

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MATO GROSSO DO SUL  
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA  
PROGRAMA DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

USO DE FONTES HIDROXILADAS, SULFATADAS E  
ORGÂNICAS DE CU, ZN E MN NA NUTRIÇÃO DE  
BEZERROS DE CORTE

Acadêmica: Luana Silva Caramalac

Aquidauana-MS  
Março/2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MATO GROSSO DO SUL  
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA  
PROGRAMA DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

USO DE FONTES HIDROXILADAS, SULFATADAS E  
ORGÂNICAS DE CU, ZN E MN NA NUTRIÇÃO DE  
BEZERROS DE CORTE

Acadêmica: Luana Silva Caramalac  
Orientado: Prof. Dr. Henrique Jorge Fernandes  
Coorientador: Dr. John David Arthington

“Dissertação apresentado ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia, especialização em produção animal do Cerrado-Pantanal, Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, como parte dos requerimentos para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia”

Aquidauana-MS  
Março/2016

C17u Caramalac, Luana Silva

Uso de fontes hidroxiladas, sulfatadas e orgânicas de Cu, Zn e Mn na nutrição de bezerros de corte/ Luana Silva Caramalac.  
– Aquidauana, MS: UEMS, 2016.

Dissertação (Mestrado) – Zootecnia – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2016.

Orientador: Prof. Dr. Henrique Jorge Fernandes.

Coorientador: Dr. John David Arthington.

1. Cortisol 2. Ceruloplasmina 3. Bezerros de corte –  
nutrição I. Título

CDD 23.ed. - 636.2



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**  
**PRODUÇÃO ANIMAL NO CERRADO-PANTANAL**



**LUANA SILVA CARAMALAC**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado-Pantanal, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 01/04/2016.

Dr. Henrique Jorge Fernandes (UEMS)  
Orientador

Dra. Luísa Melville Paiva (UEMS)

Dra. Maria da Graça Moraes (UFMS)

*Àquele que é capaz de fazer infinitamente mais do que tudo o que pedimos ou pensamos, de acordo com o Seu poder que atua em nós, e a Ele seja a glória na igreja e em Cristo Jesus, por todas as gerações, para todo o sempre!*  
*Amém! !*

***Efésios 3.20-21***

Para o meu Deus Pai. Dele, por Ele e para Ele são todas as coisas, para todo o sempre seja à glória.

**Eu dedico.**

## **AGRADECIMENTOS**

Àquele que é único em minha vida, Deus Pai. Sem Ele, eu não seria e nem conseguiria nada.

Minha família. Obrigada pela paciência, encorajamento, força e sacrifício. Especialmente minha mãe Neusa Caramalac e minha tia Elda Caramalac.

Ao meu orientador Prof. Dr. Henrique Jorge Fernandes e coorientador Dr. John David Arthington, sou muito agradecida por tudo o que me proporcionaram. Grandes homens, tanto na área profissional, quanto pessoal. Sou eternamente grata por trabalhar junto com vocês.

Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul e Universidade da Flórida, pela oportunidade de realizar este sonho.

Intellibond Trace Mineral – Micronutrients. Obrigada pelo suporte financeiro e ajuda de todos.

Todas as pessoas que me ajudaram nesta jornada: Dr. André Ferraz, Dr. Arlindo Sara Netto, Dr. João Vendramini, Dr. Paulo Martins, Dr. Philipe Moriel, Andrea Dunlap, Austin Bateman, Ryan Nevling, Clay Newman, Tom Fussell, Juliana Ranches, Danieli Perez e Jorge Ralston.

Grupo de pesquisa em ruminantes pelo suporte e amizade.

Por último, não menos importante, meus amigos. Estiveram presentes e contribuíram para que esta fase fosse completada com alegria e harmonia. Em especial, meu melhor amigo, Espírito Santo. Foi e continua sendo meu porto seguro.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                                    | Página |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Resumo.....                                                                                                                                                                        | ix     |
| Abstract.....                                                                                                                                                                      | x      |
| <b>Capítulo 1</b>                                                                                                                                                                  |        |
| Considerações Gerais.....                                                                                                                                                          | 1      |
| Referências Bibliográficas.....                                                                                                                                                    | 25     |
| <b>Capítulo 2</b>                                                                                                                                                                  |        |
| Efeitos de fontes hidroxiclreto de cobre, zinco e manganês sob o consumo restrito no creep feeding, o status mineral, e desempenho de bezerros de corte no período da desmama..... | 1      |
| Resumo.....                                                                                                                                                                        | 1      |
| Introdução.....                                                                                                                                                                    | 2      |
| Materiais e métodos.....                                                                                                                                                           | 3      |
| Resultados.....                                                                                                                                                                    | 6      |
| Conclusão.....                                                                                                                                                                     | 12     |
| Referências Bibliográficas.....                                                                                                                                                    | 13     |

## LISTA DE TABELAS

Página

### Capítulo 1

|                                                                                                |   |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| <b>Tabela 1.</b> Concentração média de minerais na pastagem (Bahigrass) do Sul da Flórida..... | 4 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|---|

### Capítulo 2

|                                                                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1.</b> Composição química dos suplementos de <i>creep feeding</i> com consumo restrito fornecido na pré desmama e do pasto bahigrass ( <i>Paspalum notatum</i> ) (MS)..... | 20 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Table 1. Chemical composition of limit-fed supplements pre-weaning and pasture bahigrass (Paspalumnotatum) (DM basis).....</i> | 20 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 2.</b> Composição química do suplemento concentrado oferecido aos bezerros após a desmama..... | 21 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Table 2. Chemical composition of concentrate supplement offered to calves post-weaning.....</i> | 21 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 3.</b> Desempenho na pré desmama de bezerros que receberam suplementos de <i>creep feeding</i> com consumo restrito com ou sem enriquecimento de diferentes fontes mineral..... | 22 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Table 3. Pre-weaning performance of calves receiving limit-fed creep-feeding supplements with or without trace mineral fortification with different sources.....</i> | 22 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                             |  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| <b>Tabela 4.</b> Concentrações de minerais no fígado de bezerros que receberam suplementos de <i>creep feeding</i> com consumo restrito com |  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|

|                                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ou sem enriquecimento de diferentes fontes mineral.....                                                                                                                                                                                                                                 | 23 |
| <i>Table 4. Liver mineral concentrations of calves receiving limit-fed creep-feeding supplements with or without trace mineral fortification with different sources.....</i>                                                                                                            | 23 |
| <b>Tabela 5.</b> Concentrações plasmáticas de cortisol, haptoglobina e ceruloplasmina de bezerros desmamados que receberam suplementos de <i>creep feeding</i> com consumo restrito com ou sem enriquecimento mineral com diferentes fontes mineral durante a fase de aleitamento ..... | 24 |
| <i>Table 5. Plasma concentrations of cortisol, haptoglobin and ceruloplasmin of post-weaned calves provided limit-creep supplements during milking phase with or without trace mineral fortification with different sources.....</i>                                                    | 24 |
| <b>Tabela 6.</b> Consumo voluntário de matéria seca de bezerros desmamados que receberam suplementos de <i>creep feeding</i> com consumo restrito com ou sem enriquecimento mineral por 12 semanas antes da desmama.....                                                                | 28 |
| <i>Table 6. Voluntary dry matter intake of post-weaning calves provided limit-creep supplements with and without mineral fortification for 12 weeks pre-weaning.....</i>                                                                                                                | 28 |

## LISTA DE FIGURAS

| Capítulo 2                                                                                                                                                                                                                    | Página |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| <b>Figura 1.</b> Concentração plasmática de ceruloplasmina de bezerros desmamados que receberam suplementos de <i>creep feeding</i> com consumo restrito com ou sem enriquecimento mineral com diferentes fontes mineral..... | 25     |
| <i>Figure 1. Ceruloplasmin plasma concentrations of post-weaned calves provided limit-creep supplements during milking phase with or without trace mineral fortification with different sources mineral.....</i>              | 25     |
| <b>Figura 2.</b> Concentração plasmática de haptoglobina de bezerros desmamados que receberam suplementos de <i>creep feeding</i> com consumo restrito com ou sem enriquecimento mineral com diferentes fontes mineral.....   | 26     |
| <i>Figure 2. Haptoglobin plasma concentrations of post-weaned calves provided limit-creep supplements during milking phase with or without trace mineral fortification with different sources mineral.....</i>                | 26     |
| <b>Figura 3.</b> Concentração plasmática de cortisol de bezerros desmamados que receberam suplementos de <i>creep feeding</i> com consumo restrito com ou sem enriquecimento mineral com diferentes fontes mineral.....       | 27     |
| <i>Figure 3. Cortisol plasma concentrations of post-weaned calves provided limit-creep supplements during milking phase with or without trace mineral fortification with different sources mineral.....</i>                   | 27     |

## RESUMO

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos da fortificação da suplementação pré desmamado *creep feeding* de baixo consumo com diferentes fontes de micro minerais sobre o crescimento, o status mineral e respostas de fase aguda à desmama de bezerros de corte. Foram utilizados 20 e 24 pares de vaca/bezerro no ano um e dois, respectivamente. Os pares foram estratificados por 84 dias até o desmame. Os tratamentos foram separados aleatoriamente nos pastos em quatro grupos: (1) suplementação limitada no creep com o enriquecimento de hidroxiclreto de Cu, Zn e Mn, (2) limitada no creep com o enriquecimento de sulfato de Cu, Zn e Mn e (3) suplementação limitada no creep sem o enriquecimento mineral. O suplemento foi oferecido três vezes por semana. O status mineral dos bezerros foram avaliados por amostras de fígado, recolhido à desmama. Após o desmame, todas as novilhas foram pesadas e confinadas para uma avaliação de 16 dias. Plasmas cortisol e proteínas de fase aguda em resposta ao estresse no desmame foram avaliados através da medição das concentrações plasmáticas de sangue após a desmama. Peso vivo das bezerras foram medidas no dia 0 e dia 17. Os dados de todos os experimentos foram analisados utilizando o procedimento MIXED do SAS. Para a análise de medidas de desempenho pré e pós-desmame o modelo irá conter apenas o efeito de tratamento. O efeito significativo foi fixado em  $P < 0,05$  para todos os procedimentos estatísticos e a tendência foi utilizada se  $0,10 < P < 0,05$ . Bezerros alimentados com fonte de hidroxiclreto de Cu, Zn, Mn mostrou um aumento de 25% na ingestão em comparação com aqueles que consumiam suplementado com fonte de sulfato. A enriquecimento mineral nos suplementos não teve

influência no consumo ou ganho de peso dos bezerros pré-desmamados. Os bezerros que receberam suplementos enriquecidos com minerais apresentaram concentrações hepáticas mais elevadas de cobalto e selênio. Quando os bezerros receberam suplementos enriquecidos com minerais tenderam a ter maiores concentrações de cobre hepático, quando comparado com bezerros suplementos consumidos sem enriquecimento mineral. A enriquecimento mineral não alterou a fase de proteína aguda. Sobre o consumo de grãos não houve nenhum efeito significativo entre os tratamentos, no entanto houve uma tendência de menor consumo em novilhas que tinham recebido suplementos com enriquecimento mineral. Não houve diferença no desempenho dos animais, antes ou depois do desmame. No entanto, houve maior consumo do suplemento em animais que receberam suplemento com fonte hidroxicloreto.

Palavras-chave: Creep feeding, cortisol, ceruloplasmina, haptoglobina.

## ABSTRACT

Objectives were to evaluate the effects of pre-weaning limit-fed creep supplements fortified with different sources of trace mineral on growth performance of beef calves, and on trace mineral status, acute phase response and growth performance during feedlot post-weaning. Were used 20 and 24 cow/calf pairs in years one and two of the experiment respectively. Were stratified pairs per 84 days prior to weaning. Treatments were randomly assigned to the groups in the pastures: (1) limit-fed creep fortified with hydroxychloride Cu, Zn, and Mn, (2) limit-fed creep fortified with Cu and Zn sulfate and Mn oxide and (3) limit-fed creep without trace mineral fortification. Supplements were offered three times weekly. Calf trace mineral status was assessed in liver biopsy samples, collected at weaning. After weaning, all heifers were shrunk weighed and retained for a 16-d evaluation. Plasmas cortisol and the acute phase protein response to the weaning stress were assessed by measuring plasma concentrations of them blood samples collected. Calf post weaning BW was measured on d 0 and d 17. Data from all experiments were analyzed using the MIXED procedure of SAS. For analysis of pre- and post-weaning performance measures the model statement will contain only the effect of treatment. Significance was set at  $P < 0.05$  for all statistical procedures and tendency was declared if  $0.10 < P < 0.05$ . Calves fed with hydroxychloride Cu, Zn, and Mn source showed an increase in intake around 25% compared to those who consumed supplemented with sulfate source. Mineral fortification in the supplements had no influence on consumption or weight gain from the pre-weaned calves. Calves that received mineral supplements fortified with trace minerals this experiment had higher liver concentrations of cobalt and selenium. When calves received supplement fortified with minerals tend to have higher concentrations of hepatic copper when compared with calves supplements consumed without mineral

fortification. Mineral fortification did not alter the protein phase acute. The consumption of grains, even if there is no significant effect between treatments, there was a trend lower consumption for heifer that had received supplements with mineral fortification, compared the calves consuming supplements without fortification. There was no difference in the performance of the animals, before or after weaning. However, there was higher consumption of the supplement in animals receiving hydroxychloride source.

Keywords: Creep feeding, cortisol, ceruloplasmin, haptoglobin.

## **CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

A bovinocultura de corte possui sistema de produção constituído de tecnologias e práticas de manejo, bem como o tipo de animal, o propósito da criação, a raça ou grupamento genético, e a ecorregião onde a atividade é desenvolvida (Euclides Filho, 2000).

Seu ciclo de produção é composto por três fases: cria (produção de bezerros), recria (animais magros) e acabamento (engorda de animais para abate) (Lampert et al., 2007).

A fase do ciclo que inclui a criação de bezerro muitas vezes dura cerca de 200 dias, e é sempre motivo de atenção especial por parte do produtor de gado de corte, uma vez que fatores importantes começam a interferir com o desenvolvimento do animal (Sampaio et al., 2002).

Por consequência, é o componente mais importante do ciclo completo de gado de corte (Restle et al., 1999), e seu desempenho reflete na eficiência dos segmentos Abate/Processamento e Distribuição (Pires, 2001). Com isso, torna-se fundamental o fornecimento de bons nutrientes nesta fase.

### **1. Creep feeding de consumo restrito**

A técnica de alimentação suplementar de animais lactantes denominada *creep feeding*, pode assumir grande importância e, conforme as circunstâncias, tornar-se quesito indispensável para encurtar o tempo necessário ao acabamento dos animais para abate (Sampaio et al., 2002). Isto se explica pelo fato desta técnica ter por finalidade não reduzir o ímpeto de crescimento dos bezerros, o que normalmente ocorre após os dois meses de idade pela queda na produção de leite da mãe (Paulino et al., 2001).

