficiência de Cu pode ocorrer de duas formas distintas. A primária ocorre quando a quantidade de Cu na dieta não supre as exigências nutricionais do animal. Já a secundária, ocorre quando a dieta contém altas concentrações de antagonistas de Cu, tornando sua disponibilidade muito baixa (MARTA LÓPEZ-ALONSO and MARTA MIRANDA., 2020). A absorção real de Cu diminui em média 1% quando a concentração de molibdênio aumenta de 1 mg/kg de MS para 5 mg/kg de MS (VAN DEN TOP, A., 2005). Já o enxofre diminui a biodisponibilidade do Cu por meio da formação de sulfeto de cobre insolúvel no rúmem. Na medida em que o teor de enxofre aumenta de 0,2 para 0,4% no feno, o cobre absorvível diminui em 20-30% (MARTA LÓPEZ-ALONSO and MARTA MIRANDA., 2020).

A deficiência de Cu causada pelo excesso desses antagonistas na dieta, principalmente do molibdênio, foi estudada na década de 80, onde foi observado que os mesmos estão relacionados de forma evidente com a subfertilidade de vacas (PHILLIPPO et al., 1987). Mais tarde, Kendall e colaboradores também encontraram infertilidade em rebanhos com deficiência de Cu induzida por molibdênio. Os animais apresentavam pouca demonstração ou falta de estro, além de perda embrionária tardia (sinais de deficiência clínica de Cu). 91,7% desses sinais foram reduzidos pela suplementação de Cu (Kendall et al., 2001).

A suplementação de Cu também diminuiu o número de inseminações por concepção confirmada de 2,5 para 1,7 (controle e vaca tratada com cobre, respectivamente) (MACKENZIE et al., 2001). Vacas que foram suplementadas com Mo, Se e superovuladas, tiveram redução do tamanho dos ovários (DU PLESSIS et al., 1999). A deficiência de Cu pode retardar a puberdade, diminuir a taxa de concepção,

causar morte embrionária precoce e levar a um aumento da ocorrência de retenção de placenta (KUMAR et al., 2011).

O elemento responsável pela menor fertilidade ligada ao Cu é a enzima lisil oxidase, que é essencial para a estabilização da matriz extracelular, sendo responsável pela ligação cruzada de colágeno e elastina (KENDALL et al., 2003). Sua ação acontece através da desaminação oxidativa de grupos peptidil lisil e sua atividade funcional estão diretamente ligadas ao aumento do consumo de Cu na dieta (RUCKER et al., 1998).

O bom funcionamento desta enzima tem relação com o resultado do processamento pós-tradução da lisil oxidase. O Cu vai atuar essencialmente na produção do cofator orgânico presente na enzima. Esta enzima e todas as aminas oxidases contendo Cu possuem peptidil 2,4,5 tri (oxo) fenilalanina em seus centros ativos e estes componentes são produzidos pela oxidação da tirosina catalizada por Cu, que ocorre dentro do Golgi (RUCKER et al., 1998). Consideravelmente, durante o desenvolvimento do folículo ovariano, acontecem mudanças e remodelações importantes na matriz extracelular e a lisil oxidase faz parte deste processo. (RODGERS et al., 1998).

A enzima lisil oxidase é expressa por células da granulosa e o quelato de molibdênio pode bloquear a diferenciação induzida por FSH pelas células da granulosa *in vitro*. Este efeito pode ser revertido pela suplementação de Cu (KENDALL et al., 2003). O estudo confirma que o Cu influencia indiretamente no desenvolvimento do folículo ovariano, através da atividade da lisil oxidase, e interage com as células da granulosa para produção de estrogênio.

O Cu é um mineral-traço que precisa de muita atenção quanto a quantificá-lo na dieta, devido à facilidade em se tornar deficiente ou tóxico para ruminantes. Deve ser fornecido, pelo menos, em suas quantidades mínimas. Porém, esta não é uma tarefa fácil, devido à variação da presença dos minerais antagonistas que são consumidos na MS, dificultando a mensuração precisa de sua ingestão.

3.3.5 Fósforo

O Fósforo (P) é o segundo mineral mais abundante do corpo, juntamente com o Cálcio, e sua principal função é a mineralização da matriz óssea (MCDOWELL, 1992). Este mineral é essencial para o crescimento do animal jovem e para a manutenção da saúde na fase adulta (Cohen, 1980). Participa ativamente do fornecimento de estrutura e fortalecimento dos ossos, tecidos moles e paredes celulares e do sistema de tampão de

fosfato (GEORGIEVSKII, 1982; KIM et al., 2017). Essas funções acontecem a partir da ação do P na formação de moléculas de trifosfato de adenosina (ATP), fosfolipídios e fosfoproteínas (GEORGIEVSKII, 1982).

As células vivas usam o fosfato (PO₄³⁻) para transportar energia celular na forma de ATP. Esta molécula é importante, pois, quase todo processo celular que usa energia a obtém na forma de ATP. Além disso, o ATP é importante para a fosforilação, um evento regulatório chave nas células (KIM et al., 2017). Por isso, quando ocorre uma deficiência de P, as células dos tecidos são as primeiras a serem afetadas, devido à falta de energia na forma de ATP (SILVA FILHO et al. 1997).

A absorção de P acontece por todo o trato intestinal e é dividida em processo paracelular passivo e processo transcelular ativo saturável (WILKENS, 2020). O P mantém sua homeostase através da reciclagem salivar e excreção fecal, sendo condizente a quantidade de P consumida e absorvida (NRC, 2001). A reciclagem de P acontece através da necessidade do sistema tampão fosfato, por meio do P no rumem. Durante a fermentação e a síntese de proteínas microbianas, altas quantidades de P são secretadas com a saliva e reabsorvidas no trato digestivo inferior (WILKENS, 2020).

As necessidades de P recomendadas pelo NRC (2001) variam de 0,32% da MS para vacas produzindo 25 kg/dia de leite a 0,38% para vacas de alta produção, com 54 kg/dia de leite. Normalmente, a suplementação de P não é e não deve ser excedida, devido ao elevado custo e também por sua excreção excessiva contribuir para poluição do meio ambiente, como eutrofização dos cursos de água (WANG, C. et al., 2014).

A suplementação acima das exigências não trás benefícios produtivos. Em um estudo, reduzir o P na dieta de 0,48 para 0,38% por 2 anos não prejudicou a produção de leite ou o desempenho reprodutivo (WU; SATTER, 2000).

Em casos de deficiência de P em ruminantes, o primeiro sintoma é a redução da ingestão de alimento, entre 10 a 50%. Isto ocorre devido à menor síntese de proteínas pelos microorganismos, à diminuição da utilização de fibras pelos mesmos e também à redução da disponibilidade de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPc). Assim, uma deficiência mínima de P já é o suficiente para causar problemas na conversão alimentar, redução da produção de leite e infertilidade (MCDOWELL, 1999; SUTTLE, 2010).

A menor inclusão de P na dieta afeta a reprodução de vacas leiteiras, causando diminuição nas taxas de concepção, redução da atividade ovariana, cistos foliculares e anestro pós-parto (HURLEY & DOANE, 1989). A explicação para a menor fertilidade

na falta de P é a sua participação na síntese de fosfolipídios e de AMPc (HURLEY & DOANE, 1989).

Outra consequência muito comum da deficiência de P em vacas leiteiras é a hipofosfatemia, que ocorre próxima ao parto e no início da lactação, devida a alta demanda de P para o desenvolvimento fetal (o feto necessita de até 10g de P por dia para o seu crescimento) e para a produção de leite (MACWILLIAMS et al., 1982; GRÜNBERG, 2014). Esta disfunção foi associada à síndrome da vaca em declínio, hemoglobinúria pós-parto, inapetência, depressão do consumo de ração, redução da produção de leite, fertilidade e aumento do risco de morbidade em vacas (MACWILLIAMS et al., 1982; Call JW et al., 1987; GRÜNBERG, 2014).

A hipofosfatemia causa declínio na concentração de ATP nos eritrócitos, sendo este o fator primário e essencial que resulta em anemia hemolítica e hemoglobinúria em vacas (OGAWA E. et al., 1989). Casos subclínicos podem acometer mais de 50% das vacas leiteiras no período próximo ao parto (MACRAE et al., 2006).

O P é um dos principais minerais do organismo animal e sua inclusão na dieta deve ser feita de forma consciente para evitar excreção excessiva e poluição ambiental. Também se deve ter muita atenção a sua suplementação durante o período final de transição em vacas leiteiras, afim de não prejudicar a produção de leite e o próximo ciclo reprodutivo.

3.4 Suplementação mineral

Como exposto nos tópicos acima, os minerais apresentam funções muito importantes em ruminantes. São necessários, principalmente, para a otimização da atividade microbiana no rúmen e sua deficiência pode causar menor digestibilidade dos alimentos (NRC, 2000). No geral, a suplementação inadequada dos minerais resulta em problemas como baixa produção de carne e leite, falhas reprodutivas, crescimento retardado e abortos (BERCHIELLI et al., 2011).

A suplementação mineral deve ser feita considerando vários aspectos importantes, como a região geográfica onde o rebanho está inserido, o nível de produção animal, características ambientais (temperatura, umidade, etc.) e o custo de produção (SILVEIRA, 2017).

A forma de suplementação mineral mais utilizada é a sua inclusão na dieta na forma de mistura. Porém, existem vários desafios neste manejo, como as quantidades insuficientes dos elementos em misturas minerais comerciais (MMC) (SILVEIRA,

2017) e a diluição inadequada das fontes de alguns minerais, ou seja, adição de substâncias desnecessárias junto às fontes. Isso acontece com frequência com o sulfato de cobalto, sendo que algumas empresas disponibilizam esta informação de diluição e outras não. Desta forma, podem ocorrer deficiências de Cu nos animais, sem que o proprietário tenha consciência do real motivo do ocorrido (SILVEIRA, 2017).

Os animais podem, ainda, não ingerir a quantidade de mineral necessária, devido à dificuldade de acesso ao cocho, causado por hierarquia no rebanho ou dimensões inadequadas do mesmo (SILVEIRA, 2017). Além disso, sabe-se que alguns minerais podem apresentar dificuldade em serem absorvidos adequadamente devido à interação com outros minerais antagonistas a nível ruminal (SUTTLE, 1986).

Assim sendo, a suplementação mineral deve ser feita durante todo o ciclo produtivo do animal, em especial para vacas leiteiras na fase de transição, pois neste período ocorrem grandes alterações nas concentrações de minerais no sangue (GOFF 2006). O aumento da necessidade nutricional no terço final da gestação, a produção do colostro e a diminuição do consumo de MS (GRUMMER 1995, DRACKLEY 1999) resultam em concentrações séricas de minerais menores do que as concentrações fisiológicas (GOFF 2006). Tudo isso pode levar à incidência de hipocalcemia, hipofosfatemia, hipomagnesemia e outras doenças relacionadas à deficiência de minerais em vacas leiteiras (GOFF 2008, DUFFIELD & LEBLANC 2009, GOFF 2009).

Portanto, os minerais são nutricionalmente essenciais e devem estar presentes em quantidades adequadas e equilibradas na dieta. O fornecimento da suplementação junto com a mistura da dieta possui alguns entraves, que podem ser solucionados pela suplementação adicional de forma injetável, principalmente no período de transição para vacas leiteiras.

3.4.1 Suplementação mineral injetável

A suplementação injetável pode ser constituída por um único mineral, mais de um mineral e/ou combinada com vitaminas (OMUR et al., 2016). A aplicação pode ser feita por via subcutânea ou intramuscular e os minerais vão diretamente para a corrente sanguínea, sem nenhum tipo de interferência na absorção e biodisponibilidade.