Com esta finalidade, a suplementação deve ser criteriosa e adequada às condições de produção de cada sistema, sendo necessária uma avaliação de cada dieta, indicando se há equilíbrio entre os alimentos e se os requerimentos são atendidos, sem gastos desnecessários de nutrientes (Sampaio et al., 2002). Além disso, pode servir como veículo para o fornecimento controlado de micro e macrominerais, que são desperdiçados, excretados ou reparticionados durante períodos de stress (Oliveira et al., 2007; Moriel e Arthington, 2012).

No entanto, pesquisas mostram que o *creep feeding* é economicamente inviável, por causa da baixa conversão alimentar e o alto teor de nutrientes que os animais necessitam antes da desmama (Brazle et al., 1991).

Com isso, uma área de investigação que tem sido estudada, é a utilização de alimentação com consumo restrito para reduzir o elevado custo desta prática (Moriel e Arthington, 2012). De acordo com Brazle et al. (1991) este sistema para bezerros em aleitamento apresenta custo menor porque apresenta uma maior conversão alimentar.

Segundo Moriel e Arthington (2012), o consumo restrito (<0,5 kg/bezerro/dia) resulta em um ganho de peso positivo antes do desmame, melhora a eficiência alimentar do bezerro e prepara o animal para uma dieta consistindo apenas de sólidos.

O uso desta técnica para bovinos nas diversas fases do sistema de produção (cria, recria e terminação) e épocas do ano, deve ser objetivo tendo sempre como meta final aumentar a taxa de desfrute do rebanho (Porto et al., 2009).

Assim, o uso do *creep feeding* com consumo restrito pode resultar em um ganho de peso favorável antes do desmame, e também serve como veículo para fornecer minerais, melhorando o status mineral de bezerros desmamados.

## **2. Suplementação mineral**

A relação entre o ganho médio diário (GMD) do bezerro e produção de leite da mãe diminui após 16 semanas do nascimento (Leal e Freitas, 1982). Isto indica que para a obtenção o uso de suplementos pode ser necessário a partir desta fase da vida do animal (Porto et al., 2009).

Segundo Berchielli et al. (2006) as plantas forrageiras, por si, não são capazes de atender as exigências em minerais dos animais, existindo a necessidade de elaboração de suplementos adequados a cada situação.

As exigências de microminerais na dieta, necessárias para otimizar a função imune, na maioria das vezes são mais altas que o máximo recomendado para crescimento e prevenção da deficiência clínica. Certos minerais como enxofre (S), molibdênio (Mo), e ferro (Fe) possuem a habilidade de inibir as funções do cobre (Cu), zinco (Zn), selênio (Se) e manganês (Mn), pois se ligam a esses no rúmen diminuindo sua absorção (Kurz, 2004).

Porém, em bovinos outros fatores devem ser considerados como o tipo e nível de produção, idade do animal, raça, grau de adaptação do animal, o nível e a forma química do mineral no alimento e suas relações com os outros nutrientes da dieta (Borges e Paschoal, 2013).

Por outro lado, as deficiências marginais dos microminerais são de difícil diagnóstico por não apresentarem sinais clínicos característicos e, geralmente, estão associadas às interações com vários outros minerais (Barbosa e Souza, 2009).

Geralmente, a deficiência se reflete nos índices zootécnicos como baixo ganho de peso, alto índice de repetição de cio e abortos (Borges e Paschoal, 2013).

Desse modo, existem vários métodos de suplementar minerais a fim de reduzir estes fatores negativos, destacando-se fertilizantes, águas enriquecidas, remédios orais, injeções e suplementos energéticos e proteicos (Greene, 2000).

Produtores de bovinos de corte na Flórida reconhecem a importância de proporcionar uma fonte suplementar de nutrição de microminerais, pois a deficiência ou excesso de alguns minerais pode atrapalhar a produção (Tabela 1). O molibdênio é um exemplo destes, pois os solos orgânicos associados com a bacia Okeechobee têm sido associados com a produção de forragens ricas com este mineral, um antagonista da absorção do cobre (Arthington, 2012).

Tabela 1. Concentração média de minerais na pastagem (Bahagrass)<sup>1</sup> do Sul da Flórida

| Macrominerais | Concentração, % | Microminerais | Concentração, ppm |
|---------------|-----------------|---------------|-------------------|
| Fóforo        | 0,27            | Zinco         | 51,4              |
| Potássio      | 0,74            | Cobre         | 6,4               |
| Cálcio        | 0,43            | Manganês      | 54,8              |
| Magnésio      | 0,33            | Ferro         | 77,4              |

<sup>1</sup>Amostras coletadas em 9 regiões do Sul da Flórida/EUA. Amostras coletas nos meses de março até dezembro. Adaptado de Arthington, 2012.

Moriel e Arthington (2013) constataram que os bezerros que consumiram suplemento enriquecido com minerais tiveram uma forte aversão ao consumo, o que não existia quando bezerros consumiram o mesmo suplemento sem enriquecimento mineral. A hipótese destes autores foi a de que as fontes de sulfato de minerais, em particular Cu e Zn, dissociaram na boca dos bezerros, causando uma aversão ao gosto, tal como uma pessoa pode sentir quando experimenta sabor metálico. Esta hipótese foi suportada pelos sulfatos serem altamente solúveis na natureza.

Do exposto dos principais aspectos devem-se observar quais os minerais críticos a serem suplementados e quais as fontes ideais a serem oferecidas aos animais.

## 2.1. Minerais e suas interações

No metabolismo animal, minerais que são necessários em grandes proporções são chamados macrominerais, e os necessários em proporções menores são os microminerais (Mottin et al., 2013; Ortolani, 2002).

Neste aspecto, o NRC (2001) apresenta sete macrominerais (enxofre, cálcio, fósforo, magnésio, potássio, sódio e cloro) e 17 microminerais (cobre, cobalto, molibdênio, zinco, ferro, fluor, selênio, silício, alumínio, cromo, vanádio, níquel, iodo, arsênio, estanho, vanádio e manganês).

Segundo Carvalho et al. (2003) os minerais apresentam no organismo quatro funções básicas: estrutural, fisiológica, catalítica e reguladora. Podem ser exemplos destas funções os seguintes minerais:

1. Função estrutural: Minerais como Ca, P, Mg e F como componentes do tecido ósseo. Já o P e S são componentes de proteínas musculares, também exercendo função estrutural;
2. Função fisiológica: A presença de Na, K, Ca, Mg nos tecidos e líquidos corporais garantem o equilíbrio osmótico, o balanço ácido - básico e a permeabilidade das membranas;
3. Função catalítica: Os minerais podem atuar, como forma integrada, em atividades catalíticas de sistemas enzimáticos e hormonais ou fazendo parte de estruturas, como metaloenzimas. Como por exemplo a presença do Cu em enzimas, como ceruloplasmina e a tirosinase;
4. Função reguladora: Por fim, em recentes estudos, minerais como Ca, Zn e I, tem sido encontrados em processos de regulação na replicação e diferenciação celular.

A biodisponibilidade dos minerais, isto é, a proporção desse componente no alimento que é absorvido pelo animal e usado nas suas funções biológicas (Underwood e Suttle, 1999) depende de vários fatores, tais como: níveis de ingestão, a idade e o estado nutricional do animal, condições ambientais, pH intestinal, a fonte mineral, e principalmente as interações ou seja, presença de antagonistas.

As interações entre os minerais são uma das principais causas de variação de biodisponibilidade e, assim, influenciar tanto o valor nutritivo e toxicidade potencial de uma fonte particular (Suttle, 1991).

De acordo com Suttle (1991), os mecanismos em que os minerais interagem para afetar a biodisponibilidade são os seguintes: Formação de complexos não absorvíveis no intestino (por exemplo, fitatos de metal,); A competição entre cátions para o transporte bivalente específico (Fe e Mn); A concorrência entre ânions semelhantes para uma via metabólica (por exemplo  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{MoO}_4^{2-}$ ); A indução de proteínas não-específicas de ligação a metais. Assim, as interações entre os minerais podem afetar a biodisponibilidade de cada componente e/ou dois ou mais componentes podem ser afetadas simultaneamente.

Interações entre minerais costumam ter efeitos negativos, mas podem ser benéficos (suplementos de cobre, por exemplo, pequenas concentrações de Cu pode aumentar a utilização de ferro) (Suttle 1991).

Arthington et al. (2003) avaliaram o estado do Cu de novilhas em pastejo, e consumiram suplementos melaço enriquecido com sulfato de cobre ou de Cu orgânico a 100 mg / dia (cerca de 15 mg / kg de Cu na dieta total). Nesse estudo, as concentrações de Cu no fígado diminuíram ou permaneceram estáveis ao longo de um período de suplementação de 84 dias, independentemente da fonte de Cu. Arthington e Spears (2007) avaliaram a utilização de Hidroxicloreto de Cu (cloreto de cobre tribásico) e sulfato de cobre a 24 mg / kg, 2 vezes o seu requisito esperado. Neste estudo, as novilhas alimentadas com melaço observaram uma diminuição nas concentrações de Cu no fígado ao longo de um período de suplementação de 90 dias. Ambos os estudos utilizaram um modelo experimental semelhante e produziu respostas similares, revelando que o gado que consomem dietas à base de forragem superior a 0,30% de S (base de matéria seca) são incapazes de acumular concentrações de Cu no fígado, mesmo quando feita de Cu alimentar em concentrações que excedam a sua exigência em 2,5 vezes.

Dentre os microminerais, será estudado três minerais que são cátions metálicos com numerosas funções essenciais para o corpo (Koutsos, 2011). Segundo o autor, estes minerais tem como principais papéis, componentes estruturais e catalisadores de enzimas. São estes: Cobre, Zinco e Manganês.

De acordo com Paterson e Engle (2005), estes minerais estão envolvidos na resposta imunitária dos animais. E, devido à sua natureza altamente reativo, o excesso bruto de Cu, Zn e Mn pode causar significativa patologias (Koutsos, 2011).

Arthington (2012) descobriu que as concentrações de alguns minerais (em especial o cobre) no sangue são elevados durante situações de estresse. O autor concluiu que, além dos requisitos normais para a manutenção, animais em crescimento podem ter uma maior exigência desses minerais quando submetidos às situações estressantes como no desmame.

#### **2.1.1. Cobre (Cu)**

O Cu é componente de várias enzimas (Azevedo, 2005), como a citocromo oxidase, necessária para o transporte de elétrons durante a respiração aeróbica; lisil oxidase, que catalisa a formação do colágeno e elastina; ceruloplasmina, que é essencial para absorção e transporte de ferro

necessário para a síntese de hemoglobina; superóxido dismutase que protege as células dos efeitos tóxicos no metabolismo do oxigênio (NRC, 2001).

É proveniente dos alimentos apresentando pequena disponibilidade, ao redor de 4%, sendo que está intimamente ligado à forma química, na qual se encontra este microelemento e sua solubilidade (Ortolani, 2002).

Fazzio et. al., (2005) apontaram que o Cu ingressa naturalmente no organismo com a dieta, sendo absorvido no intestino delgado e transportado pela veia até o fígado, ligado especialmente à albumina. Dentro dos hepatócitos, o Cu pode ter três destinos: armazenar-se no citoplasma e lisossomos, ligado a uma proteína chamada metalotioneína e outras proteínas de baixo peso molecular; incorporar-se a ceruloplasmina, proteína encarregada de transportar cobre para outros tecidos; ou ser excretado pela bile, sua principal via de eliminação (Borges e Paschoal, 2013).

Aproximadamente 90% do Cu no plasma de mamíferos estão na forma de metaloproteínas como a ceruloplasmina, que o carrega para tecidos específicos, e atua como armazenadora e transportadora para manter a homeostase desse elemento (McDowell, 1992; González e Silva, 2003). E, é por meio desta metaloproteína que ele é transportado do fígado para os órgãos periféricos.

De acordo com Azevedo (2005), o fígado está dividido didaticamente em três formas de armazenagem do Cu: A é compartimento de estocagem temporária de cobre no fígado destinada a trocas com o sangue e excreção pela bile; B representa a estocagem temporária para incorporação na ceruloplasmina e C representa o compartimento de armazenagem por longo tempo.

Suas funções no organismo animal estão relacionadas com as enzimas: ceruloplasmina oxidase, glisil oxidase, tirosinase, glutathione peroxidase e outras que o classificam como elemento essencial para os animais (Mufarrege, 1999).

Segundo Ricciardino (1993), podem-se relacionar ao Cu outras funções, como, regulação dos processos vitais de crescimento e diferenciação celular, respiração celular, formação da melanina, síntese de colágeno e elastina, e é essencial a formação da hemoglobina. Interfere, assim, no tamanho dos adipócitos, na velocidade da lipólise e na composição lipídica em todos os sítios de deposição. Também auxilia o sistema imunológico e a reprodução.

O Cu também podem influenciar a saúde animal agindo sobre a imunidade. Ele está envolvido nas imunidades mediada por célula (para ajudar eliminar as bactérias invasoras) e humoral (ajudando a produzir anticorpos).

Participa por meio da metaloenzima (Cu, Zn, Mn dependente) superóxido dismutase, que transforma o íon superóxido em peróxido, radical livre que a enzima glutathione peroxidase eliminará durante a fagocitose (Carvalho, et. al. 2003).

Cu deve ser suplementado com sulfato de cobre, pois o óxido de cobre é muito pouco absorvido e não deve ser utilizado em suplementos de bovinos (Arthington, 2004).

Este mineral possui uma das deficiências microminerais mais recorrentes em bovinos em pastejo. Ocorre através do consumo prolongado de forragens com baixa concentração de Cu e/ou o consumo de forragem que contêm concentrações elevadas do seu antagonista natural, o molibdênio (Arthington, 2004).

O desenvolvimento animal dependerá tanto da sua concentração na dieta como das concentrações dos antagonistas que interferem com sua absorção e a subsequente utilização nos processos metabólicos (Vasquez et al., 2001).

Sabe-se que, na deficiência, diminui a atividade da superóxido dismutase, que é uma cupro-enzima que catalisa a dismutação de  $O_2$  para  $H_2O_2$ , que é o grupo oxidante que participa nas reações de defesa dos neutrófilos (Babior et al., 1973).

Também a deficiência do Cu promove uma falha na formação de colágeno, onde atua na enzima lisil-oxidase (Azevedo, 2005). Essa enzima permite a ligação cruzada entre fibras colágenas, a qual confere rigidez estrutural e elasticidade (McDowell, 1992).

Por outro lado, a toxicidade do micromineral é menor em aves de poedeiras que em outras espécies, tais como os ruminantes, embora os sintomas de toxicidade, como reduções no consumo de ração e ganho de peso corporal, podem ser vistos quando se usa quantidades extremamente elevadas de Cu, isto é, maior que 500 partes por milhões (Luo et al., 2005).

A importância de uma interação entre Cu e Mo foi descoberta quando uma diarreia grave de bovinos, associados com quantidades de Mo excessiva na forragem ocorreu em Somerset, Reino Unido, e que era controlada por

doses maciças de Cu (Ferguson et al., 1938).

As três vias de interação entre o Cu, Mo e S estão envolvidas na maioria das vezes em bovinos a pasto (Suttle, 1991).

Em bovinos suplementados com Mo e S, verificou-se baixos níveis de Cu comparados com os animais não suplementados (Cerone et al., 1998). Níveis de S dietéticos maior do que 0,35% são frequentemente considerados suspeitos no seu potencial para iniciar a deficiência de Cu, e atua como é um catalisador importante na interação de Cu/Mo (Arthington, 2004).

Os efeitos adversos de aumentar o Mo e S dietéticos sobre a utilização de Cu pelos ruminantes têm sido atribuídos à formação de tiomolibdatos (TMs) no ambiente ruminal rico em sulfeto (Azevedo, 2005).

Os efeitos sistêmicos dos TMs envolvem principalmente a inibição do metabolismo do Cu (Miltimore e Mason, 1971), pois eles se ligam com o Cu, no rúmen, para formar cobre-tiomolibdatos (Cu-TMs) que são insolúveis e indisponíveis para a absorção (Mason, 1990). Os Cu-TMs associam-se às proteínas de alto peso molecular, principalmente à albumina, e formam um complexo insolúvel (Cu-TMalbumina) e, assim, reduz-se a absorção cúprica (Azevedo, 2005). O efeito fisiológico importante da formação do complexo Cu-TMalbumina na corrente sanguínea relaciona-se à restrição da disponibilidade de Cu para síntese de ceruloplasmina (Vasquez et al., 2001).

O alto conteúdo de carboidratos fermentáveis dos alimentos digeríveis pode diminuir o pH e aumentar a disponibilidade de Cu por incremento da absorção de S e decomposição química dos TMs. Isto explicar porque o Mo (2,5 - 5,0mg/kg MS) não acelera o índice de depleção do Cu hepático em ovelhas alimentadas com uma dieta de grãos (Vasquez et al., 2001).

Antagonismos entre Cu e Fe também influenciam absorção do Cu. De acordo com Ortolani (2002), o Fe pode diminuir a disponibilidade do Cu por competição do mesmo sítio ativo de absorção intestinal. Os resultados de Marques et al. (2003) mostraram baixos teores de Cu encontrados no fígado de animais acometidos pela carência deste mineral. A principal causa da carência de Cu no estudo parece ser os altos teores de Fe nas pastagens e na água (Azevedo, 2005).

Quando o Fe e Mo são somados em uma dieta com Cu não há antagonismo aditivo do Cu (Bremner, 1987), possivelmente porque o Fe e Mo

competem por sulfeto.

Legleiter e Spears (2007), mostraram que a adição de Mn (como sulfato de manganês) para uma dieta de acabamento à base de milho para novilhos aumentou a concentração de Cu e S. Por outro lado, Hansen et al. (2009) estudaram a fase crescente de novilhos, alimentados com silagem de milho, observaram que o excesso de Mn contribui para o efeito de Fe na mucosa suprimindo as proteínas de transporte de metal.

No entanto, Cu e Zn são absorvidos através de percursos semelhantes indicando uma competição para locais de absorção. Portanto, suplementos minerais deve ser formulados com uma proporção de Cu:Zn, cerca de 1:2 ou 1:3 (Arthington, 2004).

### **2.1.2. Zinco**

O zinco é componente da timosina, hormônio produzido pelas células do timo que regula as células imunomediadas (NRC, 2001). Participa na produção, armazenagem e secreção de hormônios, bem como ativador de receptores e resposta de órgãos (Azevedo, 2005).

A principal forma de armazenamento do zinco é como metalotioneína no fígado. Sua síntese é induzida pela presença do elemento no fígado. A principal via de excreção é pelo fígado através das fezes, com pequenas quantidades eliminadas pela urina, onde a quantidade de zinco endógeno excretado pelas fezes é influenciado pelas necessidades do animal (McDowell, 1992).

O zinco é absorvido de acordo com a necessidade do animal por um processo saturável ativo em concentrações de Zn nas dietas normais. O processo ocorre principalmente no duodeno (Davies, 1980).

A absorção do Zn pode ser prejudicada pela interação exercida por outros elementos como Ca, Cu e Fe (Azevedo, 2005). Porém, pode ser favorecida pelo Mg, fosfatos e vitamina D (McDowell, 1992).

Segundo Batista (2009), o Zn é um elemento essencial nas metaloenzimas como: anidrase carbônica, polymerase de ácido nucléico e também na superóxido dismutase.

A anidrase carbônica (AC) tem importante papel na regulação do pH do rúmen e absorção dos ácidos graxos voláteis (AGV), e a alta concentração de

AC no epitélio ruminal aumenta a absorção dos AGV. Ou seja, o  $\text{CO}_2$  absorvido nas células epiteliais combina com  $\text{H}_2\text{O}$  na presença de AC e produz  $\text{HCO}_3^-$ . A produção de  $\text{HCO}_3^-$  no epitélio ruminal resulta em gradiente de próton favorável a absorção de AGV. A polimerase de ácido nucléico, responsável pela síntese de RNA, contém dois átomos de Zn. Animais deficientes em Cu e Zn mostram reduzida capacidade fagocitária. Fato associado à diminuição da disponibilidade da enzima Cu/Zn SOD requerida pelos macrófagos e neutrófilos (Borges e Paschoal, 2013).

A enzima metalotioneína representa a maior reserva de zinco no organismo animal e está presente em altas concentrações no fígado, rins, pâncreas e intestino (Borges e Paschoal, S/D).

O zinco favorece a integridade dos cascos, por acelerar a cicatrização das feridas, aumentar a velocidade de reparação do tecido epitelial e manter a integridade celular (Pardo et al., 2004). Entre os principais efeitos do Zn na produção e secreção de hormônios estão relacionados com a testosterona, insulina e corticóides da adrenal (McDowell, 1992).

Van Soest (1994) comenta do possível aumento da indisponibilidade do Zn por altas quantidades de fitato no alimento. O micromineral deve ser suplementado com o sulfato de zinco (Arthington, 2004).

Apesar do Zn estar distribuído e estocado em diversos tecidos, há considerável dificuldade em mobilizar rapidamente essas reservas em casos de deficiência (McDowell, 2003).

A deficiência de Zn tem sido associada à pododermatite em bovinos. Suplementos terapêuticos com Zn têm sido usados no controle da necrobacilose interdigital e de doenças interdigitais em bovinos (Azevedo, 2005).

É consistentemente associada com aumento da morbidade e mortalidade (Kincaid, 1999). A resposta imune a vários patógenos causa rápida diminuição do Zn sanguíneo. A deficiência de Zn está associada com redução da fagocitose e ação dos macrófagos, diminuição da população de linfócitos e atrofia do baço e timo. A resposta do linfócito T à mitogênese e às citocinas são inibidas na deficiência de Zn. Também é importante na ativação das células B (Borges e Paschoal, 2013).

Segundo Carvalho et. al., (2003), quando há deficiência de Zn em algumas espécies, e provavelmente em ruminantes, a contagem de linfócitos circulantes no sangue diminui e há redução do peso do timo, o primeiro órgão formado por tecido linfóide, que surge na vida embrionária e forma a base inicial do sistema linfático durante o crescimento do animal até atingir a puberdade. De acordo com os autores, este órgão está ligado à produção de linfócitos, isto é, células de defesa do organismo que combatem células estranhas ao código genético do hospedeiro, e que carregam em sua memória genética a resposta imune específica para cada tipo de bactéria, vírus, entre outros; e sem essa resposta imune plena há uma profunda depressão na capacidade de defesa do animal, que adoece facilmente, quando é desafiado por microrganismos patogênicos.

Ainda segundo o mesmo autor, o efeito protetor das vacinações é muito prejudicado quando há deficiência nutricional, em especial do elemento Zn. Pois para a efetiva proteção vacinal é necessária uma memória imunológica máxima por parte do linfócito T, oriundo do timo. Sem esta memória não haverá uma boa resposta imune. A vacinação contra qualquer doença (brucelose, leptospirose, aftosa, clostridiose, IBR, etc.) possui respostas imunes ineficientes, ou mesmo insuficientes, para proteção dos animais, caso sejam desafiados.

A toxicidade de Zn (superior a 500 ppm) pode provocar irritação no trato gastrointestinal, causar redução da absorção de outros nutrientes e sistemicamente vai atrapalhar as funções das proteínas, enzimas e DNA (Lu et al., 1990)

### **2.1.3. Manganês**

O Mn tem se mostrado um importante nutriente de rastreio para a formação apropriada do osso em animais jovens e otimização de fertilidade em fêmeas de bovinos (Arthington, 2004).

Têm sido encontradas concentrações muito baixas nos tecidos de mamíferos, e o mesmo é necessário para o desenvolvimento dos ossos e processos reprodutivos em ambos os sexos dos animais (Suttle, 1991).

Hurley (1981), mostrou que a privação severa de Mn pode prejudicar a imunidade e função do sistema nervoso central.

O Mn é pouco absorvido pelos ruminantes (1% ou menos) (Borges e Paschoal, 2013). Mn fornece proteção antioxidante (óxido de manganês-super dismutase) (Rosa, 1980), é um co-factor para muitas outras enzimas (Au et al., 2008), e tais como Zn e Cu, Mn possui funções no metabolismo ósseo (Beattie e Avenall, 1992).

Segundo Carvalho et al. (2003), o Mg é necessário ao organismo dos bovinos em diversos processos biológicos, tais como: Atividade enzimática – metaloenzimas Mn-dependentes como arginase, piruvato carboxilase e Mn-superóxido dismutase. Em situações extremas e com a deficiência de Mn, estas enzimas podem usar o magnésio (Mg) para substituir o Mn ; Metabolismo ósseo – o Mn está presente nos mucopolissacarídeos existentes na matriz orgânica óssea. A estrutura normal dos ossos é abalada quando há deficiência de Mn, que podem se apresentar menores e frágeis; Reprodução – principalmente de fêmeas bovinas, através do incremento da mitose das células ovarianas da granulosa e foliculares (na foliculogênese) e das células luteínicas ovarianas que formam o corpo lúteo. Isso tem reflexo direto na reprodução dos bovinos pois há o controle do nível de estrógeno e progesterona no sangue; Metabolismo dos lipídeos – Mn está envolvido na biossíntese de colesterol e da colina; Metabolismo dos Carboidratos – participando da síntese e atividade do hormônio insulina no pâncreas; Processo de coagulação sanguínea – Mn participa na síntese de protrombina e influencia no metabolismo da vitamina k; Funcionalidade e manutenção da estrutura celular – Mn participa da integridade da membrana celular; Sistema imunológico – juntamente com o Zn, Cu e Se, faz parte de metaloenzimas fundamentais para o desempenho normal dos neutrófilos e macrófagos; Funcionamento normal do sistema nervoso central; Síntese de mucopolissacarídeos.

Um elevado nível de Mn (superior a 3000 ppm) reduz o consumo de ração em frangos e pode também conduzir a deterioração neurológica progressiva e comprometimento na formação de hemoglobina (Hartman et al., 1955).

Embora a absorção de Mn na dieta e retenção em bovinos seja baixa, pois a deficiência de Mn sob pastagem é incomum, considera-se importância a nutrição de Mn porquanto este mineral é necessário antes e após o parto, uma vez que o Mn atua sobre a fertilidade da vaca e desenvolvimento de bovinos

jovens (Arthington, 2004).

A deficiência de Mn induz perose e claudicação (Luo et al., 2007), e aumenta a deposição de gordura abdominal (Lu et al., 2007).

Sulfato de Mn é a forma mais utilizada de Mn, mas é difícil de encontrar no mercado. Como uma alternativa, o óxido de manganês é uma fonte aceitável e amplamente utilizado na suplementação de Mg (Arthington, 2004).

Mecanismos de absorção de Mg de dieta bovina de leite e sólidos também são eventualmente partilhada com Fe. O Mn e Fe absorvidos são transportados no plasma por transferrina e são ocupados por receptores de transferrina no fígado (Garrick et al., 2003).

## **2.2. Fontes de minerais**

A escolha de componentes para um suplemento alimentar ou mineral é determinada pela pureza e custo por unidade de elemento ou elementos necessários; a forma química, que pode determinar a estabilidade e disponibilidade do elemento requerido; pelo tamanho das partículas, o que pode afetar a facilidade e segurança da mistura e da disponibilidade para o animal; livre de impurezas prejudiciais, tais como cádmio e flúor; compatibilidade com outros ingredientes, inclusive vitaminas; e os riscos de toxicidade (Suttle, 1991).

As fontes comumente utilizadas na nutrição animal são as inorgânicas (sulfatos, carbonatos, óxidos, cloretos e fosfatos) (Borges e Paschoal, 2013).

Existem numerosas fontes de Cu, Zn e Mn, incluindo animais e produtos vegetais, sais minerais (por exemplo, sulfatos, óxidos), quelatado ou minerais complexados (por exemplo, metionina de zinco) e minerais hidroxí, por exemplo, hidroxícloreto (Koutsos, 2011).

Os sulfatos apresentam maior biodisponibilidade que os óxidos, entretanto, para outros minerais, como o caso do Zn, os sulfatos e óxidos apresentam a mesma eficiência (Balsalobre et al., 2006). Já o uso de óxido facilita o manuseio do suplemento mineral, pois os sulfatos são mais higroscópicos que os óxidos, isso pode causar o empedramento dos suplementos (Balsalobre et al., 2006).

A restrição de fontes de minerais via óxidos pode ser atribuída ao fato de haver altas contaminações de fontes metálicas nessas matérias-primas, as

quais apresentam baixa biodisponibilidade (Balsalobre et al., 2006).

Durante o século XX, enfatizou-se a biodisponibilidade de minerais acarretando numa mudança da forma de elemento ou de óxido de cobre, e priorizando o uso de sulfato de cobre como a fonte predominante na alimentação. Infelizmente, ao mesmo tempo em que uma biodisponibilidade foi melhorada, o sulfato de cobre também apresentou efeitos colaterais indesejáveis, tais como a interação com outros ingredientes na mistura (Cohen, 2013).

Uma vez que o sulfato de cobre é altamente solúvel em água, também é um composto ácido, e, assim, um forte aceitador de elétrons. Em uma pré-mistura de minerais, estas propriedades podem conduzir à acumulação de calor e a solidificação da mistura, bem como oxidação, destruindo a sua integridade e valor (Cohen, 2013).

A maioria dos Cu inorgânicos (sulfatos, carbonatos, óxidos) dissociam e geram íons de Cu livres no estômago. Sua absorção no estômago é muito menor do que nos intestinos, e ainda é dificultada pelo Cu insolúvel. Todo o Cu, a partir de sulfato de cobre, não absorvido rapidamente através das membranas intestinais será precipitado no ambiente neutro do intestino, como sais de hidróxido e/ou de sulfureto (Cohen, 2013).

Uma das mais recentes tecnologia para melhorar a nutrição mineral de bovinos de corte é o uso de fontes de hidroxicloreto de cobre, zinco e manganês.