A principal vantagem da suplementação mineral injetável é permitir o fornecimento de minerais em quantidades específicas, individualmente e sem interações abrangentes com outros minerais dentro do sistema gastrointestinal (ARTHINGTON,

J.D. et al., 2004; POGGE, D.J. et al., 2012). Outra vantagem de suma importância é a praticidade de administração apenas em animais que tenham tal necessidade ou que estejam ultrapassando algum período crítico, como o período de transição para vacas leiteiras (ABUELO et al., 2014).

A utilização de selênio injetável próximo ao parto em vacas leiteiras aumentou as taxas de fertilização e prenhez, diminuiu o número de dias em aberto e resultou em menor incidência de cistos ovarianos e retenção de placenta (GRAHAM, 1991). Em um estudo mais recente, vacas que receberam suplementação de oligoelementos injetáveis no período de transição demonstraram maior taxa de prenhez (YAZLIK et al., 2021). Sales e colaboradores (2011) também encontraram resultados positivos deste tipo de suplementação nas características reprodutivas de vacas leiteiras.

Por outro lado, Vanegas et al. (2004) encontraram resultados diferentes, em que a aplicação de duas doses de um suplemento mineral injetável, antes e depois do parto, em um rebanho leiteiro de manejo intensivo, resultou na diminuição significativa do desempenho reprodutivo.

Vacas leiteiras que receberam suplemento mineral injetável comercial + Se, Cu de 1 mL/45 kg de peso corporal e cálcio 50 UI na dosagem de 100-150 mL/500 kg de peso corporal, durante seis semanas, ganharam mais peso em comparação ao grupo não suplementado. Também foram observados casos de retenção de placenta e distocia ao parto em vacas não suplementadas (MOLEFE; MWANZA, 2020).

A suplementação injetável de microminerais em vacas no pós-parto aumentou as concentrações de Cu e Se por um período de 15 dias e de Zn e Mn no plasma por várias horas, sendo estes minerais responsáveis por várias funções no metabolismo animal (POGGE et al., 2012).

O uso de mineral injetável distribuído em duas doses (quatro semanas antes e quatro semanas depois do parto) em vacas leiteiras resultou em menor incidência de mastite (22%) nos primeiros 30 dias de lactação, comparada às vacas que não receberam suplementação. Houve também maior taxa de concepção, que aumentou de 18% para 20%, após a suplementação (MITCHELL., 2003).

A produção e a composição do leite não sofreram melhorias com a suplementação mineral injetável (MACHADO et al., 2013; GANDA et al., 2016; RAMOS et al., 2012).

Deste modo, o uso de minerais injetáveis é importante para melhorar alguns aspectos da produtividade e, principalmente, o desempenho reprodutivo de vacas

leiteiras em transição. A literatura não é unânime e, com isso, são necessários mais estudos para investigar os efeitos do uso de minerais injetáveis em vários parâmetros produtivos e reprodutivos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Preceitos éticos

Este experimento foi realizado seguindo as diretrizes de bem-estar animal, sendo submetido e aprovado pelo Comitê de Ética de Uso de Animais, protocolo nº 009/2021 da Universidade Federal de Juiz de Fora, em anexo.

4.2 Descrições dos métodos

4.2.1 Área de estudo/Local

O estudo foi realizado em uma fazenda comercial (Fazenda Palmito), localizada no município de Boa Esperança – MG, no período de 01/01/2021 a 01/05/2021. O clima do município é classificado como subtropical de inverno seco (com temperaturas inferiores a 18°C) e verão quente (com temperaturas superiores a 22°C). A propriedade possui instalação do tipo *free-stall*, camas de areia e corredores de alimentação. O local conta com sistema de climatização automático, com aspersores e ventiladores em todas as instalações onde as vacas em lactação e no período seco ficam alojadas.

4.2.2 Animais experimentais

A fazenda possui 1020 vacas da raça Holandês preto e branco (HPB) de alta produção em lactação, com média de produção de 38 kg de leite por dia, ordenhadas três vezes ao dia (4:00h, 12:00h e 20:00h). As vacas selecionadas para o estudo atenderam aos seguintes requisitos: rebanho leiteiro comercial de vacas da raça Holandesa; animais criados respeitando boas práticas de manejo; animais monitorados em relação aos diagnósticos veterinários (reprodutivos e clínicos) e com registros individuais de produção de leite, contagem de células somáticas (CCS), problemas sanitários e reprodutivos.

Critérios de inclusão- todos os animais selecionados para participarem do estudo foram vacas leiteiras primíparas e multíparas da raça HPB, de alta produção.

Critérios de exclusão- todas as vacas que apresentaram algum problema sanitário, ou seja, manifestaram sinais de inflamação ou dor; vacas com quadros de infecções; e vacas com intenso ectoparasitismo (carrapatos, míases ou infestações por *Dermatobia spp.*).

Exclusão pós-seleção- foram excluídos do projeto ou retirados do plantel os animais que iniciaram o experimento e sofreram aborto antes da data prevista para o parto, ou animais cujos dados estavam incompletos.

4.2.3 Desenho experimental e tratamentos

Foi utilizado um delineamento de blocos inteiramente ao acaso, com cinco blocos divididos em dois tratamentos e uma repetição, sendo 54 vacas por tratamento, totalizando 108 animais experimentais. Foram selecionadas para o experimento vacas HPB multíparas e primíparas, com diferentes paridades, produção de leite e previsão para o parto, seguindo todos os critérios citados no tópico acima. As vacas foram divididas em cinco blocos de acordo com a data prevista para o parto, produção de leite e paridade e dentro de cada bloco foram distribuídas em dois grupos, o primeiro chamado de tratamento (TRAT) e o segundo de controle (FOSF).

No grupo TRAT foram aplicados 10 mL do suplemento mineral da marca comercial (Fosfosal®, Virbac, França) com a seguinte composição a cada 100 mL: glicerofosfato de sódio (5.5H₂O: 14 g), fosfato monossódico (2H₂O: 20,1g), cloreto de cobre (2H₂O: 0,4g), cloreto de potássio (0,6g), cloreto de magnésio (2,5g) e selenito de sódio (0,24 g). O suplemento foi aplicado em três momentos diferentes: aos 30 (± 15) dias antes do parto, ao parto e 30 (± 15) dias após o parto.

A primeira aplicação do produto foi realizada nas vacas alojadas na instalação destinada ao alojamento de vacas no pré-parto, evitando estresse ao locomovê-las de um local para o outro. Além disso, o número de pessoas para a realização da aplicação também foi reduzido, a fim de evitar uma situação estressante aos animais. A segunda aplicação foi realizada logo após o parto de cada vaca, com intervalo máximo de dois dias após o nascimento do bezerro, utilizando tronco de contenção presente no local em que as vacas ficam alocadas especificamente para os partos. A terceira aplicação foi feita no tronco de contenção localizado próximo à sala de ordenha, sempre às 9:00 horas (logo após a ordenha), para evitar variações.

A aplicação foi feita utilizando seringa de 10 mL e agulha de 25x8 gauge, no músculo quadrípedesfemorald animal. Durante e após o processo de aplicação do suplemento mineral, houve avaliação do ECC, coleta de sangue e avaliação das estruturas ovarianas.

4.2.4 Manejo alimentar e sanitário

As vacas receberam uma dieta específica fornecida nafazenda, de acordo com a categoria e a exigência de cada lote de animais. A dieta é baseada em silagem de milho, silagem de sorgo e tifton verde cortado diariamente. A distribuição da dieta se dá por meio da integração do vagão forrageiro com a balança eletrônica, com controle em tempo real. A água é fornecida em bebedouros espalhados por toda instalação, *ad libitum*.

As vacas são mantidas em quatro lotes para alimentação de acordo com a produção, o número de dias em lactação, o ECC e a situação reprodutiva, sendo destinado um lote para as vacas de primeira cria. As vacas do pré-parto são suplementadas com concentrado comercial específico para este período. Antes do período do estudo as vacas foram vacinadas contra aftosa, clostridioses, raiva e as principais doenças reprodutivas (rinotraqueíte infecciosa bovina, diarreia viral bovina, leptospirose e campilobacteriose).

4.2.5 Manejo reprodutivo

Após o parto as vacas passaram por um período voluntário de espera de 30 dias, logo em seguida, foi realizada uma avaliação do trato reprodutivo para identificar se a vaca estava apta a iniciar o protocolo de IATF, ou seja, se a involução uterina ocorreu normalmente. Caso o animal apresentasse alguma alteração, ele foi medicado de acordo com sua necessidade e adiado o início do protocolo. Depois de sete dias, foi feita outra avaliação uterina e se a vaca que apresentasse útero recuperado e adequado recebia o seguinte protocolo de IATF: D0 – 2 mL de benzoato de estradiol (Gonadiol® - Zoetis), 1 mL de GnRH (Fertagyl® - MDS Saúde Animal Brasil) e inserção de 2 implantes intravaginais de progesterona (CIDR®), sendo um de primeiro uso e o outro de terceiro uso; D7 – 5 mL de prostaglandina (Lutalyse® - Zoetis) e retirada do primeiro CIDR; D9 – 5 mL de prostaglandina (Lutalyse® - Zoetis), 0,5 mL de cipionato de estradiol (ECP® - Zoetis) e retirada do segundo CIDR; por fim, no D11, será feita a IATF.

Após 30 dias do final do protocolo de IATF foi feito o primeiro diagnóstico de gestação (DG). O segundo DG foi feito aos 60 dias e o terceiro aos 120 dias, por meio da ultrassonografia transretal. Qualquer diagnóstico negativo foi seguido por um novo protocolo de IATF e assim sucessivamente.

4.2.6 Produção de leite

A produção de leite de todas as vacas do experimento foi monitorada diariamente através do programa DELpro® - DeLaval, Brasil, utilizado na fazenda. Assim, foi calculada a produção total e a média de cada vaca, a partir da data do parto até o segundo diagnóstico de gestação aos 60 dias.

4.2.7 Escore de condição corporal

O ECC foi avaliado em quatro momentos diferentes: 30 (± 15) dias antes do parto, ao parto, 30 (± 15) dias após o parto e no D0 da IATF. Foi realizada por três pessoas treinadas para evitar variações. A pontuação ao parto foi realizada pelo menos um dia após o parto, para garantir que não houvesse interferência do relaxamento das regiões anatômicas durante o parto, principalmente os ligamentos da base da cauda. O sistema de pontuação utilizado foi uma escala de cinco pontos, com incrementos de um quarto de ponto, em que as vacas pontuadas com 1 (um) foram consideradas emaciadas, enquanto vacas pontuadas com 5 (cinco) foram consideradas obesas (EDMONSON et al., 1989). As regiões anatômicas avaliadas e consideradas na medição do ECC incluíram: a região de costelas, os processos espinhosos da coluna vertebral, os processos transversos da coluna vertebral, a fossa paralombar, a ponta do ílio, a tuberosidade isquiática, as vértebras coccígeas da base da cauda, o sacro, as vértebras lombares. A avaliação do ECC foi realizada nas vacas em posição de estação.

4.2.8 Amostragem de sangue

As amostras de sangue foram coletadas nos seguintes momentos do estudo: 30 (± 15) dias antes do parto, ao parto, 30 (± 15) dias após o parto, no D0 da IATF, no D8 da IATF e 10 dias após a IATF. As coletas foram realizadas em um subgrupo de 27 animais de cada tratamento, para a análise das concentrações de IGF-1 e P4 no plasma sanguíneo.

O sangue foi coletado da artéria/veia coccígia, por meio de agulha 25x8gauge, perpendicularmente e a uma distância de aproximadamente 10 centímetros da base da cauda, sendo a profundidade de inserção de 0,5-1,0 cm. As amostras de sangue foram armazenadas temporariamente em tubos de coleta de sangue, com EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético, fator anticoagulante do sangue), de 4 mL, com a finalidade de obter amostras de plasma. Imediatamente após as coletas, os tubos foram acondicionados em uma caixa térmica com gelo, à temperatura de -5°C por 3 horas, que é o tempo de locomoção da fazenda até o laboratório. O plasma foi obtido por centrifugação do sangue a 2.500 rpm por 15 minutos. Em seguida, foi transferido para microtubos, identificado e congelado em freezer a -20 °C até o dia das análises.