Minerais hidroxicloretos oferecem vantagens sobre sulfatos e óxidos minerais tradicionais por várias razões, incluindo maior biodisponibilidade, menor risco de toxicidade, maior estabilidade na alimentação e maior eficiência de ganho (Koutsos, 2011).

Hidroxicloreto é um sal neutro de Cu. Este composto pode ser considerada como um híbrido entre cloreto de cobre (fortemente ácido) e hidróxido de cobre (fortemente alcalino), em que três quartos da acidez foi neutralizada. Esta fonte provou ser muito menos destrutiva como ingrediente alimentar, por causa de sua baixa solubilidade em água, porque ele atua como um doador de elétrons (em vez de um receptor ou agente oxidante). O resultado é um sal que é totalmente insolúvel em água e ainda muito facilmente e rapidamente solúvel no intestino de um animal (Cohen, 2013).

Estas fontes de minerais inorgânicos cristalinos são formadas por ligações covalentes dentro de uma matriz cristalina. Esta estrutura de ligação covalente difere das ligações iônicas presentes nos minerais comuns à base de sulfato e é mais semelhante às ligações covalentes presentes em fontes de microminerais orgânicos. Considerando que os minerais orgânicos estão unidos covalentemente a um ligando contendo carbono, os minerais hidroxilados estão unidos covalentemente a um grupo OH (Cohen, 2013).

Tipicamente, minerais orgânicos são apresentados como moléculas individuais e minerais hidroxilados são representados por várias moléculas interligados para formar uma matriz cristalina (Cohen, 2013).

Hidroxicloretos são altamente biodisponíveis em comparação com fontes minerais tradicionais (Koutsos, 2011). Ou seja, os nutrientes são mais absorvidos e utilizados no organismo do animal (Littell et al., 1997).

Quando usados em níveis dietéticos elevados, não possuem tempo suficiente para dissolver completamente no ambiente ácido do estômago. No intestino, o Hidroxicloreto não dissolvido continuará a solubilizar-se lentamente devido à ação de agentes complexos orgânicos naturais nos fluidos digestivos. Assim, ele exibe uma forma de liberação controlada, proporcionando eficácia ao longo do intestino (Cohen, 2013).

De acordo com Cohen (2013) as propriedades físicas do Hidroxicloretos são:

1. Forma das partículas – As partículas dos Hidroxicloretos são produzidas através de um processo de cristalização, a criação de uma forma suave, esférica que flui facilmente e se dispersa uniformemente. Por outro lado, a maioria do sulfato de cobre fabricado contém partículas que são irregulares e inconsistente;
2. Tamanho das partículas – O Hidroxicloreto tem um tamanho de partícula de 60 - 100 micrómetros, por seu tamanho, possui uma ótima densidade, permitindo completar e também facilitar a distribuição de nutrientes na formulação de rações, enquanto partículas de sulfato de cobre podem variar amplamente de tamanho, cerca de 400 – 1000 micrómetros;
3. Distribuição granulométrica - Tipicamente, mais do que 90% das partículas

do Hidroxicloreto variam entre 30 e 90 microns, podendo então, contribuir facilmente para a homogeneidade na mistura;

4. Higroscopicidade – Pelo fato do sulfato de cobre ser higroscópico, ele atrai a umidade do ar, causando volume antes, durante e depois da mistura. Por outro lado, Hidroxicloreto não é, portanto, não é afetado pela umidade, mantendo-se suave e leve antes, durante e após a mistura;

5. Concentração - Por ele conter 58% de Cu em relação ao sulfato de cobre (25,2%), Hidroxicloreto reduz a dificuldade de manuseio e estocagem, e permite ter mais espaço disponível para a formulação.

Além estas características nutricionais, a matriz cristalina dos minerais hidroxilados permitem excepcionais características de manuseio. Eles são não-higroscópico e livres de poeira facilitando a mistura quando comparados aos microminerais inorgânicos e orgânicos. Dentro da formulação, minerais hidroxicloreto são altamente estáveis, particularmente quando comparado aos homólogos de sulfato. Esta estabilidade auxilia na redução da perda oxidativa de vitaminas lipossolúveis. Lu et al. (2010) reportaram uma redução de 52% na perda de vitamina E quando as dietas de frangos foram suplementadas com doses de 200 mg / kg de hidróxido de cobre que aqueles que receberam sob a forma de sulfato de cobre. O menor uso de minerais com maior absorção reduziria a poluição ambiental e melhoraria o desempenho dos animais (Balsalobre et al., 2006).

Outros pesquisadores encontraram resultados semelhantes, concluindo que hidroxicloreto de Cu é mais biodisponível para bovinos que consomem dietas ricas em S e Mo (Spears et al., 2004). Estes autores explicaram que o hidroxicloreto de Cu pode evitar algumas das interações de S e Mo no rúmen, devido à sua baixa solubilidade, evitando a formação de complexos insolúveis no rúmen. Hidroxicloreto de Cu possuem maior biodisponibilidade em condições de alimentação, onde antagonista mineral, tais como S e Mo estão presentes.

A seguir, são apresentadas concentrações médias de minerais existentes em cada fonte de Hidroxicloreto (Cohen, 2013):

### 1. Hidroxicloreto de Cu:

- . Concentração mínima: 58% de Cu e 17 – 19% de Cloreto
- . Pó verde
- . Densidade aparente:  $2144 \pm 10 \text{ kg/m}^3$  ( $132 \pm 6 \text{ lb/ft}^3$ )
- . Tamanho média da partícula: 20 - 100 $\mu\text{m}$

### 2. Hidroxicloreto de Zn:

- . Concentração mínima: 55% de Zn e 11 – 14% de Cloreto
- . Pó esbranquiçado
- . Densidade aparente:  $801 \pm 7 \text{ kg/m}^3$  ( $132 \pm 6 \text{ lb/ft}^3$ )
- . Tamanho média da partícula: 100 - 300 $\mu\text{m}$

### 3. Hidroxicloreto de Mn:

- . Concentração mínima: 44% de Mn e 16 – 19% de Cloreto
- . Pó marrom
- . Densidade aparente:  $929 \pm 10 \text{ kg/m}^3$  ( $58 \pm 5 \text{ lb/ft}^3$ )
- . Tamanho média da partícula: 100 - 300 $\mu\text{m}$

Portanto, quando se fornece fontes de minerais com maior biodisponibilidade, os animais alimentados ao requisito nutricional, necessitam de menos minerais na dieta, do que quando se utiliza fontes com menor biodisponibilidade (Koutsos, 2011). Fontes de Hidroxicloreto possuem mais estabilidade nos alimentos para os animais, mas devido a solubilidade no ambiente do trato gastrointestinal, a absorção dos minerais estarão disponível em locais específicos (Guo et al., 2001).

## 3. Estresse na desmama

O desmame é um dos eventos mais estressantes que um bezerro vai sofrer (Arthington, 2008) e a perda de minerais é uma consequência natural deste esforço (Oliveira et al., 2007).

Este estresse pode ser causado por diversos fatores, podendo ser desconforto térmico, injúrias (castração, mochação, marcação, etc.), infestação de parasitas, contaminação por doenças, fraturas ou ferimentos (Marques et

al., 2003). Estas injúrias levam os animais a ficarem agitados, demonstrando ansiedade, causando ao animal a redução no consumo de alimentos, o que prejudica seu desempenho (Rialto e Araripe, 2012).

Considera-se "Estresse à Desmama" uma situação na qual, logo após a desmama, evidencia-se nos bezerros a perda de peso e maior susceptibilidade a doenças e parasitoses (Oliveira et al., 2006). Segundo Batista (2009) condições estressantes impedem o animal de lutar contra desafios e enfermidades.

O sistema nervoso é o tecido mais complexo do organismo, sendo o primeiro a se diferenciar embriologicamente e o último a completar o seu desenvolvimento (Cordeiro, 1996).

O estresse é a resposta não específica do corpo a qualquer exigência feita sobre ele (Selye, 1973). Este pode ser induzido por parto, lactação, desmame e transporte e se tem demonstrado diminuir a capacidade do animal em responder imunologicamente a antígenos que foram expostos desafiados (Paterson e Engle, 2005).

Além disso, o estresse pode alterar o metabolismo de minerais (Paterson e Engle, 2005). Orr et al. (1990), demonstraram que a concentração plasmática de elementos minerais diminuiu significativamente em animais estressados.

Animais com bom funcionamento do sistema imune são mais resistentes e apresentam melhores desempenhos produtivos (Borges e Paschoal, 2013). Nos estudos sobre estratégias que aumentam os mecanismos de defesa do organismo, tem-se destacado os efeitos da nutrição sobre a resposta imune e, dentre os nutrientes mais estudados estão os minerais e vitaminas (Santos e Fonseca, 2006).

O Cu, Zn, Mn e Se são microminerais que atuam no sistema celular antioxidante, melhorando a resposta imunológica e contribuindo para o aumento da resistência às infecções (Borges e Paschoal, 2013). Estes nutrientes impedem a ação deletéria de radicais livres, sendo classificados como antioxidantes de prevenção (Cortinhas, 2009).

Os mecanismos antioxidantes servem para estabilizar os radicais livres, mantendo a integridade funcional e estrutural das células (Borges e Paschoal, 2013). Tais mecanismos antioxidantes são de extrema importância no sistema imune e na saúde dos animais (McDonald, 2002). Estão presentes no

organismo são dependentes de nutrientes essenciais como Cu, Zn, Se, Mn, vitamina E e vitamina A (Borges e Paschoal, 2013). Muitos desses minerais são co-fatores de enzimas, que reduzem os metabólitos reativos de oxigênio, como glutathione peroxidase, superóxido dismutase de cobre e zinco e superóxido dismutase de manganês (Kurz, 2004).

Ou seja, deficiências e/ou desequilíbrios desses elementos podem alterar as atividades de determinadas enzimas e funções de órgãos específicos e dificultar as vias metabólicas específicas, bem como a função imune geral (Paterson e Engle, 2005).

Estresse e sua relação com a ocorrência da doença têm sido reconhecida:

1. Na forma de mastite e cetose foi demonstrado que alteram o metabolismo de Zn em vacas leiteiras (Paterson e Engle, 2005);
2. Orr et al. (1990) relataram um aumento do Cu urinário e excreção de Zn em bovinos inoculados com rinotraqueíte infecciosa bovina;
3. Nockels et al. (1993) relataram que o Cu e a retenção de Zn foi diminuída em novilhos injetados com ACTH (um estressor), em conjunto com a alimentação e restrição de água.

Estes estudos indicam que o estresse sob a forma de uma infecção, de uma desordem metabólica ou a privação de alimento e de água, pode aumentar a depleção de Cu e Zn no animal (Paterson e Engle, 2005).

Muitas vezes, os animais são expostos a vários estressores em um curto espaço de tempo (Araújo et al., 2010), tais como o desmame, formação de novos lotes e mistura com outras categoria da espécie, e exposição a novos ambientes (estresse psicológico), ferimentos, estresse térmico, fadiga, restrições alimentar e hídrica durante o transporte (estresse físico), assim como uma perturbação nas funções endócrina ou neuroendócrina como resultado dos outros tipos de estresse (estresse fisiológico) (Marques et al., 2003).

Perturbações internas ou externas ao organismo do animal, resultam em uma alteração no metabolismo hepático, promovendo síntese e liberação das proteínas de fase aguda em resposta ao desafio (Marques et al., 2003).

A resposta das reações ao estresse é caracterizada pelo aumento das concentrações de citocinas pró-inflamatórias (Klasing e Korver, 1997), que

afetam o metabolismo do nutriente e o crescimento dos animais (Johnson, 1997).

A atividade das proteínas de fase aguda é uma reação imunológica normal aos estímulos estressores, tais como a vacinação, a exposição da doença, o desmame, e perturbações de ordem social (Arthington et al., 2008).

As principais proteínas estudadas em bovinos que são sintetizadas e liberadas em resposta à um processo inflamatório são haptoglobina (Hp) e ceruloplasmina (Cp), que são negativamente correlacionadas com ganho de peso (Arthington, 2005), consumo de matéria seca (Cooke et al., 2011) e subsequentemente queda no desempenho de animais submetidos a manejos estressantes.

A Hp é uma  $\alpha_2$ -globulina sintetizada no fígado em resposta da fase aguda (Yoshioka et al., 2002). Em bezerros, as concentrações de Hp são negligenciadas durante as condições de saúde. No entanto, pode aumentar mais de 100 vezes durante uma inflamação ou reações da fase aguda (Morimatsu et al., 1992).

Para estas reações, a Hp tem sido usada como um marcador para infecções, doenças e traumas em bovinos de corte e leite (Horadagoda et al., 1999). E pode ser usada como um indicador de resposta da fase aguda em bovinos sob estresse, tanto como manejos, transportes e entrada ao confinamento (Araujo et al., 2010).

A concentração plasmática de Hp foi negativamente associada com o desenvolvimento da saúde de bezerro (Cooke et al., 2009), demonstrando a importância desta proteína para o sistema de produção de bovinos de corte (Cooke e Arthington, 2012).

Por outro lado, a Cp (cobre mono amino oxidase, Cu-MAO) é uma fração  $\alpha_2$  globulina do sangue, em que cerca de 95% do cobre sérico encontra-se ligado (Azevedo, 2005).

Cp contém três oligosacarídeos ligados por asparagina e oito sítios que ligam o  $\text{Cu}^+$  ou  $\text{Cu}^{2+}$  (Azevedo, 2005). Ajuda na manutenção da homeostase do  $\text{Cu}^{2+}$  e serve no transporte de  $\text{Cu}^{2+}$  (Smith et al., 1988).

Para se detectar estados de carências, González e Silva (2003) asseveram que a determinação de Cp plasmática ou da enzima superperóxido dismutase dos eritrócitos possuem uma alta correlação com os níveis

sanguíneos de Cu.

A Cp, por exemplo, tem ação antioxidante, participa da modulação da resposta inflamatória como proteína de fase aguda em infecções ou estresse, além de ser responsável pela oxidação do Fe, para que este possa ser transportado aos tecidos hematocitopoéticos pela transferrina e finalmente oxidação de aminas aromáticas (Rosa e Mattioli, 2002).

Os primeiros dias após a entrada em confinamento são críticos para a saúde subsequente e a produtividade de bezerro de corte. Portanto, é evidente que os bezerros saudáveis ainda sofrem a reação de fase aguda e produzem proteínas de fase aguda como resultado de procedimentos de gestão normal, como o desmame e transporte (Arthington et al., 2008). A resposta pode ser um indicador-chave da produtividade no confinamento, especialmente durante o período de recepção inicial (Arthington, 2005).

Estudos mostram que bezerros pré-desmamados aos 70 a 90 dias de idade revelaram melhor desempenho em confinamento (Arthington, 2005). De acordo com estes autores, estes resultados podem afetar positivamente as concentrações plasmáticas de proteínas de fase aguda, tais como a Cp e Hp em bezerros pré-desmamados.

Outro meio de estimar o nível de estresse do animal, é por meio do cortisol. Nas condições em que estão sendo submetidos nos sistemas de produção modernos, vêm-se provocando neles diferentes graus de estresse devidos a alterações nutricionais, patológicas, metabólicas e/ou ambientais, causando aumento nos níveis plasmáticos de glicorticóides, principalmente cortisol (Roth e Kaeberle, 1982).

Os corticosteróides induzem a neutrofilia, embora a ação ocorra por mecanismos diferentes: liberação de neutrófilos da medula óssea, menor migração destes para os tecidos e diminuição da aderência à parede vascular (Stockham e Scott, 2002). E ainda, ao contrário da adrenalina, induzem a linfopenia por meio da linfólise e da diminuição da recirculação dos linfócitos (Jain, 1993).

Lefcourt e Elsasser (1995) relataram aumento da concentração de cortisol no desmame, enquanto Hickey et al. (2003) não observaram alterações nas concentrações destes hormônios durante o desmame.

A liberação de glicocorticóides, como o cortisol, reduz a função imune, a

proliferação de linfócitos e diminui a produção de citocinas (Borges e Paschoal, 2013).

Portanto, utilizar estratégias de manejo e nutricionais que previnam as doenças estimuladas pelo estresse devido aos inevitáveis procedimentos de manejo beneficiarão o bem estar e a produtividade animal promovendo maior rentabilidade do sistema de produção de bovinos de corte (Marques et al., 2003).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos do enriquecimento da suplementação pré-desmama do *creep feeding* de baixo consumo com diferentes fontes de microminerais sobre o crescimento, o status mineral e respostas de fase aguda à desmama de bezerros de corte.

## Revisão Bibliográfica

- Araújo, D.B., R.F. Cooke, G.R. Hansen, C.R. Staples, and J.D. Arthington. 2010. Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on performance and physiological responses of growing cattle following transportation and feedlot entry. *Journal Animal Science* 87:4125-4132.
- Arthington, J. D., and C. K. Swenson. 2004. Effects of trace mineral source and feeding method on the productivity of grazing braford cows. *Journal Animal Science* 20:155-161.
- Arthington, J. D., and J. W. Spears. 2007. Effects of tribasic copper chloride versus copper sulfate provided in corn- and molasses-based supplements on forage intake and copper status of beef heifers. *Journal Animal Science* 85:871-876.
- Arthington, J.D. 2008. Essential trace minerals for grazing cattle in florida. Doc.an086, One of a series of the animal science Dept, Florida cooperative extension service. University of Florida.
- Arthington, J.D. 2004. Mineral nutrition of beef cattle. In: VIII New course focuses on the production and reproduction of cattle. Uberlândia. p.148-149.
- Arthington, J.D. 2005. Effects of copper oxide bolus administration or high-level copper supplementation on forage utilization and copper status in beef cattle. *Journal Animal Science* 83:2894–2900.
- Arthington, J. D. 2012. Impact of stressors on performance of weaned calves: An overview of research on acute phase proteins and beef cattle performance. In: Proc. 23<sup>rd</sup> Fl. Rumin. Nutr. Conf., Gainesville. p. 54-72.
- Arthington, J.D., S.D. Eicher, W.E. Kunkle, and F.G. Martin. 2003. Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. *Journal Animal Science* 81:1120–1125.
- Arthington, J.D., X. Qiu, R.F. Cooke, J.M.B. Vendramini, D.B. Araujo, C.C. Chase Jr., and S.W. Coleman. 2008. Effects of pre shipping management on measures of stress and performance of beef steers during feedlot receiving. *Journal Animal Science* 86:2016–2023.

- Au, C., A. Benedetto and M. Aschner. 2008. Manganese transport in eukaryotes: The role of dmt1. *Neurotoxicology*. 29(4):569-576.
- Azevedo, E.B. 2005. Deficiência de cobre, zinco, selênio e cobalto em animais. <http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/microminerais.pdf> (Acesso 24 de Agosto 2015.)
- Babior, B.M., R.S. Kipnes, and J.T. Curnutte. 1973. Biological defense mechanisms. The production by leukocytes of superoxide, a potencial bacterial agent. *Journal Clinical Investigation*, v.52, 1973 p.741-744.
- Balsalobre, M.A.A., A.L.M. Martins, A.E. Cruz, e C.V.F. Sevilla. 2006. Formulação de misturas minerais para bovinos. In: VIII Simpósio sobre nutrição de bovinos, Fealq.
- Barbosa F.A., e G.M. 2009. Efeito dos microminerais na reprodução de bovinos. [http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos\\_efeito\\_microminerais.htm](http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos_efeito_microminerais.htm) (acesso 20 de Março 2012.)
- Batista, C. G. 2009. Utilização de complexos orgânicos de minerais no pré parto de vacas e durante o aleitamento de bezerras holandesas. Dissertação (doutorado em zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Beattie, J.H., and A. Avenall. 1992. Trace element nutrition and bone metabolism. *Nutr. Res. Rev.* 5:167-188.
- Berchielli, T.T., A.V. Pires, e S.G. Oliveira. 2006. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: Funep. 583 p.
- Borges, L.E.M., e J.J. Paschoal. 2013. Influência dos micro-minerais (Cu, Mn, Se e Zn) no sistema imunológico dos bovinos. *Cadernos de Pós Graduação da Fazu*, v. 3.
- Brazle Fk, G.L. Kuhl, C.E. Binns, K.O. Zoellner, L.R. Corah, and R.R. Schalles. 1991. The influence of limited-creep feeding on pre and post-weaning performance of spring born calves. *Journal Animal Science* 69 (suppl. 1): 76.
- Bremner, I. 1987. Involvement of metallothionein in the hepatic metabolism of copper. *Journal Nutr.* 117:19–29.
- Carvalho, F.A.N., F.A. Barbosa, and I.R. McDowell. 2003. Nutrição de bovinos a pasto. Belo Horizonte: Papelform. 427 p. Cole, N. A., C.W. Purdy, and

- D.P. Hutcheson. Influence of yeast culture on feeder calves and lambs. *Journal Animal Science* [s.l.], v. 70, p. 1682-1690, 1992.
- Cerone, S., A. Sansinanea, S. Streitenberger. 1998. Bovine neutrophil functionality in molybdenum-induced copper deficiency. *Nutrition Research*, v.18, p.557-566.
- Cohen, J. 2013. Copper nutrition. <http://www.micronutrients.net/wp-content/uploads/2013/09/2.6-feed-info-7-22-03.pdf> (Accessed 08 June 2015)
- Cooke, R.F., and J.D. Arthington. 2012. Concentrations of haptoglobin in bovine plasma determined by Elisa or a colorimetric method based on peroxidase activity. *Journal Anim. Phys. Anim. Nut.* doi:10.1111/ j.1439-0396.2012.01298.x.
- Cooke, R.F., D.W. Bohnert, P. Moriel, B.W. Hess, and R.R. Mills. 2011. Effects of polyunsaturated fatty acid supplementation on ruminal in situ forage degradability, performance, and physiological responses of feeder cattle. *Journal Animal Science* 89:3677-3689.
- Cooke, R. F., J.D. Arthington, D.B. Araujo, and G.C. Lamb. 2009. Effects of acclimation to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and pregnancy rates of Brahman-crossbred cows. *Journal Animal Science* 87, 4125–4132.
- Cordeiro, J.M.C. 1996. Exame neurológico de pequenos animais. *Educat. Pelotas/RS*. 270p.
- Cortinhas, C.S. 2009. Fornecimento de zinco, cobre e selênio orgânicos para vacas leiteiras e efeitos sobre a qualidade e saúde da glândula mamaria. *Dissertação (Mestrado em Nutrição e produção animal) – Universidade de São Paulo, Pirassununga*.
- Davies, N.T. 1980. Studies on the absorption of zinc by rat intestine. *British Journal of Nutrition* 43, 189–203.
- Euclides Filho, K. 2000. Produção de bovinos de corte e o trinômio genótipo-ambiente mercado. *Campo Grande: Embrapa/CNPGC*. 61p. (Documentos, 85).
- Fazzio, I.E., G.A. Mattioli, S.J. Picco, G.E. Traveria, E.F. Costa, y J.R. Romero. 2005. Intoxicación aguda con cobre inyectable en bovinos. *Revista Medicina Veterinaria, buenos aires*. 2005.

[http://www.produccionbovina.com/informacion\\_tecnica/a\\_gua\\_y\\_minerales/61-intoxicacion\\_aguda\\_con\\_cobre.htm](http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/a_gua_y_minerales/61-intoxicacion_aguda_con_cobre.htm) (aceso el 20 de febrero de 2016.)

- Ferguson, W.S., A.H. Lewis, S.J. and Watson. 1938. Action of molybdenum in milking cattle. *Nature*, UK 141, 553.
- Garrick, M.D., K.G. Dolan, C. Horbinski, A.J. Ghoio, D. Higgins, M. Porcubin, E.G. Moore, L.N. Hainsworth, J.N. Umbreit, M.E. Conrad, L. Feng, A. Lis, J.A. Roth, S. Singleton, and L.M. Garrick. 2003. Dmt 1: A mammalian transporter for multiple metals. *Biometals* 16, 41–54.
- González, F.H., e S.C. Silva. 2003. *Introdução à bioquímica veterinária*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 198p.
- Greene, L.W. 2000. Designing mineral supplementation of forage programs for beef cattle. *Proc. Am. Soc. Anim. Sci.* <http://www.fass.org/dasees/nutrition/0913.pdf> (accessed 14 march 2015)
- Guo, R., P.R. Henry, R.A. Holwerda, J. Cao, R.C. Littell, R.D. Miles, and C.B. Ammerman. 2001. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic copper sources for poultry. *Journal Animal Science* 79(5):1132-1141.
- Hansen, S.L., M.S. Ashwell, L.R. Legleiter, R.S. Fry, K.E. Lloyd, and J.W. Spears. 2009. The addition of high manganese to a copper-deficient diet further depresses copper status and growth of cattle. *British Journal of Nutrition* 101, 1068–1078.
- Hartman, R.H., G. Matrone and G.H. Wise. 1955. Effect of high dietary manganese on hemoglobin formation. *Journal Nutr.* 57(3):429-439.
- Hickey, M.C., M. Drennan, and B. Earley. The effect of abrupt weaning of suckler calves on the plasma concentrations of cortisol, catecholamines, acute-phase proteins and in vitro interferon-gamma production. *Journal Animal Science*, Madison, v. 81, n. 11, p. 2847-2855, 2003.
- Horadagoda, N.U., K.M.G. Knox, H.A. Gibbs, and S.W.J. Reid, A. Horadagoda, S.E.R. Edwards, and P.D. Eckersall. 1999. Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. *The Veterinary Record* 144, 437–441.
- Hurley, L.S. 1981. Teratogenic effects of manganese, zinc and copper in nutrition. *Physiological Reviews* 61, 249–295.

- Jain, N.C. 1993. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Fabinger. 417 p.
- Johnson, R.W. 1997. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: An integrated view. *Journal Animal Science* 75:1244–1255.
- Kincaid, R.L. The biological basis for selenium requirement of animals. *Animal Science*, [s.l.], n. 11, p. 26-29, 1999.
- Klasing, K.C., and D.R. Korver. 1997. Leukocytic cytokines regulate growth rate and composition following activation of the immune system. *Journal Animal Science* 75(suppl. 2):58–67.
- Koutsos, L. 2011. New prospects exist for trace mineral nutrition. *Feedstuffs*. vol. 83, no. 45.
- Kurz, W. 2004. Nutritional modulation of immunity and physiological responses in beef calves. Texas: A&M University Federal, 230 p.
- Lampert, V.N., A.G. Silva Júnior, and A.B. Mâncio. 2007. The business process and decision alternatives during the growing period of the beef cattle industry. In: Sober, Londrina. *Anais...* Londrina: Sober. p.17
- Leal, T.C., and J.E. Freitas. 1982. Correlation between milk production and weight gain in calves of charolais breed. *Anuário técnico IPZFO*, v.9, p.91-101,
- Lefcourt, A.M., and T.H. Elsasser. Adrenal responses to angus x hereford cattle to the stress of weaning *Journal Animal Science*, Madison, v. 73, n. 9, p. 2669-2676, 1995.
- Legleiter, L.R., and J.W. Spears. 2007. Plasma diamine oxidase: a biomarker of copper deficiency in the bovine. *Journal Animal Science* 85, 2198–2204.
- Littell, R. C., P. R. Henry, A. J. Lewis, and C. B. Ammerman. 1997. Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. *Journal Animal Science* 75:2672–2683.
- Lu, J.X., G.F. Combs Jr. and J.C. Fleet. 1990. Time-course studies of pancreatic exocrine damage induced by excess dietary zinc in the chick. *Journal Nutr.* 120(4):389-397.
- Lu, L., X.G. Luo, C. Ji, B. Liu, and S.X. Yu. 2007. Effect of manganese supplementation on carcass traits, meat quality and lipid oxidation in broilers. *Journal Animal Science* 85, 812–822.
- Lu, L., R.L.W. Wang, Z.J. Zhang, F.A. Steward, X. Lou, and B. Liu. 2010. Effect

- of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on the growth performance, liver copper concentrations of broilers fed in floor pens, and stabilities of vitamin e and phytase in feeds. *biol. Trace Elem. Res.* 138:181-189.
- Luo X.G., S.F. Li, L. Lu, B. Liu, X. Kuang, G.Z. Shao, and S.X. Yu. 2007. Gene expression of manganese-containing superoxide dismutase as a biomarker of manganese bioavailability for manganese sources in broilers. *Poult Sci.* 86:888–94.
- Luo, X. G., F. Ji, Y.N. Lin, F.A. Steward, L. Lu, B. Liu, and S.X. Yu. 2005. Effects of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on broiler performance, relative copper bioavailability, and oxidation stability of vitamin e in feed. *Poult. Sci.* 2005, 84:888-893.
- Marques, A.P., F. Riet-Correa, e M.P. Soares. 2003. Mortes súbitas em bovinos associadas à carência de cobre. *Pesq. Vet. Bras.* v.23, p.21-32.
- Mason, J. 1990. The biochemical pathogenesis of molybdenum-induced copper deficiency syndromes in ruminants: towards the final chapter. *Irish Vet. J.* 43:18-22.
- McDowell, L.R. 2002. Mineral supplementation for ruminants in tropical regions emphasizing organic selenium. In: T. P. Lyons and K.A. Jacques (ed.) *Proc. 18th ann. Alltech symp.* Nottingham University press, Nottingham, UK. 193p.
- McDowell, L.R. 2003. Copper and molybdenum. p 235 In *minerals in animal and human nutrition*. 2nd ed. Elsevier science, Amsterdam, The Netherlands.
- McDowell, L.R. 1992. *Minerals in animal and human nutrition*. San Diego: Academic press. 524p.
- Miltimore, J.E., and J.L. Mason. 1971. Cooper to molybdenun ratio and molybdenun and copper concentration in ruminan feeds. *Canadian Journal animal science*, v.51, 193 – 200p.
- Moriel, P., and J.D. Arthington. 2013. Effects of trace mineral-fortified, limit-fed supplements on performance of pre- and post-weaned beef calves. *Journal Animal Science*.
- Moriel, P., and J.D. Arghington. 2012. Effects of molasses-based creep-feeding supplementation on growth performance of pre-and post-weaned beef