4.2.9 Avaliação de estruturas ovarianas

As estruturas ovarianas foram avaliadas no D7 do protocolo de IATF e no D10, após a IATF. As variáveis respostas de medida foram a o diâmetro do folículo pré-ovulatório (DFP) no diada remoção do primeiro CIDR (D7 do protocolo de IATF) e o diâmetro do corpo lúteo (DCL) 10 dias após a IATF. DFP e DCL foram medidos por ultrassonografia em tempo real (Mindray – Probe linear de 5 MHz). As estruturas foram avaliadas nos ovários direito e esquerdo, nos animais que fazem parte do subgrupo de coleta de sangue. A avaliação das estruturas sempre foi feita durante o manejo reprodutivo da fazenda, logo após a primeira ordenha, a partir das 6:00 horas da manhã, para evitar variações. O responsável pela realização da avaliação dessas estruturas foi o médico veterinário que coordena o manejo reprodutivo da fazenda.

4.3 Análises laboratoriais

As concentrações de P4 e IGF-1 no plasma foram analisadas no laboratório de pesquisa animal localizado no departamento de Zootecnia, na Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.3.1 IGF-1

A determinação do IGF-1 foi realizada seguindo as instruções do fabricante do kit comercial ELISA, Biossay Technology®, 100 North Point Drive, Lake Forest, California, Estados Unidos, em um analisador bioquímico automático (Multiskan GO,

Thermo Scientific). As amostras de plasma utilizadas para encontrar as concentrações de IGF-1 foram coletadas no D0 e no D8 da IATF.

O kit do IGF-1 usa a técnica ELISA de sanduíche duplo, sendo baseado nas características do antígeno, testado com mais de duas valências, podendo identificar o anticorpo revestido e o anticorpo de detecção ao mesmo tempo. Possui também uma placa com o anticorpo pré-revestido, sendo um anticorpo monoclonal bovino IGF-1 e o anticorpo de detecção, que é o anticorpo policlonal marcado com biotina. As amostras e o anticorpo de marcação de biotina foram adicionados aos poços da placa ELISA e lavados com PBS ou TBS. Em seguida, os conjugados de Avidina-peroxidase foram adicionados aos poços de ELISA em uma determinada ordem.

O substrato formado acima se transforma em azul na peroxidase catalítica e finalmente se transforma em amarelo sob a ação do ácido. A profundidade da cor e os fatores de teste nas amostras estão positivamente correlacionados.

4.3.2 Progesterona

A determinação da P4 foi realizada seguindo as instruções do fabricante do kit comercial PROGESTERONE ACCU-BIND Elisa Microwells®, Belo Horizonte, Brasil, em um analisador bioquímico automático (Multiskan GO, Thermo Scientific). As amostras de plasma utilizadas para encontrar as concentrações de P4 foram coletadas no D0 da IATF e 10 dias após a IATF.

O kit Monobind Progesterone ELISA usa um anticorpo progesterona e não requer extração de amostra de soro ou plasma. Esse teste possui baixa reatividade cruzada com outras ocorrências naturais e esteroides. A partir de várias referências de plasmas de conhecidas concentrações de progesterona, permite a construção de um gráfico de atividade e concentração de P4. Assim, em comparação de resposta à dose curva, a atividade de um espécime desconhecido pode ser correlacionada com a concentração de progesterona.

4.4 Análises estatísticas

Todos os procedimentos estatísticos foram submetidos a procedimentos de análises do Jmp Pro 12 do SAS®. Ao final do experimento, após obtenção dos dados e verificação das premissas estatísticas de normalidade e homogeneidade das variâncias, os dados referentes à eficiência reprodutiva foram analisados após normalização

por análise de variância, regressão logística, ou qui-quadrado conforme a natureza da distribuição e das variáveis. As medidas repetidas no tempo, tais como ECC e hormônios nos diferentes períodos foram submetidas ao procedimento de modelos mistos, sendo considerados os efeitos fixos de tratamento, período e interação, sendo a concentração hormonal e o ECC inicial incluídos como covariáveis e o erro aleatório animal (tratamento). As médias foram comparadas pelo teste de t de Student. O valor de $p < 0,05$ foi considerado como diferença e $p < 0,10$ como tendência.

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Produção de leite

A produção da lactação prévia não diferiu entre os tratamentos ($P = 0,97$), indicando uma homogeneidade entre os animais, ou seja, a bloqueagem foi realizada de forma correta (Tabela 1). Assim, não haverá interferência do potencial produtivo em outros parâmetros ao longo do experimento.

A média da produção de leite diária durante o período experimental não diferiu ($P = 0,71$) entre os grupos (Tabela 1). O mesmo resultado foi encontrado por Machado et al., (2013), que observaram que o tratamento de três aplicações do suplemento mineral parenteral durante a gestação e pós-parto não causou efeito na produção média diária. A produção média de leite durante os primeiros seis meses de lactação não diferiu entre as vacas do grupo controle (43,9 kg/d) e do grupo tratado (43,4 kg/d) com 7 ml de suplemento mineral injetável em vacas holandesas de alta produção (Silva et al. 2022). Não foi reportado nenhum trabalho em que a variável produção de leite foi alterada com o uso de suplementação injetável em vacas, porém, existem resultados de variações na composição do leite. Em um estudo avaliou-se os efeitos de um suplemento mineral injetável contendo fósforo, selênio, potássio, magnésio e cobre nas respostas fisiológicas, produção e composição do leite de vacas Holandesas expostas ao estresse térmico. Não houve efeito ($P = 0,37$) da suplementação mineral na produção de leite, mas houve aumento ($P = 0,03$) das porcentagens de sólidos não gordurosos, proteína e lactose e da densidade do leite (RÍO-AVILÉSA et al., 2021). Sendo assim, é interessante avaliar em futuros trabalhos a composição do leite para confirmar e analisar os dados encontrados no estudo acima.

Tabela 1 - Produção de leite de vacas HPB em lactação com e sem suplementação mineral parenteral.

	Tratamentos		P-valor
	CONT	FOSF	
Lactação prévia (kg) (n)	11.491,30 ± 419,97 (44)	11.515,34 ± 491,09 (44)	0,97
Leite diário (kg/dia)	33,60 ± 1,01 (44)	33,28 ± 1,01 (44)	0,71

*Valores diferem se $P \leq 0,05$

5.2 Escore de Condição Corporal

O período (1, 2, 3 e 4) influenciou ($P < 0.00001$) o ECC, pois, ao longo do período de 30 dias antes do parto até o D0 do protocolo de inseminação artificial, quando este parâmetro foi avaliado, houve uma queda gradual da condição corporal nos dois grupos (Tabela 2). Isso indica que, mesmo os animais passando por um desafio de perda de ECC, o grupo que recebeu Fosfosal® foi mais eficiente, devido aos resultados positivos encontrados na reprodução. Porém, não houve efeito do tratamento ou da interação tratamento x período.

Esse resultado é consistente com a maioria dos estudos encontrados na literatura, porém, foram feitos predominantemente em vacas de corte. Em um estudo, o objetivo era avaliar os efeitos das injeções pré e pós-parto de uma solução mineral traço no ECC em vacas de corte do início do experimento ao parto e da criação à IA. Contudo, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos (MUNDELL et al., 2012).

Gunter et al., (2003) e Doyle et al., (1988) também investigaram o efeito da suplementação mineral injetável na condição corporal de vacas de corte e não encontraram diferenças significativas entre os grupos.

Molefe; Mwanza, (2020) avaliou o peso corporal de vacas da raça Bonsmaras suplementadas com três injeções de MULTIMIN™ + Se + Cu na dosagem de 1 ml/45 kg PC e Calci 50 pi na dosagem de 100–150 ml/500 kg de peso corporal em um intervalo de 6 semanas durante o meio-final da gestação. O ganho de peso corporal foi significativamente ($P < 0,05$) maior no grupo experimental quando comparado ao grupo não suplementado. Apesar de não ser avaliado o ECC, o peso corporal pode ser utilizado como referência para esse parâmetro e o resultado positivo pode ser explicado pelo sistema de criação extensivo e a deficiência desses minerais na pastagem consumida pelos animais.

No nosso estudo houve apenas variação do escore nos diferentes períodos, o que já é normalmente esperado, mas o efeito do tratamento não foi significativo. Esse

resultado mostra que ambos os grupos mobilizaram gordura para atender à exigência da lactação. A produção por dia não diferiu entre os grupos, então era de se esperar que não houvesse diferença na perda de ECC. Porém, em estudos futuros é necessário fazer um balanço do status de minerais no organismo de um grupo de animais, para avaliar o armazenamento desses nutrientes e seus mecanismos de ação.

Tabela 2- ECC em vacas de leite HPB durante o período de transição.

Período	Escore⁵	n	P-valor
1 ¹	3,46	108	0,055*
2 ²	3,07	108	0,055*
3 ³	2,84	108	0,055*
4 ⁴	2,66	108	0,056*

¹1 correspondem ao período de 30 (\pm 15) antes do parto.

²2 correspondem ao período do parto.

³3 correspondem ao período de 30 (\pm 15) depois do parto.

⁴4 correspondem ao período do D0 do protocolo de IATF.

⁵Escore é os valores das médias dos quadrados mínimos (erro padrão da média) dos escores medidos nos grupos CONT e FOSF em um determinado período.

*Valores diferem se $P \leq 0,05$.

5.3 Taxa de prenhez e número de serviço por concepção

A taxa de prenhez aos 30 e 60 dias foram significativamente maiores para o grupo FOSF, com respectivamente, 32, 58 % para o CON e 48,94 % para o grupo FOSF e 59,57% CON e 83,33 FOSF (Tabela 3).

O número de serviços por concepção foi menor para o grupo suplementado e a taxa de prenhez foi maior ($P=0,043$) no grupo FOSF (Tabela 3).

Os estudos sobre o efeito da suplementação supranutricional parenteral no desempenho reprodutivo são variáveis, pois existem autores que relatam efeitos positivos (SALES et al., 2011), negativos (VANEGAS; REYNOLDS; ATWILL, 2004; SILVA et al., 2022) ou neutros (STAHLHUT et al., 2006; MACHADO et al., 2013) no desempenho reprodutivo.

O risco de prenhez também foram maiores em um estudo onde as vacas foram suplementadas com oligoelementos (zinco, manganês, cobre, selênio) e/ou vitamina ($P < 0,05$). Já em outro estudo semelhante realizado por MACHADO et al., (2013), a razão de risco para prenhez por grupo de tratamento foi de 1,008 (0,83–1,22) e os intervalos médios entre parto e concepção para os grupos controle e tratamento foram de 110 e

111 dias, respectivamente ($P=0,61$). Logo, não obtiveram diferença significativa na reprodução desses animais.

Vanegas et al., (2004), relataram que a quantidade e período das aplicações de suplemento mineral podem afetar de maneira diferente a reprodução, onde, uma injeção pós-parto não afetou o desempenho reprodutivo da vaca, mas duas injeções de minerais (uma antes e outra após o parto) reduziram o desempenho reprodutivo. Esse resultado é controverso, pois, no nosso estudo foram aplicadas três doses do suplemento mineral (10 mL) e, de acordo com Vanegas e outros autores, quanto maior a suplementação de minerais-traço (zinco, manganês, selênio, cobre) acima das necessidades recomendadas pelo NRC, maiores os efeitos potencialmente negativos na reprodução.

Outro fator importante que deve ser considerado é que esse estudo foi feito em condições favoráveis, pois o rebanho era criado em um sistema de produção com excelente ambiência, bem-estar, sanidade e dieta balanceada, além de os animais serem geneticamente superiores para produção de leite. Sendo assim, os resultados positivos encontrados no desempenho reprodutivo se sobressaem aos demais estudos feitos em um sistema de produção de baixa e média qualidade.

Contudo, são necessárias mais pesquisas para afirmar se os dados encontrados aqui são reproduzíveis em diferentes sistemas de produção e localizações geográficas e também para elucidar quais os mecanismos responsáveis pela taxa de prenhez ser maior em animais supra suplementado com minerais por via subcutânea. Além disso, nenhuma amostra de fígado ou de sangue foi coletada para analisar a porcentagem de minerais que permitiria estabelecer deficiência ou toxicidade potenciais, que seriam capazes de esclarecer tais resultados.

Tabela 3 - Parâmetros reprodutivos de vacas de leite HPB sem e com suplementação mineral parenteral injetável.

	Tratamentos		P-valor
	CONT	FOSF	
Serviço/concepção (n)	2,80 ± 0,10 (116)	2,20 ± 0,09(96)	0,04*
Taxa de prenhez30 dias, % (n/n)	32,58 (43/132)	48,94 (46/94)	0,01*
Taxa de prenhez60 dias, % (n/n)	59,57(28/47)	83,33 (35/42)	0,01*

*Valores diferem se $P \leq 0,05$

5.4Estruturas ovarianas

Houve tendência de efeito de grupos sobre o diâmetro do folículo dominante (FD), onde o FD no grupo tratamento foi superior ($P = 0,07$) ao grupo controle (Tabela

4). O diâmetro do corpo lúteo (CL) não diferiu ($P = 0,40$) entre os tratamentos (Tabela 4).

Para que ocorra a fecundação e o estabelecimento de uma gestação, é importante o desenvolvimento de folículos saudáveis e a ovulação de oócitos de qualidade (MOHKTARI et al., 2016). O diâmetro do folículo aponta a capacidade e maturidade folicular que se encontra. Por isso, sua medição é de extrema importância, principalmente alguns dias antes da realização da IA, já que essa mensuração está associada com maiores concentrações de estradiol, chances de ovulação e taxas de prenhez (SÁ FILHO et al. 2010).

Os folículos ovulatórios de maior diâmetro liberam altas concentrações de estradiol pré-ovulatório, proporcionando um ambiente uterino favorável, facilitando o transporte espermático, aumentando as chances de fertilização e, conseqüentemente, beneficiando a taxa de concepção (SÁ FILHO et al., 2012) e de prenhez (RICHARDSON et al., 2016). Apesar do número baixo de animais, o maior diâmetro do FD no grupo tratado com Fosfosal® pode estar associado com o seu efeito positivo sobre a reprodução de vacas leiteiras de alta produção nesse estudo. Existem vários estudos correlacionando os dois fatores, sendo que vários autores afirmaram que folículos pré-ovulatórios maiores têm sido relacionados ao sucesso na taxa de prenhez de bovinos obtidos em protocolos de IATF (MACHATKOVA et al., 2004. PERRY et al., 2007; SÁ FILHO et al., 2010; VASCONCELOS et al., 2001; RICHARDSON et al., 2016).

Porém, o único entrave está relacionado ao número de animais utilizados neste presente estudo, que foi inferior aos dos demais trabalhos citados. Contudo, essa correlação ainda pode ser válida, já que foi o único parâmetro positivo que pode ter otimizado a taxa de prenhez do grupo suplementado.

O maior diâmetro dos folículos do grupo suplementado pode ser explicado pelo conteúdo do meio bioquímico do ambiente durante o período em que eles se desenvolveram a partir do *pool* de folículos primários (YAZLIK et al., 2021). Esse ambiente foi influenciado pela ação dos minerais suplementados durante o período pré e pós-parto. Os folículos provavelmente foram afetados pelos fatores metabólicos e imunológicos modulados pelos minerais presentes na suplementação comercial, modificando seu desenvolvimento através do aumento da diferenciação celular e posteriormente a fertilização (FAIR, 2010).

O selênio promoveu a eliminação de radicais livres presentes nas células dos folículos através de sua função antioxidante pela ação da enzima superóxido dismutase, transformando o radical superóxido em peróxido de hidrogênio, que é menos tóxico (GALADARI, S et al., 2017). Assim, o Se provavelmente pode ter impactado positivamente na atividade imunológica, não apenas diretamente nos folículos, como também no ambiente em que eles se desenvolveram, diminuindo o estresse oxidativo e seus problemas associados.

Além disso, o Se age inibindo a produção de óxido nítrico nas células (ajuda na esteroidogênese e controla a apoptose das células da granulosa), aumentando a multiplicação celular de pequenos folículos e elevando a síntese de estrogênio pelos mesmos (FAES et al., 2009; STARBUCK; DAILEY; INSKEEP, 2004). Tudo isso pode ter motivado o aumento da taxa de prenhez no grupo tratado.

O magnésio participa de fatores imunológicos como segundo mensageiro e atua na regulação das concentrações de cálcio no sangue (LI et al., 2011). Isso pode ter auxiliado o Se no fortalecimento do sistema de defesa do organismo. Estudos mostram que as vacas com maiores concentrações de Mg durante o período de transição tiveram maior probabilidade de retomada da ciclicidade e de prenhez na primeira inseminação, aos 150 e aos 210 dias pós-parto, demonstrando sua ação benéfica. (JEONG et al., 2018).

O efeito do cobre sobre os folículos já é estudado há muito tempo, sendo que tal elemento atua no desenvolvimento dos folículos através da ação da enzima lisil oxidase, que promove mudanças e remodelações importantes na matriz extracelular dos folículos (RODGERS et al., 1998). Esse pode ter sido um dos minerais que mais influenciaram o aumento do diâmetro dos folículos no grupo suplementado, por ser um fato comprovado. Já o fósforo pode ter aumentado o fornecimento de energia para as células dos folículos na forma de ATP e, assim, melhorado a fosforilação das células foliculares.

Portanto, o maior diâmetro dos folículos no presente estudo se deve às ações das funções bioquímicas e imunológicas dos minerais que compõem o suplemento mineral comercial e, como resultado final, houve melhor taxa de prenhez no grupo tratado. Essa afirmação também foi feita em um estudo semelhante e recente de Yazlik et al., (2021).

Com relação ao diâmetro do CL, a suplementação mineral não causou efeito significativo. Porém, era esperado um resultado diferente, pois a ovulação de folículos maiores resulta em CLs maiores. De acordo com Nogueira et al., 2012, a maior taxa de

preenhez em bovinos está relacionada com o diâmetro do CL, contradizendo a maior taxa de preenhez apresentada no presente estudo. Porém, González-Maldonado et al., 2017 também não encontrou diferença no diâmetro do CL ($P > 0,05$) e nem na taxa de preenhez de vacas suplementadas com complexo de minerais. Isso sugere que a suplementação mineral injetável supranutricional não afeta o diâmetro do CL, porém, pode ou não influenciar os índices reprodutivos.

Assim, a taxa de preenhez foi afetada pelo tamanho do FD e de outros fatores que não foram medidos neste estudo, mas que podem ter sido melhorados pelos minerais, como a qualidade do oócito, o ambiente uterino, a sobrevivência embrionária, entre outros.

Tabela 4 - Diâmetro de estruturas ovarianas de vacas de leite HPB sem e com suplementação mineral parenteral injetável.

	Tratamentos		P-valor
	CONT	FOSF	
Folículo dominante mm (n)	13,00 ± 0,10 (14)	15,00 ± 0,10 (16)	0,07*
Corpo lúteo mm (n)	23,20 ± 0,12 (11)	21,90 ± 0,10 (18)	0,40

*Valores diferem se $P \leq 0,10$

5.5 Progesterona e IGF-1

As concentrações de P4 e IGF-1 não diferiram entre os tratamentos ($P = 0,19$ e $P = 0,22$), dias ($P = 0,91$ e $p = 0,32$) e interação de tratamento x dia ($P = 0,73$ e $P = 0,61$) (Tabela 5).

A hipótese do experimento era que a concentração de P4 seria maior para o grupo suplementado após 10 dias da IA, pois, alguns autores sugerem que a concentração de P4 após a IA está positivamente relacionada à fertilidade (KLEEMANN et al., 1994; MANN & LAMMING, 1999). Porém, o resultado deste estudo foi controverso. Na literatura, a P4 também está relacionada ao tamanho do FD e à capacidade esteroidogênica do futuro CL, ou seja, quanto maior o FD, maior o CL e maior a produção de P4 (FRANCISCO et al., 2012).

As concentrações de P4 não possuem relação com o FD e com a fertilidade nesse estudo, sugerindo que o mecanismo de ação da suplementação está ligado a outros fatores. Talvez, as melhoras no ambiente uterino durante a implantação e estabelecimento da gestação. Esses momentos não foram abordados nas amostras deste trabalho em termos de P4 ou IGF-I, sendo necessários mais estudos para demonstrar possíveis vias de ação, que podem estar ligadas à imunidade.

Um questionamento interessante foi o maior diâmetro do FD do grupo FOSF não resultar em uma maior concentração de P4, pois, de acordo com Mokhtari et al., (2016) a ovulação de folículos de 15 mm de diâmetro ou mais levou a maiores concentrações de P4 sérico nos dias 3 e 4 após a ovulação em comparação com folículos com menos de 11 mm de diâmetro. Neste mesmo estudo não correlacionaram a concentração sérica de IGF-1 na IA com o tamanho do folículo ovulatório.

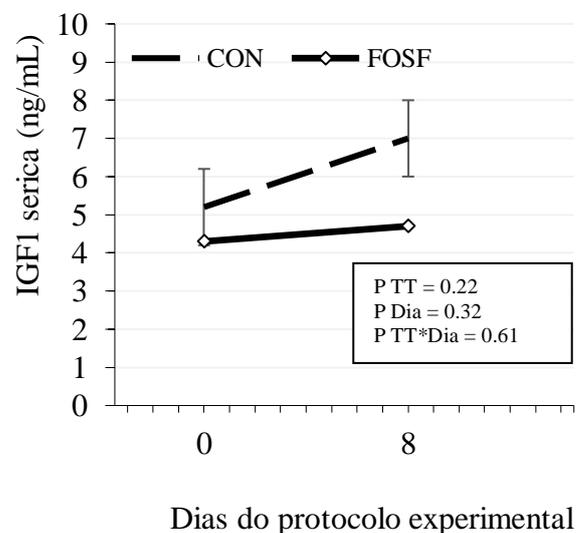
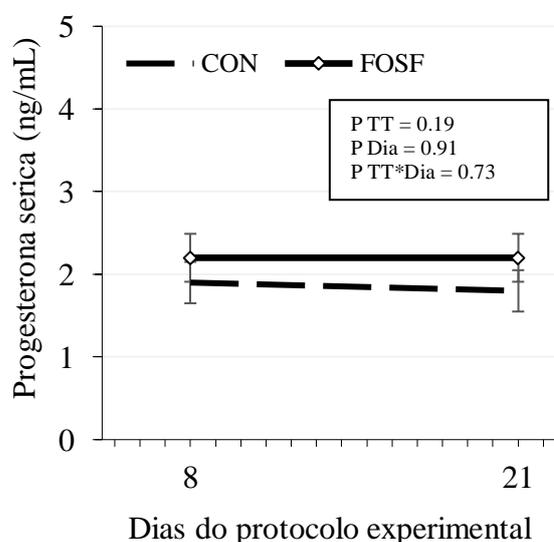
Não foi observado efeito do tratamento na concentração de IGF-1 nos dias D0 e D8 do protocolo de IATF (Figura 5), provavelmente porque os animais estavam em boas condições nutricionais e se descarta o envolvimento do IGF-1 na melhora dos resultados reprodutivos neste trabalho.

Tabela 5 - Efeito de tratamento, dia e interação na concentração de P4 e IGF1 séricas em vacas HPB em lactação.