- calves. *Livestock Sci.* v.151, 171-178p.
- Morimatsu, M., M. Sarikaputi, B. Syuto, M. Saito, S. Yamamoto, and M. Naiki. 1992. Bovine haptoglobin: Single radial immunodiffusion assay of its polymeric forms and dramatic rise in acute-phase sera. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 33, 365–372p.
- Mottin, C., I.N. Prado, D.M. Chefer, C.E. Eiras, and D.C. Rivaroli. 2013. Supplementation with chelated minerals in cattle: a review. *Rev. ciências exatas e da terra e ciências agrárias*, v.8, n.2, 59-70p.
- Mufarrege, D.J. 1999. Los minerales en la alimentacion de vacunos para carne em la argentina. *Corrientes: Eeainta mercedes*. 64 p.
- National Research Council - NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington, D.C.: National academy press. 381p.
- Nockels, C.F., J. Debonis, and J. Torrent. 1993. Stress induction affects copper and zinc balance in calves fed organic and inorganic copper and zinc sources. *Journal Animal Science* 71:2539–2545.
- Oliveira, J.S., A.M. Zanine, e E.M. Santos. 2007. Physiology, handling and feeding of beef calves. *Arquivos de ciências veterinárias e zoologia da Unipar*, v. 10, n. 1, 39-48p.
- Oliveira, R. L., M.A.A.D.F. Barbosa, M.M. Ladeira, M.M.P.D. Silva, Ziviani, A. C., e A.R. Bagaldo. 2006. Nutrição e manejo de bovinos de corte na fase de cria. *Revista brasileira de saúde e produção animal*, 7.
- Orr, C. L., D. P. Hutcheson, R. B. Grainger, J. M. Cummins, and R. E. Mock. 1990. Serum copper, zinc, calcium and phosphorus concentrations of calves stressed by bovine respiratory disease and infectious bovine rhinotracheitis. *Journal Animal Science* 68:2893-2900.
- Ortolani, E.L. 2002. Macro e microelementos. In: Spinosa, H.S., S.L. Górnaiak, e M.M. bernardi. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 641-651p.
- Pardo, P.E., H.B. Neto, S.B. Chiacchio. 2004. Determinação de zinco da sola do casco de bovinos leiteiros com ou sem lesões podais, suplementados ou não com levedura seca de cana-de- açúcar. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.34, n.5, 1501-1504p.
- Paterson, J. A., and T.E. Engle. 2005. Trace mineral nutrition in beef cattle. In nutrition conference sponsored by University of Tennessee.

- [http://www1.agric.gov.ab.ca/\\$foragebeef/frgebeef.nsf/all/ccf1019/\\$file/trace mineralproceedings.pdf](http://www1.agric.gov.ab.ca/$foragebeef/frgebeef.nsf/all/ccf1019/$file/trace mineralproceedings.pdf) (Accessed 04 August 2015)
- Paulino, M. F., E. Detmann, and J.T. Zervoudakis. 2001. Multiple supplements for growing and fattening of cattle grazing. Simpósio de produção de gado de corte, v. 2, 187-23p.
- Pires, J.A.A. 2001. The production chain of beef in brazil, domestic and international markets. In: Simpósio de produção de gado de corte, 2, Viçosa. Anais... Viçosa: UFV, 1-17p.
- Porto, M. O., M.F. Paulino, S.D.C. Valadares Filho, E. Detmann, M.F..L. Sales, V.R.M. Couto. 2009. Energy sources in multiple supplements for nellore calves on creep feeding: productive performance, intake and digestibility of nutrients. Revista Brasileira de Zootecnia, 38 (7), 1329-1339p.
- Restle, J., V.A. Polli, e D.C. Alves Filho. 1999. Desenvolvimento de bovinos de corte de diferentes grupos genéticos desmamados aos 3 ou 7 meses de idade. Revista Brasileira de Zootecnia, v.28, n.5, 1023-1030p.
- Rialto, G.C., e P. Araripe. 2012. <http://www.clubeamigosdocampo.com.br/artigo/perdas-por-estresse-em-bovinos-de-corte-1148> acesso:
- Ricciardino, M. Z. 1993. Actualización em funciones bioquímicas de cobre, selênio y zinc em ruminantes. Producción bovina de carne. Córdoba: [s.n.].
- Rosa, D. E., y G.A. Mattioli. 2002. Metabolismo y deficiência de cobre en los bovinos. Analecta Veterinária, La Plata, [s.l.], v. 22, n. 1, 7-16p.
- Rosa, I.V. 1980. Dietary phosphorus and trace element interrelationships in ruminants. Ph.D. Dissertation, University of Florida, Gainesville.
- Roth, J.A., and M.L. Kaeberle. 1982. Effect of glucocorticoids on the bovine immune system. Journal American Veterinary Medical Association, v.180, n.5, 894-901p.
- Sampaio, A A., R.D. Brito, G.D. Cruz, M.D. Alencar, P.F. Barbosa, and R.T. Barbosa. 2002. Use of NaCl in the supplement as an alternative to enable the calves supply system in creep-feeding. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 31, n. 1, 164-172p.
- Santos, M.V., e L.F.L. Fonseca. 2006. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. Barueri: Manole. 314 p.

- SAS. 1985. Sas user's guide. 5. ed. Cary, N.C., SAS institute Inc.
- Selye, H. 1973. The evolution of the stress concept. *Amer. Sci.* 61:692-699.
- Smith, E.L., R.L. Hill, e I.R. Lehman. 1988. *Bioquímica dos mamíferos*. Rio de Janeiro: 7o ed. Guanabara Koogan. 620p.
- Spears, J. W., E. B. Kegley, and L. A. Mullis. 2004. Bioavailability of copper from tribasic copper chloride and copper sulfate in growing cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 116:1–13.
- Stockham, S. L., and M.A. Scott. 2002. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. Iowa: Blackwell publishing company. 610 p.
- Suttle, N.F. 1991. The interactions between copper, molybdenum, and sulphur in ruminant nutrition. *Annu. Rev. Nutr.* 11:121–140.
- Underwood, E.J., and N.F. Suttle. 1999. *The mineral nutrition of livestock*. 3rd ed. Cabi publ. Wallingford, Oxon, U.K.
- Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2<sup>nd</sup>. ed. Ithaca, New York: Cornell University press. 476p.
- Vasquez, E.F.A., A.P.N. Herrera, and G.S. Santiago. 2001. Interação cobre molibdênio e enxofre em ruminantes. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 31, n. 6. 1101-1106p.
- Yoshioka, M., A. Watanabe, N. Shimada, H. Murata, Y. Yokomizo, Y. Nakajima. 2002. Regulation of haptoglobin secretion by recombinant bovine cytokines in primary cultured bovine hepatocytes. *Domestic animal endocrinology* 23, 425–433.

## CHAPTER 2 – SCIENTIFIC ARTICLE (JOURNAL ANIMAL SCIENCE)

### **Effects of hydroxychloride sources of copper, zinc, and manganese on measures of limit-fed creep supplement intake, mineral status, periweaning performance of beef calves<sup>1</sup>**

#### **Abstract**

Objectives were to evaluate the effects of pre-weaning limit-fed creep supplements fortified with different sources of trace mineral on growth performance of beef calves, and on trace mineral status, acute phase response and growth performance during feedlot post-weaning. Were used 20 and 24 cow/calf pairs in years one and two of the experiment respectively. Were stratified pairs per 84 days prior to weaning. Treatments were randomly assigned to the groups in the pastures: (1) limit-fed creep fortified with hydroxychloride Cu, Zn, and Mn, (2) limit-fed creep fortified with Cu and Zn sulfate and Mn oxide and (3) limit-fed creep without trace mineral fortification. Supplements were offered three times weekly. Calf trace mineral status was assessed in liver biopsy samples, collected at weaning. After weaning, all heifers were shrunk weighed and retained for a 16-d evaluation. Plasmas cortisol and the acute phase protein response to the weaning stress were assessed by measuring plasma concentrations of them blood samples collected. Calf post weaning BW was measured on d 0 and d 17 . Data from all experiments were analyzed using the MIXED procedure of SAS. For analysis of pre- and post-weaning performance measures the model statement will contain only the effect of treatment. Significance was set at  $P < 0.05$  for all statistical procedures and tendency was declared if  $0.10 < P < 0.05$ . Calves fed with hydroxychloride Cu, Zn, and Mn source showed an increase in intake around 25% compared to those who consumed supplemented with sulfate source. Mineral fortification in the supplements had no influence on consumption or weight gain from the pre-weaned calves. Calves that received mineral supplements fortified with trace minerals this experiment had higher liver concentrations of cobalt and selenium. When calves received supplement fortified with minerals tend to have higher concentrations of hepatic copper when compared with calves supplements consumed without mineral fortification. Mineral fortification did not alter the protein phase acude. The consumption of grains, even if there is no significant effect between treatments, there

was a trend lower consumption for heifer that had received supplements with mineral fortification, compared the calves consuming supplements without fortification. There was no difference in the performance of the animals, before or after weaning. However, there was higher consumption of the supplement in animals not receiving fortified mineral.

Keywords: Creep intake, cortisol, ceruloplasmin, haptoglobin

## Introduction

The stressors associated with weaning — cow/calf separation, transportation, commingling, vaccination, changes in feed and housing, etc. — lead to alterations in the physiology, immunology and nutrition (Loerch and Fluharty, 1999) of calves and affect the acute phase reaction (Arthington et al., 2003).

A hallmark activity of the acute phase reaction is the release of pro-inflammatory cytokines, which affect nutrient metabolism and animal growth (Johnson, 1997). In addition, the pro-inflammatory reaction also affects the trace mineral status of stressed calves (NRC, 1996) by liberating tissue stores of copper, zinc and selenium to support immune function (Duff and Galyean, 2007).

Research to improve the trace mineral status of the pre-weaned calf with the central aim of presenting a mineral-adequate calf at the time of weaning that is prepared to undergo the normal and expected stress-related mineral losses that will occur at weaning.

One management scheme is the trace mineral fortification of limit-fed creep feeds. In this approach, we specifically avoided offering large amounts of creep feed intake (i.e., unlimited creep feeding), which is associated with decreased feed efficiency (Stricker et al., 1979; Faulkner et al., 1994) and reduced forage utilization (Cremin et al., 1991). Instead, we focused our efforts on limit-fed creep feed supplements (less than 1.0 kg per day), which have been associated with efficient improvements in pre-weaning average daily gain and improved concentrate intake in the feedlot (Moriel and Arthington, 2013).

Hydroxycloide trace minerals have also been suggested to have greater bioavailability compared to sulfate counterparts (Spears et al., 2004) and due to their lower solubility, they may avoid certain trace mineral antagonisms in the rumen

68 (Arthington and Spears, 2007). Additional to these functional characteristics,  
69 hydrochloride trace minerals are also highly concentrated allowing for greater flexibility  
70 with formulation space.

71 Among the minerals was studied three trace minerals that are metal cations with  
72 numerous essential functions in the body (Koutsos, 2011). According to the author,  
73 these minerals have main roles, structural components and catalysts enzymes. They are  
74 involved in the immune response of animals. And, due to their highly reactive nature,  
75 gross excess can cause significant pathologies.

76 These are: Copper, Zinc and Manganese. Arthington (2012) found that the  
77 concentrations of these minerals in the blood are elevated during stress situations. The  
78 author concluded that, beyond the normal requirements for maintenance and growth,  
79 growing animals can have a higher requirement of these minerals when these stressful  
80 situations (at weaning, for example).

81 Therefore, objectives of this study were to evaluate the effects of pre-weaning  
82 limit-fed creep supplements fortified with different sources of trace mineral on growth  
83 performance of beef calves, and on trace mineral status, acute phase response and  
84 growth performance during feedlot post-weaning.

85

## 86 **Material and Methods**

87 Calves were cared in accordance with acceptable practices as outlined in the  
88 *Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and*  
89 *Teaching* (FASS, 1999). In addition, the research protocol was reviewed and approved  
90 by the University of Florida Institute of Food and Agricultural Sciences (c) Animal  
91 Research Committee. All cattle used in these experiments were derived from the  
92 resident Brangus-crossbred beef herds of the UF-IFAS Range Cattle Research and  
93 Education Center (RCREC) at Ona, Florida, EUA.

94 Twenty and 24 cow/calf pairs (Brahman x British) were used in years one and two  
95 (2013 and 2015) of the experiment, respectively. Were stratified pairs by calving date  
96 and randomly allocated them in pastures with cow-exclusion structures 84 days prior to  
97 weaning (two cow/calf pairs/pasture; 10 and 12 pastures in year one and two  
98 respectively). In year one, calves were sorted by sex (10 heifer and 10 steer calves) and  
99 assigned to pastures providing one heifer and one steer calf pair per pasture. In year  
100 two, 24 heifer calves were stratified by initial body weight (BW) and randomly assigned  
101 to treatments (two pairs/pasture also).

102 Pastures consisted of established bahiagrass (*Paspalum notatum*) with free-choice  
103 water and supplemental salt with no added minerals throughout the experiment.

104 Treatments were randomly assigned to the groups in the pastures: (1) limit-fed  
105 creep fortified with hydroxychloride Cu, Zn, and Mn (775, 2,250, and 3,000 mg/kg,  
106 respectively) (Intelibond; Micronutrients, Inc) (**Hydroxy**), (2) limit-fed creep fortified  
107 with Cu and Zn sulfate and Mn oxide (775, 2,250, and 3,000 mg/kg, respectively)  
108 (**Oxide-Sulfate**,) and (3) limit-fed creep without trace mineral fortification (**Control**) (n  
109 = 4, 3 and 3; and 4, 4 and 4 pastures for control, Hydroxy and Oxide-Sulfate in years  
110 one and two, respectively), only the calves received the treatments. Creep supplements  
111 for treatments Hydroxy and Oxide-Sulfate were also fortified with Co carbonate, Na  
112 selenite, and I (via Ethylenediamine Dihydriodide - EDDI).

113 Supplements were offered three times weekly (1,590 g/pasture/weed divided  
114 Monday, Wednesday, and Friday).

115 Weekly were collected one supplement sample and after these samples was made  
116 a subsample that were sent to a commercial laboratory for Crude protein, ADF, NDF,  
117 and TDN analysis (Dairy One Laboratory, Ithaca, NY) and for trace minerals  
118 concentrations (Diagnostic Center for Population & Animal Health, Lansing, MI)  
119 (Table 2). Samples were analyzed by wet chemistry procedures for NDF (Van Soest et  
120 al., 1991; using an Ankom 200 fiber analyzer; Ankom Technology Corp., Fairport,  
121 NY). Estimates of TDN used the equation proposed by Weiss et al. (1992).