	Tratamentos		P-valor		
	CONT	FOSF	TT	Dia	TT*Dia
Progesterona, ng/mL (n)	1,86± 0,20 (36)	2,22± 0,19 (43)	0,19	0,91	0,73
IGF1, ng/mL (n)	6,06 ± 0,81(36)	4,51 ± 0,70 (45)	0,22	0,32	0,61

*Valores diferem se $P \leq 0,05$

Figura 3 - Concentrações séricas (médias dos quadrados mínimos) de progesterona no D8 do protocolo de IATF e 10 dias após a inseminação artificial e IGF-1 no D0 e D8 do protocolo de IATF. PTT, P Dia e PTT*Dia, probabilidades dos efeitos fixos de tratamento, dia da coleta e interação, respectivamente; CON= grupo controle sem suplementação e FOSF= grupo suplementado.



6- CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que a aplicação de três doses do suplemento mineral injetável (Fosfosal®) melhorou o desempenho reprodutivo de vacas HPB em lactação, diminuindo o número de serviço/concepção, aumentando a taxa de prenhez aos 30 e 60 dias e o diâmetro do folículo dominante. A utilização desse complexo mineral pode ser recomendada como alternativa para garantir melhor desempenho reprodutivo de vacas leiteiras de alta produção em condições semelhantes às do presente experimento. Os presentes resultados indicam a necessidade de novos estudos, principalmente em condições de manejo nutricional menos favoráveis com expectativa de melhorias ainda mais significativas na reprodução e saúde geral das vacas.

7 - REFERÊNCIAS

ABDELLI A et al. Elevated non-esterified fatty acid and β -hydroxybutyrate in transition dairy cows and their association with reproductive performance and disorders: a meta-analysis. **Theriogenology**, v. 93, p. 99-104, 2017.

ABUELO A. et al. The importance of the oxidative status of dairy cattle in the periparturient period: revisiting antioxidant supplementation. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 6, p. 1003-1016. 2014.

ABUELO, A. et al. The importance of the oxidative status of dairy cattle in the periparturient period: revisiting antioxidant supplementation. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 99, n. 6, p. 1003-1016, 2015.

AI MACRAE, DA et al. Use of metabolic profiles for the assessment of dietary adequacy in UK dairy herds. **Veterinary Record**, v. 159 , p. 655-661, 2006.

ALP. Fütterungsempfehlungen und Nährwerttabellen für Wiederkäuer. Online ed. Agroscope Liebefeld-Posieux Research Station ALP, Posieux, Switzerland, 2008. http://www.feed-alp.admin.ch/start.php?action=adv_search&cmd=list_feed. Acesso em 26 de agosto de 2021.

ANDRIEU, S. Is there a role for organic trace element supplements in transition cow health. **The Veterinary Journal** , v. 176 , p. 77-83, 2008.

ARTHINGTON, J.D.; SWENSON, C.K. Effect of trace mineral source and weaning method on the productivity of grazing braford cows. **Professional Animal Science**, v.20, p. 155–161, 2004.

BARBAT, A. et al. Female fertility in French dairy breeds: current situation and strategies for improvement. **Journal of Reproduction and Development**, v. 56, p. 15-21, 2010.

BARCLAY J.L et al. Waters GH-dependent STAT5 signaling plays an important role in hepatic lipid metabolism. **Endocrinology**, v. 152, n.1, p, 181–192, 2011.

BEAM S.W. BUTLER W.R. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. **Journal Reproduction Fertility**, v. 54, p. 411-424, 1999.

BELFIORE, C.J. et al. Regulation of cytochrome P450_{scc} synthesis and activity in the ovine corpus-luteum. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 51, p. 283–290, 1994

BELL, A. W, et al. Growth and accretion of energy and protein in the gravid uterus during late pregnancy in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 9, p. 1954-1961, 1995.

BERG, M. et al. A dynamic model to simulate potassium balance in dairy cows. n. 2007, p. 9799–9814, 2017.

BERRY D. P. et al. Milk production and fertility in cattle. **Annual Review of Animal Biosciences**, v. 4, p. 269-290, 2016.

BERRY D. P. et al. Milk Production and Fertility. **The Annual Review of Animal Biosciences**, v. 46, n.1, p.6-22, 2016.

BEWLEY J.M., SCHUTZ M.M. Review: An interdisciplinary review of body condition scoring for dairy cattle. **Professional Animal Scientist**, v.24, p. 507-529.38, 2008.

BEWLEY, J.M. et al. Assessing the Potential Value for and Automated Dairy Cattle Body Condition Scoring System through Stochastic Simulation. **Agric.Financ. Rev.**, v. 70, p. 126–150, 2010.

BICALHO, M. L. S. et al. The association of plasma glucose, BHBA, and NEFA with postpartum uterine diseases, fertility, and milk production of Holstein dairy cows. **Theriogenology**, v. 88, p. 270–282, 2017.

BISINOTTO, R. S. et al. Effect of interval between induction of ovulation and artificial insemination (AI) and supplemental progesterone for resynchronization on fertility of dairy cows subjected to a 5-d timed AI program. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 12, p. 5798–5808, 2010.

BONATO DV, VRISMAN DP, TAIRA AR, et al. Cetose em vacas leiteiras de alta produção. **Investigação**, v. 14, p. 96-101, 2015.

BORREGAARD, N.; HERLIN, T. Energy Metabolism of Human Neutrophils during Phagocytosis Energy Metabolism of Human Neutrophils during Phagocytosis. **J Clin Invest.**, v. 70, n. 3, p. 550–557, 1982.

BRITT J.H. Impacts of early postpartum metabolism on follicular development and fertility. Dairy Session. **Research Gate**, v. 1, p. 39–43, 1992

BUCKLEY, F. et al. Relationships among milk yield, body condition, cow weight, and reproduction in spring-calved Holstein-Friesians. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 7, p. 2308–2319, 2003.

BUTLER, S.T. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 449-457, 2000.

BUTLER, W. R.; SMITH, R. D. Interrelationships Between Energy Balance and Postpartum Reproductive Function in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 3, p. 767–783, 1989.

C. XU, S. et al. Mass spectral analysis of urine proteomic profiles of dairy cows suffering from clinical ketosis. **Vet. Q.**, v. 35, p. 133-141, 2015.

CALL J.W. et al. Clinical effects of low dietary phosphorus concentrations in feed given to lactating dairy cows. **American Journal of Veterinary Research**, v.48, p. 133–136, 1987.

CARTER, F, et al. Effect of increasing progesterone concentration from day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v.20, p. 368–375, 2008.

CARTER, F. et al. Effect of elevated circulating progesterone concentration on bovine blastocyst development and global transcriptome following endoscopic transfer of in vitro produced embryos to the bovine oviduct. **Biology of Reproduction**, v. 83, p. 707–719, 2010.

CAVESTANY D. Effect of prepartum energetic supplementation on productive and reproductive characteristics, and metabolic and hormonal profiles in dairy cow undergrazing conditions. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, p. 663-67, 2009.

CHAGAS, L. M. et al. Invited review: New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 9, p. 4022–4032, 2007.

CHAPINAL, N. et al. Herd-level association of serum metabolites in the transition period with disease, milk production, and early lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 10, p. 5676–5682, 2012.

CIVEIRO, M. et al. Relationships between energy balance during early lactation and cow performance, blood metabolites, and fertility: A meta-analysis of individual cow data. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 6, p. 7233-7251, 2021.

CK REYNOLDS , GB HUNTINGTON , HF TYRRELL, P. R. Net Portal-Drained Visceral and Hepatic Metabolism of Glucose , L-Lactate , and Nitrogenous Compounds in Lactating Holstein Cows.

COHEN, R.D.H. Phosphorus in rangeland ruminant nutrition: a review. **Livestock Production Science**, v.7, n.1, p.25-37, 1980.

COWAN, J. Structural and catalytic chemistry of magnesium-dependent enzymes. **BioMetals**, v. 15, p. 225–235, 2002.

COLLARD, B. L. et al. Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 11, p. 2683–2690, 2000.

CONTRERAS, G. A. et al. Nonesterified fatty acids modify inflammatory response and eicosanoid biosynthesis in bovine endothelial cells. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 9, p. 5011–5023, 2012.

CROPS, B. Potassium in animal nutrition. **Potassium in Agriculture**, v. 82, n. 3, p. 32–36, 1998.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Brasil é responsável por cerca de 7% do leite produzido no mundo. 20, dezembro, 2018. Disponível em: <link><https://www.conab.gov.br/>. Acesso em: 21/09/2021

CUNHA, AP et al. Effects of high vs. low progesterone concentrations during Ovsynch on double ovulation rate and pregnancies per AI in high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 246, 2008.

DENICOL, A. C. et al. Low progesterone concentration during the development of the first follicular wave reduces pregnancy per insemination of lactating dairy cows.

Journal of Dairy Science, v. 95, n. 4, p. 1794–1806, 2012.

DISKIN, M. G. et al. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. v. 78, p. 345–370, 2003.

DOMINQUEZ M.M. Effects of body condition, reproductive status and breed on follicular population and oocyte quality in cows. **Theriogenology**, v. 43, p. 1405-1418, 1995.

DRACKLEY J.K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? **Journal Dairy Science**, v. 82, p. 2259-2273, 1999.

DRACKLEY, J. K. et al. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. Ital. **Journal of Dairy Science**, v. 4, p. 323-344, 2005.

DRACKLEY, J. K. et al. Adaptations of Glucose and Long-Chain Fatty Acid Metabolism in Liver of Dairy Cows During the Periparturient Period. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. E100–E112, 2001.

DOMECQ, J. J. et al. Relationship between Body Condition Scores and Conception at First Artificial Insemination in a Large Dairy Herd of High Yielding Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 1, p. 113–120, 1997.

DOYLE, JC, JE HUSTON E DW SPILLER. Influência da suplementação de fósforo e minerais no desempenho reprodutivo de bovinos de corte em condições de campo. **J. Anim. Sci**, v.66 (Suplemento 1): p. 462, 1998.

DU PLESSIS {Bibliography}SS. et al. The effect of dietary molybdenum and sulphate on the sexual activity and plasma progesterone concentrations of ewes. **Small Ruminant Research**, p. 3371-76, 1999.

DUFFIELD T.F. & LEBLANC S.J. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. **Anais 24^a Southwest nutrition and management conference, Tucson, AZ**, p.106-114, 2009.

DUFFIELD T.F. Cetose subclínica em gado leiteiro em lactação. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, p. 231-253, 2000.

EBEL H. Intestinal magnesium absorption. In: Sigel H, Sigel A, eds. Metal ions in biological systems: compendium on magnesium and its role in biology, nutrition, and physiology. **New York: Dekker**, p. 227–248, 1990.

EDMONSON, A. J. et al. A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 68–78, 1989.

ESPOSITO, G. et al. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 144, n. 3–4, p. 60–71, 2014.

EVANS A.C, WALSH S.W. The physiology of multifactorial problems limiting the establishment of pregnancy in dairy cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 24, p. 233–37, 2011.

FAES, M. R. et al. Nitric oxide regulates steroid synthesis by bovine antral granulosa cells in a chemically defined medium. v. 110, p. 222–236, 2009.

FADLALLA, I. M. T.; OMER, S. A.; ATTA, M. Determination of some serum macroelement minerals levels at different lactation stages of dairy cows and their correlations. **Scientific African**, v. 8, p. e00351, 2020.

FAIR, T., Mammalian oocyte development: checkpoints for competence. **Reproduction Fertility Development**, v. 22, p. 13-23, 2010

FALKENBERG, U. et al. Relationships Between the Concentration of Insulin-Like

Growth Factor-1 in Serum in Dairy Cows in Early Lactation and Reproductive Performance and Milk Yield. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 10, p. 3862–3868, 2008.

FERGUSON, J.D. Diet, production and reproduction in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.59, p.173-184, 1996.

FERGUSON, J.D et al. Principal Descriptors of Body Condition Score in Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2695–2703, 1994.

FRANCISCO, L. et al. Machine Translated by Google vacas de corte lactantes inseminadas em tempo fixo Machine Translated by Google Material e métodos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 4, p. 1004–1008, 2012.

FONSECA, F. A. et al. Reproductive Traits of Holsteins and Jerseys. Effects of Age, Milk Yield, and Clinical Abnormalities on Involution of Cervix and Uterus, Ovulation, Estrous Cycles, Detection of Estrus, Conception Rate, and Days Open. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 5, p. 1128–1147, 1983

FORBES J. M. Interrelationships between physical and metabolic control of voluntary food intake in fattening, pregnant, and lactating mature sheep. **Animal Production**, v. 24, p. 91-101, 1997

GAÁL, K. K. et al. Magnesium in Animal Nutrition. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 23, n. 6, p. 754S-757S, 2004.

GALADARI, S et al. Reactive oxygen species and cancer paradox: To promote or to suppress? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 104, p. 144–164, 2017.

GALVÃO, K. N. et al. Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 7, p. 2926–2937, 2010

GANDA, E. K et al. Effects of injectable trace mineral supplementation in lactating dairy cows with elevated somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 9, p.7319-7329. 2016.

GARNSWORTHY P. Influences of body condition on fertility and Milk yield. In :Proc Dairy Cattle. **Reproduction Council Convention**, p. 63–72, 2008.

GEORGIEVSKII, V.I. The physiological role of macroelements. In: GEORGIEVSKII, V.I.; ANNENKOV, B.N.; SAMOKHIN, V. I. **Mineral nutrition of animals, London: Butterworths**, cap.6, p.91-170, 1982.

GIADINIS, N.D et al. Abortions in three beef cattle herds attributed to selenium deficiency. **Pakistan Veterinary Journal**, v.36, p. 145–148, 2016.

GLUCKMAN, P.D.; BREIER, B.H.; DAVIS, S.R. Physiology of the somatotrophic axis with particular reference to the ruminant. **Journal Dairy Science**, v. 70, p. 442 466, 1986.

GRAHAM, T.W. Trace element deficiencies in cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 7, p. 153–215, 1991.

GOBIKRUSHANTH, M. et al. The relationship between serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1) concentration and reproductive performance , and genome-wide associations for serum IGF-1 in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 10, p. 9154–9167, 2018.

GOFF J.P. Como controlar a febre do leite e outras desordens metabólicas relacionadas à macro minerais em vacas de leite. **Anais 13º Curso novos enfoques na produção e reprodução de bovinos, Uberlândia, MG**, p.267-284, 2009.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Effects of the Addition of Potassium or Sodium , but Not Calcium , to Prepartum Rations on Milk Fever in Dairy Cows 1. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 1, p. 176–186, 1997.

GOFF J.P. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. **Animal Feed Science and Technology**, v. 126, p. 237-257, 2006.

GOFF J.P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, p. 50-57, 2008.

GONG, J.; XIAO, M. Increasing selenium supply during the close-up dry period improves nutrient metabolism and attenuates inflammatory response after calving in dairy cows. **Animal science journal = Nihon chikusan Gakkaiho**, v. 92, n. 1, p. e13551, 2021.

GONZÁLEZ et al. Mineral complex supplementation on development of ovarian structures and serum copper and zinc concentrations in over-conditioned Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v. 18, p. 157–62, 2017.

GONZÁLEZ, F.H.D. Introdução à endocrinologia reprodutiva veterinária. Porto Alegre. Tese (livre docência) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 20021

GONZÁLEZ-MALDONADO, J. et al. Effect of injectable trace mineral complex supplementation on development of ovarian structures and serum copper and zinc concentrations in over-conditioned Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v. 181, n. October 2016, p. 57–62, 2017.

GOFF J.P., HORST R.L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1260-1268, 1997.

GOONERATNE, S. R.; BUCKLEY, W. T.; CHRISTENSEN, D. A. Review of Copper Deficiency and Metabolism in Ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 69, n. 4, p. 819–845, 1989.

GRUMMER R.R. Impact of changes organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal Dairy Science**, v. 73, p. 820-2833, 1995.

GRUMMER, R R. Drymatter intake and energy balance in the transition period. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 447-470, 2005.

GRUMMER, R. R. Qual período é mais crítico: pré-parto vs periparto vs pós-parto? In: XIII CURSO DE NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS. Uberlândia. Anais... Botucatu: Universidade Estadual Paulista, p. 237-248. CD-ROM, 2009.

GRUMMER, R. R. Strategies to improve fertility of high yielding dairy farms: Management of the dry period. **Theriogenology**, v. 68S, n. 1, p. 281- 288, 2007.

GRÜNBERG, W. Treatment of Phosphorus Balance Disorders. **Veterinary Clinics of NA: Food Animal Practice**, v. 30, n. 2, p. 383–408, 2014.

GUNTER, SA, PA BECK E JM PHILLIPS. Efeitos da fonte suplementar de selênio sobre o desempenho e medidas de sangue em vacas de corte e seus bezerros. **J. Anim. Sci.** 81:856-864, 2003.

GUY, M. A. et al. Regulation of colostrum formation in beef and dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 77, n. 10, p. 3002-3007, 1994.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. Reprodução Animal. In: HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. In: **Fisiologia da Reprodução**. 7. ed. Barueri: Manole, Cap. 3, p. 33-53, 2004.

HAYIRLI, A. et al. Animal and dietary factors affecting feed intake during the pre-fresh transition period in Holsteins. **Journal Dairy Science**, v. 85, p. 3430–3443, 2002.

HORST, EA et al. Invited review: The influence of immune activation on transition cow health and performance-A critical evaluation of traditional dogmas. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 8380-8410, 2021.

HURLEY, W.L.; DOANE, R.M. Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.3, p.784-804, 1989.

IBGE, 2021.Disponívelem:
<link><https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria>.
Acessoem: 21/09/2021

INGVARTSEN KL, ANDERSEN JB. Integrationofmetabolismandintakeregulation: areviewfocusingonperiparturientanimals. **JournalofDairy Science**, v.83, p. 1573-1597, 2000.

JEONG, J. K. et al. Relationship between serum magnesium concentration during the transition period , peri - and postpartum disorders , and reproductive performance in dairy cows. **Livestock Science**, v. 213, n. December 2017, p. 1–6, 2018.

JERRY W. SPEARS. Trace Mineral Bioavailability in Ruminants. **The Journal of Nutrition**. v.133, p. 1506 – 1509, 2003.

JEONG, J. K. et al. Relationship between serum magnesium concentration during the transition period , peri - and postpartum disorders , and reproductive performance in dairy cows. **Livestock Science**, v. 213, n. December 2017, p. 1–6, 2018.

JORRITSMA, R. et al. Metabolic changes in early lactation and impaireds reproductive performance in dairy cows. **Veterinary Research**, v. 34, p, 11-26, 2003.

K. NAKADA. How to improve reproductive efficacy from now in Japan? Find out the factors of late lactation to predict postpartum reproductive diseases. **Journal of Reproduction and Development**, v. 52, p. 177-183, 2006.

KAMADA, H. Effects of selenium-rich yeast supplementation on the plasma progesterone levels of postpartum dairy cows. Asian-Australas. **Journal Animal Science**, v.30, p. 347–354, 2017.

KAMADA, H. et al. Effects of selenium supplementation on plasma progesterone concentrations in pregnant heifers. **Journal Animal Science**, v. 85, p. 241–246, 2014.

KARIMI DEHKORDI, M.; KADIVAR, A.; TAKTAZ HAFSHEJANI, T. Geçiş dönemi sütçü ineklerde ilk tohumlamada gebe kalma oranını tahmin etmede esterlenmemiş yağ asitleri ve β -hidroksibütirat kritik eşik değerleri. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 22, n. 2, p. 191–195, 2016.

KAPPEL L. C. Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows. **Journal of Veterinary Research**, v. 45, p. 2607-2612, 1984.

KAWASHIMA, C. et al. Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-producing dairy cows. **Reproduction**, v. 133, n. 1, p. 155–163, 2007.

KENDALL N.R, ILLINGWORTH DV AND TELFER SB. Copper responsive infertility in British cattle: the use of a blood caeruloplasmin to copperratio in determining a requirement for copper supplementation. **Animal Science**, v. 2 p. 429–432, 2001.

KENDALL, N. R. et al. Expression of lysyl oxidase and effect of copper chloride and ammonium tetrathiomolybdate on bovine ovarian follicle granulosa cells cultured in serum-free media. **Reproduction**, v. 125, p. 657–665, 2003.

KHATTI, A. et al. Supplementation of vitamin E, selenium and increased energy allowance mitigates the transition stress and improves postpartum reproductive performance in the crossbred cow. **Theriogenology**, v. 104, p. 142–148, 2017.

KIM, N. et al. Jvs 1 1 4. **Journal of Veterinary Science**, v. 18, n. YH Lim, p. 333–341, 2017.

KOLK, J. H. H. VAN DER et al. Disturbed bovine mitochondrial lipid metabolism : a

review. v. 2176, 2017.

KLEEMANN, DO; WALKER, SK; SEAMARK, RF Aumento do crescimento fetal em ovelhas que receberam progesterona durante os primeiros três dias de gestação. **Jornal de Reprodução e Fertilidade**, v.102, n.2, p.411-417, 1994.

KOBAYASHI Y. et al. Reduced growth hormone receptor (GHR) messenger ribonucleic acid in liver of periparturient cattle is caused by a specific down-regulation of GHR 1A that is associated with decreased insulin-like growth factor I. **Endocrinology**, v.140, p. 3947-3954, 1999.

KOLK, J. H. H. et al. Disturbedbovinemitochondriallipidmetabolism : a review. **Vet, Q**, v. 37, n. 1, p. 262-273. 2017.

KOMMISRUUD et al. Blood selenium associated with health and fertility in Norwegian dairy herds. **ActaVeterinariaScandinavica**, v. 46, p. 229–240, 2005.

KUMAR S. et al. Importance of micro minerals in reproductive performance of livestock. **Veterinary World**, v. 4, p. 230–233, 2011.

KURĆUBIĆ V., Z. ILIĆ, M. VUKAŠINOVIĆ, R. ĐOKOVIĆ. Effect of dietary supplements of sodium bicarbonate on tissue calcium (Ca) and magnesium (Mg) levels in beef cattle. **Acta Agriculture Serbica**, v. 29, p. 55-76, 2010.

LAMB, G. D., & STEPHENSON, D. G. Effects of intracellular pH and Mg²⁺ on excitation-contraction coupling in skeletal muscle fibers of the rat. **Journal of Physiology**, v. 478, p. 331–339, 1994.

LARSON et al. Effects of supplemental progesterone on the development, metabolism and blastocyst cell number of bovine embryos produced in vitro. **Reproduction Fertility and Development**,v. 23, p. 311–318, 2011.

LEAN, I. J. et al. Hypocalcemia in dairy cows: Meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 2, p. 669–684, 2006.

LEBLANC, S. Monitoring Metabolic Health of Dairy Cattle in the Transition Period. **The Journal of Reproduction and Development**, v.56, n. 7, p. 30–35, 2010.

LENO, B. M. et al. The effect of source of supplemental dietary calcium and magnesium in the peripartum period, and level of dietary magnesium postpartum, on mineral status, performance, and energy metabolites in multiparous Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 9, p. 7183–7197, 2017.

LE ROITH D. et al. The somatomedin hypothesis,-. **Endocrine Reviews**, v. 22, p. 53-74, 2001.

LEROY, J. Nécessité du magnésium pour la croissance de la souris. **Rendus des Séances de la Société de Biologie**, v. 94, p. 432 – 433, 1926.

LIESEGANG et al. Influence of different calcium contents in diets supplemented with anionic salts on bone metabolism in periparturient dairy cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 91, p. 120-129, 2007.