122 Hand plucked pasture samples during the pre-weaning phase were collected in  
123 June (representing the average days of experiment) of each year (Table 2). Pre-weaning  
124 supplement samples were collected from three random bags/treatment at the beginning  
125 of each year and pooled for analysis of nutrient content. Intake of limit-fed creep were  
126 calculated on each feeding day by subtracting the amount of refusal DM from the total  
127 offered, and total dry matter (DM) intake were calculated on weekly basis. In each year,  
128 shrunk body weights were taken at the beginning (d0) of the trial and at weaning (d84).

129 Calf trace mineral status was assessed in liver biopsy samples, collected at  
130 weaning. After collection, samples were frozen at -80°C and sent to Michigan State  
131 University (Animal Health Diagnostic Laboratory, Lansing, MI) for analysis of trace  
132 mineral concentration, using inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy  
133 as described by Braselton et al. (1997).

134 After weaning, all heifers were shrunk weighed and retained for a 16-d evaluation  
135 (one heifer/pasture in year 1 and all heifers in year 2; n = 10 and 24, respectively).

136 During this period, heifers were housed individually, in covered pens (10 m<sup>2</sup>). They  
137 were provided free-choice access to a grain-based concentrate (Table 3), stargrass  
138 (*Cynodon nlemfuensis*) hay, and a complete commercial mineral supplement throughout  
139 all the feedlot period.

140 Daily dry matter intake (DMI) was determined by subtracting the DM of the daily  
141 scraps from the DM daily offered (hay and concentrate). Feed DM was determined by  
142 drying daily samples in a forced air oven at 55°C for 48 h.

143 Pre prandial blood samples were taken from the jugular vein on days 0 (weaning),  
144 2, 5, 9, and 16. Blood samples were collected into two commercial blood collection  
145 tubes (Vacutainer, 10 mL Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) with and without an  
146 anticoagulant. Blood samples were placed on ice immediately after collection and  
147 centrifuged at 1200 × g for 30 min at 4°C for serum and plasma collection. Plasmas  
148 were frozen at -20°C on the same day of collection.

149 Plasma cortisol and the acute phase protein response (via haptoglobin and  
150 ceruloplasmin) to the weaning stress were assessed by measuring plasma concentrations  
151 of them blood samples collected.

152 Plasma haptoglobin (Hp) concentrations were determined in duplicate samples by  
153 a biochemical assay measuring haptoglobin-hemoglobin complexing by the estimation  
154 of differences in peroxidase activity (Makimura and Suzuki, 1982). Results were  
155 obtained as arbitrary units resulting from the absorption reading at 450 nm. Same  
156 quality control standards used in the biochemical assay were analyzed by quantitative  
157 determination of bovine Hp in plasma (bovine haptoglobin ELISA test kit; Life  
158 Diagnostics, Inc., West Chester, PA). The concentrations of Hp, based on the ELISA  
159 assay, ranged from 0.03 (low control) to 0.95 mg/ml (high control) with an intra-assay  
160 CV of 1.26%. The ELISA standard curve was used to convert the arbitrary units  
161 obtained from the biochemical procedures into milligrams per milliliter (Cooke and  
162 Arthington, 2012) with lowest detectable value of 0.03 mg/ml. Inter- and Intra-assay  
163 CV of Hp concentrations using the biochemical procedure were 3.62 and 3.84%,  
164 respectively.

165 Plasma ceruloplasmin (Cp) oxidase activity was measured in duplicate samples by using  
166 the colorimetric procedures described by Demetriou et al. (1974). Cp concentrations  
167 were expressed as milligrams per deciliter as described by King (1965), and the

168 concentrations of Cp, ranged from 18.4 (low control) to 30.57 mg/ml (high control).  
169 Inter- and intra-assay CV for Cp concentrations were 4.95 and 2.26 %, respectively.

170 Calf post weaning BW was measured on d0 and d17 (following a 16h period of  
171 feed withdrawal).

172 For data of the experiment involving samples collected over time intervals, the  
173 model statement contained the effects of year, treatment, time, their interactions, and the  
174 random effect of pen (pasture). For analysis of pre- and post-weaning performance  
175 measures (i.e. ADG) the model statement will contain only the effect of treatment. Data  
176 pre-weaning were analyzed with the experimental unit defined as “pasture”. During the  
177 post-weaning experiment individual animal was the experimental unit. Means were  
178 compared by using orthogonal contrasts to evaluate effects of trace minerals source and  
179 the effect of fortified supplement.

180 After evaluate the time intervals data, it was used a quadratic model to evaluate  
181 the daily variation of the Cp and Hp, and a linear-plato model to study the variation of  
182 cortisol concentration.

183 Data were analyzed using the MIXED procedure, and models were adjusted using  
184 PROC NLIN of SAS v 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Significance was set at  
185  $P < 0.05$  for all statistical procedures and tendency was declared if  $0.10 < P < 0.05$ .

186

## 187 **Results**

188 Calves fed Hydroxychloride Cu, Zn, and Mn sources showed an increase in intake  
189 around 25% ( $P=0.01$ ) compared to those who consumed supplemented with  
190 oxide/sulfate source of same trace minerals (Table 4).

191 Moriel and Arthington (2013) observed that calves receiving mineral supplement  
192 fortified with trace minerals had a strong aversion to the intake of mineral-fortified  
193 creep feed, but not when receiving the same supplement without mineral fortification.  
194 The hypothesis of these authors was that the sulfate sources of minerals used,  
195 particularly copper and zinc, were disassociating in the calves' mouth, causing a taste  
196 aversion, such as a person might experience with a metallic taste experience. This  
197 hypothesis was supported by the highly soluble sulfates sources of copper and zinc in  
198 nature.

199 Thus, the lower intake of supplement with sulfate source observed in this study  
200 may have been affected by this palatability problem. Hydroxychloride sources would be

201 more palatable exactly due to its lower solubility, which would improve the taste of the  
202 supplement, and automatically, the intake.

203 Moreover, mineral fortification or source of trace minerals in the supplements had  
204 no influence on consumption or weight gain ( $P > 0.05$ ) from the pre-weaned calves. The  
205 performance here observed were similar to that reported by Moriel and Athington  
206 (2013) ( $ADG=0.90$  g/d), in animal not receiving fortified mineral sources.

207 Ryan et al. (2014) found similar results ( $ADG = 0.94 \pm 0.05$  and  $0.93 \pm 0.04$  g for  
208 sulfate and Hydroxychloride, respectively) and did not showed differences between the  
209 two sources ( $P = 12.5$ ).

210 Calves that received mineral fortification also showed no difference in final body  
211 weight ( $P=0.15$ ). Arthington (2004) didn't observe differences between body weight or  
212 body condition score of cows that consumed organic or inorganic sources of minerals,  
213 or their calves, at weaning.

214 Also, Engle and Spears (2000) when comparing source of sulfate, citrate, protein  
215 or hydroxychloride Cu in the supplementation of steers in the finishing phase, observed  
216 that there was no effect of the sources on performance and carcass characteristics of the  
217 animals.

218 Dib et al., (2011) also evaluated the effect of sulfate, organic and hydroxychloride  
219 Zn and Cu sources on performance and carcass characteristics of bulls. They observed  
220 that the final weight, average daily gain and dry matter intake didn't differ between the  
221 different sources. In addition, the hot carcass weight, rib eye area and marbling were  
222 also similar between treatments.

223 LaPierre et al., (2015) feeding male calves (<1week old) with milk substitutes  
224 containing two types of trace minerals sources (sulfate or hydroxychloride), evaluated  
225 intake, growth and health status of the animals. These authors also observed that the  
226 final body weight and average daily gain ( $ADG$  overall average of  $0.91$ g/d) did not  
227 differ between treatments. On the other hand, these authors point out that animals fed  
228 Hydroxychloride sources showed the height of rump, intake and health condition were  
229 better throughout the pre-weaning.

230 The highest concentration of cobalt (Co) and selenium (Se) in the animal body are  
231 in the liver (Otolani, 2002). Calves that received mineral supplements fortified with  
232 trace minerals in this experiment had higher ( $P=0.003$ ) liver concentrations of these  
233 minerals (Table 5).

234 According to NRC (2000), the requirement of Co and Se for beef calves are 0.10  
235 mg / kg (to both minerals). Thus, there was an excess concentration of Co (0.57 mg/kg)  
236 in the pasture here used. It increases the fact that the supplements fortified with mineral  
237 sources (Hydroxy and Oxide-Sulfate) had access to a higher concentration of these  
238 minerals in the total diets.

239 Cobalt is the trace mineral most used in cattle supplementation. According with  
240 Arthington (2012), it is not uncommon to find formulations that provide more than  
241 1000% of the animals' requirements. The author observed that this excess decreased  
242 reproductive performance of beef cows. He said that a mineral supplement should not  
243 contain more than 0.01% of Co.

244 The highest concentration of Co in animal liver supplemented with  
245 Hydroxychloride sources of copper (Cu), zinc (Zn), and manganese (Mn) observed in  
246 this study may help to prevent injuries to the nervous system of the animals, reductions  
247 in appetite and growth, muscle weakness, poor utilization of food, and anemia  
248 (Berchielli, et al., 2006), normally associated with Co deficiency. This is especially  
249 important in a period of high stress such as post-weaning period that follow the  
250 supplementation phase here evaluated.

251 Calves receiving supplement fortified with trace minerals tended ( $P < 0.07$ ) to  
252 have higher concentrations of hepatic Cu.

253 Results of liver Cu concentration are consistent with those reported by other  
254 researchers (Du et al., 1996; Aloha et al, 2004). According them, the Cu concentration  
255 in the liver increased with mineral supplementation when compared with controls.

256 According to Ortolani (2005), a no significant difference between supplemented  
257 and control animals can occur when high concentrations of other elements such as  
258 molybdenum (Mo), sulfur (S), and iron (Fe) interfere with the availability of dietary Cu.  
259 According this, Vasquez et al. (2001) explained that deficiency of the mineral elements  
260 depends on both: its concentration in the diet, and the concentrations of antagonists that  
261 interfere with the absorption and subsequent use for metabolic processes. In a study  
262 with cattle supplemented with Mo and Se, Cerone et al., (1998) observed low levels of  
263 hepatic Cu compared to unsupplemented animals. Some minerals (S, Mo, and Fe) have  
264 the ability to reduce the absorption not just of Cu, but of Zn, Mn, and Se also, binding to  
265 these minerals in rumen and decreasing their availability (Kurz 2004).

266 It's not be concluded whether or not interaction with the S in this study because it  
267 was not evaluated the S concentration.

268

269       According with Arthington (2002), heifers consuming supplement with Mo  
270 (dietary concentration = 5 ppm) showed Cu deficiency signals, whereas heifers  
271 supplemented with Fe (with the same concentration of Cu), had no signs of Cu  
272 deficiency.

273       Mo requirement is not established (NRC 2000). However, the reduction in animal  
274 performance may be associated with its toxicity, due the decreased availability of Cu  
275 (Arthington, 2002). According to NRC (2000), high Mo concentration can cause  
276 toxicity if it is over 20 mg/kg.

277       Spears et al. (2004) reported that Cu Hydroxychloride is more bioavailability for  
278 cattle. These authors explained that the Cu Hydroxychloride could avoid some of the S  
279 and Mo interaction in the rumen that could lead to its low solubility. Avoiding the  
280 formation of an soluble complexes in the rumen, Cu Hydroxychloride can provide  
281 greater bioavailability of dietary conditions where antagonist's minerals are present.

282       Arthington et al. (2003) evaluated the Cu status of grazing heifers consuming  
283 molasses-based supplements fortified with Cu sulfate or organic copper at 100 mg/day  
284 (approximately 15 mg/kg of copper in the total diet). In that study, liver Cu decreased or  
285 remained static over an 84-day supplementation period, regardless of copper source.  
286 Arthington and Spears (2007) also evaluated the use of hydroxychloride Cu and Cu  
287 sulfate at 24 mg/kg – 2 times their expected requirement. In this study, molasses-fed  
288 heifers experienced a decrease in liver Cu concentrations over a 90-day supplementation  
289 period. Both studies used a similar experimental model and produced similar responses,  
290 revealing that cattle consuming forage-based diets exceeding 0.30% S (dry matter basis)  
291 are unable to accumulate liver Cu, even when provided dietary copper in concentrations  
292 that exceed their requirement by 2.5 times.

293       Mineral fortification did not affected the concentration of Mn and Zn ( $P=0.17$  and  
294  $P=0.84$ , respectively) in the liver of animals. According with Arthington, (2004),  
295 different methods of providing mineral cows did not alter the Mn concentration in the  
296 liver.

297       In ruminants, it was reported that the Mn concentration in the liver does not  
298 substantially respond to Mn supplementation, even in extreme dietary concentrations  
299 (Underwood and Suttle, 1999).

300 On the other hand, Zn absorption can be affected by the interaction with other  
301 elements such as Ca, Cu and Fe (Marques, et al., 2011). Higher concentrations of these  
302 elements in the diet can reduce the availability of Zn.

303 Among the main Zn effects on the production and secretion of hormone are  
304 related to testosterone, insulin, and adrenal corticosteroids (McDowell, 1992).  
305 Therefore, it is one of the minerals more involved in the immune response of animals  
306 (Patterson and Engle, 2005).

307 The cortisol in the blood of the animals were not affected ( $P = 0.74$ ), by the source  
308 of trace minerals provided in the supplement (Table 6). However, it could be observed a  
309 tendency ( $P=0.06$ ) that the fortification with trace minerals reduce cortisol levels on the  
310 animals.

311 According to Rosa et al. (1980), high cortisol levels are around 6 - 8  $\mu\text{g/dL}$  in  
312 animals. The values found for cortisol in this study agree with the results obtained by  
313 Vásquez and Herrera (2003) (around 3.29  $\text{mg/dL}$ ). These authors showed the stressor in  
314 animals exposed to weather conditions (temperature and high humidity) but when  
315 animals were supplemented with chromium, its level decreased (2.11  $\text{mg/dL}$ ), showing  
316 that chromium could act as a mitigating element of the effects caused by stress. At the  
317 same way, the present results indicate that other trace minerals can also act as a  
318 mitigating element of the stress.

319 The conditions in that the animals are submitted in modern production systems  
320 has led to vary the degrees of stress, mainly due to nutritional, pathological, metabolic  
321 and/or environmental changes. This stress can cause an increase in plasma levels of  
322 glucocorticoids, especially cortisol in animals (Roth and Kaeberle, 1982).

323 Regardless of supplementation, the calves showed no significant differences  
324 ( $P \geq 0.05$ ) in Cp and Hp concentrations after weaning (Table 6). Cp and Hp are the acute  
325 phase response: an animal's initial reaction to infection, inflammation or trauma  
326 (Skinner et al., 1991).

327 Approximately 90% of the Cu in the mammalian plasma is in the form of  
328 metalloproteinase (such as Cp) (McDowell, 1992). Although there are no studies on the  
329 structure of bovine Cp, reports shows that, in human, it is a protein with a molecular  
330 weight of 151 kD, containing around 0.34% copper (Cerón et al., 2005).