LOMANDER, H. et al. Test accuracy of metabolic indicators in predicting decreased fertility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 12, p. 7086–7096, 2012.

LOPEZ H, SARTORI R, WILTBANK MC. Reproductive hormones and follicular growth during development of one or multiple dominant follicles in cattle. **Biology Reproduction**, v. 72, p. 788–95, 2005.

LOPEZ, H. et al. Relationship between level of Milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 1, p. 2783-2793, 2005.

LUCY MC, BUTLER ST, GARVERICK HA. Endocrine and metabolic mechanisms linking postpartum glucose with early embryonic and fetal development in dairy cows. **Animal**, v.8, n. 1, p. 82–90, 2014.

LUCY, M. C. Functional differences in the growth hormone and insulin-like growth factor axis in cattle and pigs: implications for post-partum nutrition and reproduction. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, n. 2, p. 31-39, 2008.

LUCY, M. C.; JIANG, H.; KOBAYASHI, Y. Changes in the Somatotrophic Axis Associated with the Initiation of Lactation 1. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 13, p. E113–E119, 2001.

LÜTHI, D., GÜNTZEL, D., & MCGUIGAN, J. Mg-ATP: Its modification by spermine, the relevance of cytosolic Mg²⁺ buffering, changes in intracellular ionized Mg²⁺ concentration and the estimation of Mg²⁺ by ³¹P-NMR. **Experimental Physiology**, v. 84, p. 233–352, 1999.

MACHADO, V. S. et al. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and production of lactating Holstein cows. **Veterinary Journal**, v. 197, n. 2, p. 451–456, 2013.

MACHATKOVA, M.; KRAUSOVA, K.; JOSEKOV, E.; TOMANEK, M. Developmental of bovine oocytes: effects of follicle size and the phase of follicular wave on in vitro embryo production. *Theriogenology*, v.61, p.329-335, 2004.

MACWILLIAMS PS, SEARCY GP, BELLAMY JEC. Bovine postparturient hemoglobinuria: a review of the literature. **Canadian Veterinary Journal**, v. 23, p. 309–312, 1982.

MANN, GE; LAMMING, GE A influência da progesterona no início da gestação em bovinos. **Reprodução em Animais Domésticos**, v.34, p.269-274, 1999

MANN S. et al. Ny dam Dry period plane of energy: Effects on feed intake, energy balance, Milk production, and composition in transition dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 98, p. 3366-3382, 2015.

MARTA LÓPEZ-ALONSO AND MARTA MIRANDA. Copper Supplementation , A

Challenge in Cattle. **Animals**, v. 10, p. 1–21, 2020.

MC DOWELL, L.R. Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais enfatizando o Brasil. **Gainesville: University of Florida**, v. 3, p. 92, 1999.

MCDOWELL, RL. Minerals in animal and human nutrition. San Diego: **Academic Press**, p.524, 1992.

MCGUIRE et al. Nutritional modulation of the somatotropin/insulin-like growth factor system: Response to feed deprivation in lactating cows. **Journal Nutrition**, v. 125, p. 493-502, 1995.

MCNEILL R.E et al. Effect of systemic progesterone concentration on the expression of progesterone responsive genes in the bovine endometrium during the early luteal phase. **Reproduction, Fertility and Development**, v.18, p. 573-583, 2006.

MEPHAM, T.M. The development of ideas on the role of glucose in regulating milk secretion. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.44, p. 509-522, 1993.

MELLADO, M. et al. Risk factors for clinical ketosis and association with milk production and reproduction variables in dairy cows in a hot environment. **Tropical Animal Health and Production**, v. 50, n. 7, p. 1611–1616, 2018.

MITCHELL, K., 2003. Case Study (Case 1). Trace Minerals and Dairy Cattle. **Bovine Veterinarian**, p. 32-34, 2003.

MOHKTARI, A., KAFI, M., ZAMIRI, M. J., AKBARI, R. Factors affecting the size of ovulatory follicles and conception rate in high-yielding dairy cows. **Theriogenology, Shiraz**, v. 85, p. 747-753, 2016.

MOLEFE, K.; MWANZA, M. Effects of mineral supplementation on reproductive performance of pregnant cross-breed Bonsmara cows: An experimental study. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 55, n. 3, p. 301–308, 2020.

MORETTI P, PROBO M, CANTONI A, PALTRINIERI S AND GIORDANO A. Fluctuation of neutrophil counts around parturition in Holstein dairy cows with and without retained placenta. **Research in Veterinary Science**, v. 107, n. 2, p. 207-212, 2016.

MORIN, P. et al. Short Communication: An Observational Study Investigating Inter-Observer Agreement for Variation over Time of Body Condition Score in Dairy Cows. **Journal Dairy Science**, v. 100, p. 3086–3090, 2017.

MORRIS, D.; DISKIN, M. Effect of progesterone on embryo survival. **Animal**, v. 2, n. 8, p. 1112–1119, 2008

MÖYKKYNNEN, T. et al. Magnesium potentiation of the function of native and recombinant GABA(A) receptors. **Neuro Report**, v. 12, p. 2175–2179, 2001.

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

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Mineral Tolerance of Animals: Second Revised Edition. **The National Academies Press; Washington, DC, USA, 2005.**

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirements of domestic animals. National Research Council (NRC). Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th ed.; **National Academy Press: Washington, DC, USA**, p. 370, 2001.

NOGUEIRA, É. et al. recipients a) b). n. 2001, p. 2129–2133, 2012.

RÍO-AVILÉSA, A. D. DEL et al. Efeitos de um suplemento mineral injetável nas respostas fisiológicas e na produção de leite de vacas Holandesas estressadas pelo calor. 2021.

NRC. 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle, 7th rev. edn. Natl. Acad. Press, Washington, DC, USA. NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. **Washington DC: National Academies Press**, 2001.

NUTRITION, H. Human Nutrition. **Nutrients**, v. 2, n. 13, p. 1–15, 2021.

O'CONNOR, J. C. et al. Regulation of IGF-I function by proinflammatory cytokines: At the interface of immunology and endocrinology. **Cellular Immunology**, v. 252, n. 1–2, p. 91–110, 2008.

OGAWA E, KOBAYASHI K, YOSHIURA N, MUKAI J. Hemolytic anemia and red blood cell metabolic disorder attributable to low phosphorus intake in cows. **American Journal of Veterinary Research**, v.50, p. 388–392, 1989.

OMUR, A et al. Effects of antioxidant vitamins (A, D, E) and trace elements (Cu, Mn, Se, Zn) on some metabolic and reproductive profiles in dairy cows during transition period. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 19, n. 4, p. 697-706. 2016.

OSPINA, P. A. et al. Associations of elevated nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 4, p. 1596–1603, 2010b

OSPINA, P. A. et al. Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 546–554, 2010a.

OVERTON, T. R. 1998. Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis in the transition dairy cow. **Cornell Nutr. Conf. For Feed Manufacturers, Cornell Univ., Ithaca, NY**, p. 237-246, 1998.

PARK A. F. et al. Changes in rumen capacity during the periparturient period in dairy cows. **Journal of Dairy Science, Lancaster**, v. 84, p.82, 2001.

PATTON, J. et al. Relationships Among Milk Production , Energy Balance , Plasma Analytes , and Reproduction in Holstein-Friesian Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 2, p. 649–658, 2007.

PEDREIRA, M. S.; BERCHIELLI, T. T. Minerais. **In: Nutrição de ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal SP: Funep, p. 616, 2006.

PERRY, G. A., SMITH, M. F., ROBERTS, A. J., MACNEIL, M. D., GEARY, T. W. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal Animal Science**, Miles, v. 85, p. 684-689, 2007.

PETERSON, P. J. & SPEDDING, D. J. The excretion by sheep of ⁷⁵selenium incorporated into red clover: the chemical nature of the excreted selenium and its uptake by three plant species. *N. Z. J. Agric. Res.* n. 6, p. 13–23, 1963.

PHILLIPPO M, et al. The effect of dietary molybdenum and iron on copper status, puberty, fertility and oestrous cycles in cattle. **Journal of Agricultural Science**, v. 109, p. 321–336, 1987.

POGGE D. J. et al. Hansen Mineral concentrations of plasma and liver following injection with a trace mineral complex differ among Angus and Simmental cattle. **Journal of Animal Science**, v. 90 p. 2692-2698, 2012.

POGGE, D.J. et al. Mineral concentrations of plasma and liver after injection with a trace mineral complex differ among Angus and Simmental cattle. **Journal Animal Science**, v.90, p. 2692–2698, 2012.

PUSHPAKUMARA, P. G. A.; GARDNER, N. H.; REYNOLDS, C. K. Relationships between transition period diet , metabolic parameters and fertility in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 60, p. 1165–1185, 2003.

RADOSTITS et al. A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Porscos, Goats and Horses. **Veterinary Medicine: 9th ed .; WB Saunders:**Londres, Reino Unido, 2000.

RAMOS, J. M et al. Effect of organic trace minerals supplementation during early postpartum on milk composition, and metabolic and hormonal profiles in grazing dairy heifers. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 3, p. 681-689. 2012.

RAMOS-NIEVES, J. M. et al. Effects of anion supplementation to low-potassium prepartum diets on macromineral status and performance of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 11, p. 5677–5691, 2009.

Rathbun, F.M. et al. White, H.M. Relationships between Body Condition Score Change, Prior Mid-Lactation Phenotypic Residual Feed Intake, and Hyperketonemia Onset in Transition Dairy Cows. **Journal Dairy Science**, v.100, p. 3685–3696, 2017.

REARTE, R. et al. Effect of milk production on reproductive performance in dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 8, p. 7575–7584, 2018.

RÉRAT, M. et al. Effect of different potassium levels in hay on acid – base status and mineral balance in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 12, p. 6123–6133, 2009.

RICHARDSON, B. N., HILL, S. L. STEVENSON, J. S., DJIRA, G. D., PERRY, G. A. Expression of estrus before fixed-time AI affects conception rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. **Animal Reproduction Science, Brookings**, v. 166, p. 133-140, 2016.

RIC R. GRUMMER. Impact of changes in organic nutrient metabolism of feeding the transition dairy cow, **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 9, p. 2820–2833, 1995.

ROCHE, J. R. et al. Nutritional management of the transition cow in the 21st century – a paradigm shift in thinking. **Animal Production Science**, v. 53, p. 1000-1023, 2013

ROCHE, J. F. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science**, v. 96, n. 3–4, p. 282–296, 2006.

ROCHE, J. F.; RIZOS, D. Progesterone and conceptus elongation in cattle: A direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? n. July, 2009.

ROCHE, J. R. et al. Relationships among international body condition scoring systems. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 9, p. 3076–3079, 2004.

ROCHE, J. R. et al. Associations among body condition score, body weight, and reproductive performance in seasonal-calving dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 1, p. 376–391, 2007.

ROCHE, J. R. et al. Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 12, p. 5769–5801, 2009.

RODGERS HF. et al. Distribution of the alpha 1 to alpha 6 chains of type IV collagen in the bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v. 59, p. 1334-1341, 1998.

RODRIGUEZ, Z. et al. Association of body condition score and score change during the late dry period on temporal patterns of beta-hydroxybutyrate concentration and Milk yield and composition in early lactation of dairy cows. **Animals**, v.11, n. 1, 2021.

ROMANI, A., & SCARPA, A. Regulation of cellular magnesium. **Frontiers in Bioscience**, v. 5, p. 720 - 734, 2000.

RUCKER RB. et al. Copper, lysyl oxidase and extracellular matrix protein cross-linking. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, p. 996–1002, 1998.

RUOFF J, Bertulat S, Burfeind O, Heuwieser W. Associations of β -hydroxybutyrate, cholesterol, triglycerides and high-density lipoproteins to non-esterified fatty acids pre and postpartum. **Journal of Dairy Research**, v.83, p. 447-452, 2016.

SÁ FILHO, O. G.; THATCHER, W. W.; VASCONCELOS, J. L. M. Effect of progesterone and/or estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, v. 112, p. 95-106, 2009b.

SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Importance of estrus on pregnancy submitted to

estradiol/progesterone- based timed insemination protocols. **Theriogenology**, v. 76, p.455-463, 2011.

SALES, J. N. S. et al. Effect of injectable copper , selenium , zinc and manganese on the pregnancy rate of crossbred heifers (*Bos indicus* × *Bos taurus*) synchronized for timed embryo transfer. **Livestock Science**, v. 142, n. 1–3, p. 59–62, 2011.

SANGSRITAVONG, S. et al. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 1, p. 2831-2842, 2002.

SARTORI, R. Ovarian function, circulating steroids, and early embryonic development in dairy cattle. **Thesis (PhD - Dairy Science)-University of Wisconsin, Madison**, p. 171, 2002.

SCHWARZ, K. E CM FOLTZ. Selenium as an integral part of Factor-3 against dietary liver degeneration. **Journal of the American Chemical Society**, v. 79, p. 3292, 1957.

SHANKAR AH AND PRASAD AS. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, p. 447-463, 1998.

SHEEHY, M. R. et al. A comparison of serum metabolic and production profiles of dairy cows that maintained or lost body condition 15 days before calving. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 1, p. 536–547, 2017.

SHEEHY, M. R. , et al. A comparison of serum metabolic and production profiles of dairy cows that maintained or lost body condition 15 days before calving. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 536–547, 2017.

SILVA, E. et al. Effect of pretreatment with prostaglandin F 2α before resynchronization of ovulation on fertility of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 12, p. 5509–5517, 2007.

SILVA, P. R. B. et al. Hepatic mRNA expression for genes related to somatotropic axis, glucose and lipid metabolisms, and inflammatory response of periparturient dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3983–3999, 2017.

SILVA FILHO, J.C., VITTI, D.M.S.S. e LOUVANDINI, H. Metabolismo de fósforo em bovinos: Incorporação de fósforo radioativo (^{32}P) pelos eritrócitos. **Scientia Agricola**, v. 54, n. 3, pp. 178-182, 1997.

SNARSKA, A. et al. Effect of parenteral supplementation of selenium and vitamin E on selected blood biochemical parameters in H-F cows during the transition period. **Medicine Weter**, v. 71, n. 11, p. 683–689, 2015.

SOBIECH, P.; KULETA, Z. Levels of selected biochemical indicators of serum and blood during subclinical form of nutritional muscular dystrophy in lambs. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 2, p. 37–41, 1999.

STAHLHUT, HS, CS WHISNANT E JW SPEARS. 2006. Efeito da suplementação de cromo e status de cobre no desempenho e reprodução de vacas de corte. **Anim. Feed Sci.e Tec.** v. 128, p. 266-275.

STARBUCK, M. J.; DAILEY, R. A.; INSKEEP, E. K. Factors affecting retention of early pregnancy in dairy cattle. v. 84, p. 27–39, 2004.

STEVENSON, J. S.; LAMB, G. C. Contrasting effects of progesterone on fertility of dairy and beef cows¹². **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 7, p. 5951–5964, 2016.

STRONGEetal.. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. **Theriogenology**, v.64, p. 1212–1224, 2005.

SUTTLE, N. F. Copper Imbalances in Ruminants and Humans : Unexpected Common Ground 1. p. 666–674, 2012.

SUTTLE N.F. Mineral Nutrition of Livestock. **4th ed. CABI; Wallingford, UK: 2010.**

SUTTLE N.F. Problems in the diagnosis and anticipation of trace element deficiencies in grazing livestock. **Veterinary Record**, v. 119, p. 148-152, 1986.

SUTTLE, N.F. Mineral Nutrition of Livestock. 4.ed. **Cambridge: CAB International**, 2010.

TAYLOR V.J. et al. Relationships between the plasma concentrations of insulin-like growth factor-1 in dairy cows and their fertility and milk yield. **Veterinary Record**, v. 155, p. 583-588, 2004.

TAYLOR V.J. et al. Wathes Physiological adaptations to milk production that affect fertility in high yielding dairy cows dairying, using science to meet consumer needs. **Br. Soc. Anim. Sci. Occasional Publication Nottingham University Press**, v. 29, p. 37–71, 2003.

THIELEN, M.; MIELENZ, M.; HISS, S.; ZERBE, H.; PETZL, W.; SCHUBERTH, H.; et al. 2007. Short communication: cellular localization of haptoglobin mRNA in the experimentally infected bovine mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n.3, p. 1215–9, 2007.

THISSEN JP, KETELSLEGERS JM, UNDERWOOD LE. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. **Endocrine Reviews**, v. 15, n. 1, p. 80-101, 1994.

TIAGO FACURY MOREIRA, Perfil metabólico de vacas leiteiras no período de transição em sistema semi-intensivo em minas gerais no verão e no inverno. Universidade Federal de Minas Gerais: Tese de mestrado, jan. 2013.

UEMATSU, M et al. Serum selenium and liposoluble vitamins in Japanese Black cows that had stillborn calves. **The Journal of Veterinary Medical Science**, p. 1501–1504, 2016.

UNDERWOOD, E. J. & SUTTLE, N. F. The Mineral Nutrition of Livestock, 3rd ed. CABI Publishing, Oxon, U.K, 1999.

UNDERWOOD, E.J. et al. In *The Mineral Nutrition of Livestock*, 3rd ed.; **CABI Publishing: Wallingford, UK**, p. 421–475, 2004.

UYI, A. A.; GRUYS, E. e VAN EERDENBURG, F.J.C.M. 2005. Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. **Veterinary Quarterly**, v. 27, n. 3, p. 117-126

VASCONCELOS, J. L. M., SARTORI, R., OLIVEIRA, H. N., GUENTHER, J. G., WILTBANK, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, Botucatu, v. 56, p. 307-314, 2001.

VANEGAS, J. A.; REYNOLDS, J.; ATWILL, E. R. Effects of an injectable trace mineral supplement on first-service conception rate of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 11, p. 3665–3671, 2004.

VAN DEN TOP, A. Reviews on the Mineral Provision in Ruminants (IX): Copper Metabolism and Requirements in Ruminants; CVB documentatierapportnr. 41; **Centraal Veevoederbureau: Lelystad, The Netherlands**, 2005

VAN MOSEL, M.; VAN 'T KLOOSTER, A. T.; MALESTEIN, A. Effects of an inadequate dietary intake of magnesium on osteogenesis in dairy cows during the dry period. **Research in veterinary science**, v. 48, n. 3, p. 280–287, 1990.

VAN MOSEL M. ,VAN 'T KLOOSTER A.T, WOUTERSE H.S.. Effects of a deficient magnesium supply during the dry period on bone turnover of dairy cows at parturition. **Vet. Q.**, v.13, p. 199-208, 1991.

VAN SAUN, R.J. et al. Indicators of dairy cow transition risks: Metabolic profiling revisited. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/nutztiere*, v. 44, n. 2, p 118-26, 2016.

VANDEHAAR, M.J.; SHARMA, B.K; FOGWELL. Effect of dietary energy restriction on the expression of insulin-like growth factor-1 in liver and corpus luteum of heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 832-841, 1995

VELAZQUEZ, M. A.; SPICER, L. J.; WATHES, D. C. The role of endocrine insulin-like growth factor-I (IGF-I) in female bovine reproduction. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 35, n. 4, p. 325–342, 2008.

VILLA-GODOY, A., T.L. HUGHES, R.S. EMERY, L.T. CHAPIN AND R.L. FOGWELL. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 71, p. 1063, 1988.

WALSH RB, WALTON JS, KELTON DF, LEBLANC SJ, LESLIE KE, DUFFIELD TF. The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p. 2788-2796, 2007.

WALSH, S. W.; WILLIAMS, E. J.; EVANS, A. C. O. A review of the causes of poor fertility in high milkproducingdairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 123, n. 1, p. 127–138, 2011.

WANG, C., LIU, Z., WANG, D. et al. Effect of dietary phosphorus content on milk production and phosphorus excretion in dairy cows. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 5, p. 23, 2014.

WARKENA. C. Mineral supplementation stimulates the immune system and antioxidant responses of dairy cows and reduces somatic cell counts in Milk. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 90, n.2, p. 1649-1658.

WILTBANK, M. et al. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 17-29, 2006.

WILTBANK, M et al. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v.65, p. 17–29, 2006.

WILKENS, M. R. Review : Regulation of gastrointestinal and renal transport of calcium and phosphorus in ruminants. **Animal, The International Journal of Animal Biosciences**, v. 14, p. s29–s43, 2020.

WILTBANK, MC et al. Steroidogenic enzyme activity after acute activation of protein-kinase (PK) A and PKC in ovine small and large luteal cells. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 97, p. 1–7, 1993.

WILTBANK, M. C. et al. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. p. 70–81, 2014.

WU, Z.; SATTER, L. D. Milk Production and Reproductive Performance of Dairy Cows Fed Two Concentrations of Phosphorus for Two Years 1. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 5, p. 1052–1063, 2000

YAZLIK, M. O. et al. Effects of injectable trace element and vitamin supplementation during the gestational, peri-parturient, or early lactational periods on neutrophil functions and pregnancy rate in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 225, n. May 2020, 2021.

ŻARCZYŃSKA, K et al. Effects of selenium on animal health. **Journal Elementol**,v. 18, p. 329–340, 2013.

ZARRIN, M. et al. Elevation of blood β -hydroxybutyrate concentration affects glucose metabolism in dairy cows before and after parturition. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 3, p. 2323–2333, 2017.

ZULU, V.C.; NAKAO, T.; SAWAMUKAI, Y. Insulin-like growth factor-1 as a possible hormonal mediator of nutritional regulation of reproduction in cattle. **Theriogenology**, v. 64, p. 657-665, 2002.



SERVIÇO PÚBLICO
FEDERAL UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
ZDEFORA
COMISSÃO DE ÉTICA DO SUSO DE ANIMAIS – CEUA

CERTIFICADO

ACOMISSÃO DE ÉTICA DO USOS DE ANIMAIS (CEUA) da PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF, em reunião realizada em 08/06/2021, analisou o protocolo nº. 009/2021 intitulado “**Suplementação mineral parental e desempenho reprodutivo de vacas de leite de alta produção**”, projeto de pesquisa sob a responsabilidade de José Nélio de Sousa Sales em colaboração de José Camisão de Souza, Giovanna Tavares Petrucelli e Natália Martins Barbos, a ser realizado no período de 20/06/2021 a 20/06/2022. Por estar de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovado pela CEUA. Serão utilizados 12 bovinos (*Bos taurus indicus*) fêmeas da linhagem Holandesa com 5 anos de idade, projeto a ser realizado na Fazenda Palmito - Agropecuária Rex no Município de Boa Esperança/MG. O prazo de validade desse certificado é equivalente a vigência do projeto prorrogável por mais um ano, desde que seja enviada justificativa a CEUA durante a vigência do projeto de acordo com orientação técnica do CONCEA.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº. 009/2021-CEUA about “**Suplementação mineral parental e desempenho reprodutivo de vacas de leite de alta produção**”, under responsibility of José Nélio de Sousa Sales and collaboration of José Camisão de Souza, Giovanna Tavares Petrucelli and Natália Martins Barbos, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Research adopted by Brazilian Council for Control of Animal Experimentation (Concea) and was approved by the PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF – ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL HANDLING (CEUA) in 06/08/2021. For the development of this research 12 female bovine of Holandês lineage with 5 years old that will be delivered as requested in the period of 06/20/2021 to 06/20/2022. The Project will be performed at Palmito farm located in the city of Boa Esperança-MG. The term of validity of this certificate might be extended for one more year by means of justification during the period of validity.

Juiz de Fora, 17 de junho de 2021.



Coordenadora
CEUA



Vice Coordenadora
CEUA