331 Cp concentration in the blood is directly correlated with the Cu concentration, and  
332 may be used as it Cu status indicator in the animal (Blakley and Hamilton, 1985).

333 Unlike the results presented in this study, Spears et al. (2004) found higher values  
334 of Cp concentration when the animals were supplemented with sources of Cu  
335 hydroxychloride.

336 Hp can be also used to an indicator of the bovine acute-phase response induced by  
337 stressful management procedures, such as transport or a feedlot begging (Cooke and  
338 Bohnert, 2011), and sometimes during recent neoplastic processes (Kogika, 2003). Hp  
339 is a  $\alpha$ 2-globulin synthesized by the liver during the acute-phase response (Yoshioka et  
340 al., 2002). In cattle, circulating concentrations of Hp are negligible during healthy  
341 conditions. However, it may increase more than 100-fold during inflammatory and  
342 acute-phase reactions (Morimatsu et al., 1992).

343 Plasm Cp showed a peak in 9.09 days post-weaning, with a value of 36.2 mg/dL  
344 (Figure 1).

345 Moriel and Arthington (2013) showed that, on day 9 after weaning, heifers  
346 receiving molasses-based creep-feed supplement during the pre-weaning phase had  
347 greater plasma concentrations of Cp, that gradually decreased until the 17<sup>th</sup> day.  
348 Another research also showed similar results (Arthington et al, 2008; Moriel and  
349 Arthington, in press).

350 Research has also shown that early-weaned calves have a lessened acute phase  
351 protein response after transport and feedlot entry compared with control calves weaned  
352 on the day of transport (Arthington et al., 2005). These first few days after feedlot entry  
353 are critical to the subsequent health and productivity of the beef calf, and animal  
354 performance can increased if the stress can be reduced (Arthington et al., 2008).

355 Hp reaches a peak average of 0.754 mg/mL in 7.89 days post- weaning, reducing  
356 it concentration after this (Figure 2).

357 In agreement with Arthington et al. (2008), plasma concentrations of Hp increased  
358 on day one, and begging to return to the baseline concentrations 9 days after weaning.  
359 However as in this study, according Moriel and Arthington (2013), pre-weaning

360 supplementation of heifers did not affect plasma concentrations of Hp during the  
361 receiving period.

362 Bovine Hp concentration may increase up to 100-fold within 24 hours of the  
363 stress effect (Conner et al., 1988). It indicates that the usefulness of Hp is the early  
364 detection of an acute phase response (Skinner et al., 1991).

365 The cortisol data showed that the peak of Cortisol occurred at the weaning (Day  
366 0), and was around 4.5 µg/dL. After that, the levels were reducing until reach stability at  
367 a level of 2.73 µg/dL, around 2.55 days after weaning, (Figure 3).

368 The hay and total intake post-weaning of heifers receiving different mineral  
369 supplementation during the creep phase showed no effect ( $P>0.05$ ) of the trace minerals  
370 sources here evaluated (Table 7). However, it was possible to see a tendency ( $P=0.07$ )  
371 of the use of fortified mineral supplement to reduce total DMI.

372 When we analyze the grain intake, even there is no significant effect of trace  
373 minerals sources ( $P \geq 0.05$ ), there was a effect ( $P=0.02$ ) of lower grain intake for heifer  
374 who had received supplements with mineral fortification. This difference is the main  
375 effect that explain the tendency to a lower total DMI of these animals.

376 Aloha et al. (2004), showed, in year one, kilograms of calf weaned per cow  
377 exposed was greater in controls than in supplemented cows, and kilograms of calf  
378 weaned per cow exposed was greater in inorganic than organic treatments. And, in Year  
379 2, kilograms of calf weaned per cow exposed were greater in controls than in  
380 supplemented cows, and tended to be greater in organic than inorganic treatments. Thus,  
381 these results have been reported in the literature over the effects of minerals in the  
382 performance of pre-weaned calf (pasture) and post-weaning situations.

383 Caramalac et al. (2014) reviewed the use of different sources containing mineral  
384 supplement of trace minerals in newly weaned calves, and reported a higher intake  
385 observed in animals receiving Hydroxychloride sources of Zn, Cu and Mn. It was not  
386 observed in this trial.

### 387 **Conclusion**

388 Regardless of the source of fortification mineral, was no significant effect on  
389 growth, mineral status and response to acute phase of the animals. Consequently, it did  
390 not alter the performance and health, of the same. But the animals preferred the fortified  
391 a supplementation sources hydroxychloride. This is due to the fact that source is less

392 soluble in the mouth of the animal, with a better taste. Unlike the source of oxide-  
393 sulfate, which had a metallic taste.  
394

## Literature Cited

- Ahola J.K., D.S. Baker, and P.D.Burns. 2004. Effect of copper, zinc, and manganese supplementation and source on reproduction, mineral status, and performance in grazing beef cattle over a two-year period. *J Anim Sci* 2004;82:2375– 83.
- Arthington, J. D. 2002. Essential trace minerals for grazing cattle in Florida. AN086. Animal Science Department, University of Florida.
- Arthington, J. D., and J. W. Spears. 2007. Effects of tribasic copper chloride versus copper sulfate provided in corn- and molasses-based supplements on forage intake and copper status of beef heifers. *J. Anim. Sci.* 85:871-876.
- Arthington, J. D., F. M. Pate, and J. W. Spears. 2003. Effect of copper source and level on performance and copper status of cattle consuming molasses-based supplements. *J. Anim. Sci.* 81:1357-1362.
- Arthington, J. D., J. W. Spears, and D. C. Miller. 2005. The effect of early weaning on feedlot performance and measures of stress in beef calves. *J. Anim. Sci.* 83:933– 939.
- Arthington, J.D. 2004. Mineral nutrition of beef cattle. IN: VIII New course focuses on the production and reproduction of Cattle. Uberlândia. p. 148-149.
- Arthington, J.D. 2012. Essential trace minerals for grazing cattle in Florida. IFAS extension. University of Florida an086.
- Arthington, J.D., X. Qiu,, R.F. Cooke, J.M.B. Vendramini, D.B. Araujo, C.C. Chase Jr., and S.W. Coleman. 2008. Effects of preshipping management on measures of stress and performance of beef steers during feedlot receiving. *J. Anim. Sci.* 86, 2016–2023.

420 Berchielli, T. T., A. V. Pires, and S. G. Oliveira. 2006. Ruminant Nutrition Jaboticabal:  
421 Funep. 583p.

422 Blakley, B.R., and D.L. Hamilton. 1985. Ceruloplasmin as an indicator of copper status  
423 in cattle and sheep. Canadian Journal of Comparative Medicine, v.49, n.4, 405-  
424 408p.

425 Braselton, W.E., K.J. Stuart, T.P. Mullaney, and T.H. Herdt. 1997. Biopsy mineral  
426 analysis by inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy with  
427 ultrasonic nebulization. J.Vet. Diagn. Invest. 9:395-400.

428 Caramalac, L.S., H.J. Fernandes, and J.D. Arthington. 2014. Young beef calves  
429 preferentially consume supplements fortified with hydroxy vs. organic and sulfate  
430 sources of Cu, Zn, and Mn. In 2014 ADSA-ASAS-CSAS Joint Annual Meeting.  
431 Asas.

432 Cerón, L.L., P.D. Eckersall, and S. Martínez-subiel. 2005. Acute phase proteins in  
433 dogs and cats: current knowledge and future perspectives. Vet. Clin. Pathol., v. 34,  
434 n. 2, p. 85-99.

435 Cerone, S., A. Sansinanea, and S. Streitenberger. 1998. Bovine neutrophil functionality  
436 in molybdenum-induced copper deficiency. Nutrition Research, v.18, p.557-566.

437 Conner, J.G., P.D. Eckersall, A. Wiseman, and T.A. Douglas. 1988. Research in  
438 Veterinary Science 44, 82.

439 Cooke, R. F., and D.W. Bohnert. 2011. Bovine acute-phase response following  
440 corticotrophin-release hormone.

441 Cooke, R.F. and J.D. Arthington. 2012. Concentrations of haptoglobin in bovine plasma  
442 determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity. J.  
443 Anim. Phys. Anim. Nut. doi:10.1111/j.1439-0396.2012.01298.x.

444 Cremin, Jr., J.D., D.B. Faulkner, N.R. Merchen, G.C. Fahey Jr., R.L. Fernando and C.L.

445 Willms. 1991. Digestion criteria in nursing beef calves supplemented with limited  
 446 levels of protein and energy. *J. Anim. Sci.* 69:1322-1331.

447 Demetriou, J.A., P.A. Drewes, P.A., and J.B. Gin. 1974. Ceruloplasmin. In: D.C.  
 448 Cannon and J. W. Winkelman, editors, *Clinical chemistry*. Harper and Row,  
 449 Hagerstown, MD. p.857-864

450 Dib M.G., J.J. Wagner, K. Perryman, J.W. Spears, and T.E. Engle. 2011. Effects of zinc  
 451 and copper source and concentration on feedlot performance and carcass  
 452 characteristics in yearling steers. Available at: <[http://www.micronutrients.net/wp-](http://www.micronutrients.net/wp-content/uploads/2015/06/CSU-feedlot-abstract-2011.pdf)  
 453 [content/uploads/2015/06/CSU-feedlot-abstract-2011.pdf](http://www.micronutrients.net/wp-content/uploads/2015/06/CSU-feedlot-abstract-2011.pdf) > Accessed on: Dez. 28,  
 454 2015.

455 Du, Z., R.W. Hemken, and R.J. Harmon. 1996. Copper metabolism of Holstein and  
 456 Jersey cows and heifers fed diets high in cupric sulfate or copper proteinate. *Journal*  
 457 *of Dairy Science* 79, 1873–1880.

458 Duff, G.C., and M.L. Galyean. 2007. Board-invited review: Recent advances in  
 459 management of highly stressed, newly received feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 85:823-  
 460 840.

461 Engle, T. E., and J. W. Spears. 2000. Effects of dietary copper concentration and source  
 462 on performance and copper status of growing and finishing steers. *J. Anim. Sci.*  
 463 78:2446.

464 FASS. 1999. Guide for the care and use of agricultural animals in ag- ricultural research  
 465 and teaching. 1st rev. ed. Fed. Anim. Sci. Soc., Savoy, IL.

466 Faulkner, D.B., D.F. Hummel, D.D. Bruskirk, L.L. Berger, D.F. Parrett, and G.F.  
 467 Cmarik. 1994. Performance and nutrient metabolism by nursing calves  
 468 supplemented with limited or unlimited corn or soyhulls. *J. Anim. Sci.* 72:470-477.

469 Johnson, R.W. 1997. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: An

integrated view. *J. Anim. Sci.* 75:1244-1255.

King, J. 1965. Ceruloplasmin. Pages 108–110 in *Practical Clinical Enzymology*. Van Nostrand, London.

Kogika, M.M. 2003. Determination of serum haptoglobin, ceruloplasmin and a-acid glycoprotein in dogs with hemorrhagic gastroenteritis. *Ciênc. Rural*, v. 33, n. 3, p. 513-517.

Koutsos, L. 2011. New prospects exist for trace mineral nutrition. *Feedstuffs*. Reprinted with permission from V. 83, N. 45.

Kurz, W. 2004. Nutritional Modulation of immunity and physiological responsis in beef calves. Texas: A&M.

LaPierre P.A., S.Y. Morrison, K.T. Perryman, T. Parr, and J.K. Drackley. 2015. Effects of Hydroxy vs. Sulfate Forms of Trace Minerals in Milk Replacer or Starter on Dairy Calves through Weaning. Available at: <<http://www.micronutrients.net/wp-content/uploads/2015/06/Abstract-Univ.-of-IL-Impact-of-Trace-Mineral-Source-on-Calf-Performance-Health.pdf>> Accessed on: Dez. 28, 2015.

Loerch, S.C., and F.L. Fluharty. 1999. Physiological changes and digestive capabilities of newly received feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 77:1113-1119.

Makimura, S., and N. Suzuki. 1982. Quantitative determination of bovine serum haptoglobin and it elevation in some inflammatory diease. *Jpn. J. Vet. Sci.* 53:33-39.

Marques, A. V. D. S., P.C. Soares, F. Riet-Correa, I.O.D. Mota, T.L.D.A. Silva, Á.V. Borba Neto, and S. P. D. Alencar. 2011. Serum and liver concentrations of copper, iron, zinc and molybdenum in sheep and goats in the state of Pernambuco. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 31(5), 398-406.

495 McDowell, L.R. 1992. Minerals in animal and human nutrition. New York : Academic,.  
 496 370p.

497 Moriel, P., and J.D. Arthington. 2013. Effects of molasses-based creep-feeding  
 498 supplementation on growth performance of pre-and post-weaned beef calves.  
 499 Livestock Sci.151:171-178.

500 Moriel, P., and J.D. Arthington. Effects of trace mineral-fortified, limit-fed supplements  
 501 on performance of pre- and post-weaned beef calves. J. Anim. Sci., in press.

502 Morimatsu, M., M. Sarikaputi, B. Syuto, M. Saito, S. Yamamoto and M. Naiki. 1992.  
 503 Bovine haptoglobin: single radial immunodiffusion assay of its polymeric forms  
 504 and dramatic rise in acute-phase sera. Veterinary Immunology and  
 505 Immunopathology. 33:365–372.

506 National Research Council – NRC. 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th ed.  
 507 Natl. Acad. Press, Washington, D.C.

508 National Research Council – NRC. 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle, 7th  
 509 edn. National Academy of Sciences, Washington, DC.

510 Ortolani, E. L. 2005. Macro-and microelements. In: Spinosa, H. S., Górniak, S. L.,  
 511 Bernardi, M. M.

512 Ortolani, E.L. 2002. Macro-and microelements. In: Spinosa, H.S.; Górniak, S.L.;  
 513 Bernardi, M.M. Pharmacology applied to veterinary medicine. p.641-651.

514 Patterson, J. A., and T.E. Engle. 2005. Trace mineral nutrition in beef cattle. In  
 515 Nutrition Conference sponsored by Department of Animal Science, UT.

516 Rosa, G.U.G.L.I.E.L.M.O., C.L. Keen, R.M. Leach, R. M., and L.L.S. Hurley. 1980.  
 517 Regulation of superoxide dismutase activity by dietary manganese. J. Nutr, 110,  
 518 795-804.

519 Roth, J.A., and M.L Kaeberle. 1982. Effect of glucocorticoids on the bovine immune  
520 system. Journal American Veterinary Medical Association, v.180, n.5, p.894-901.

521 Ryan, A., E. B. Kegley, J. Hawley, J.A. Hornsby, J.L. Reynolds, and S.B. Laudert. 2014.  
522 Supplemental trace minerals (Zn, Cu, and Mn) as sulfates, organic amino acid  
523 complexes, or hydroxy trace mineral sources for shipping-stressed calves. Animal  
524 Science Arkansas Animal Science, 34. SAS Inst. Inc., 2006. SAS Statistics User's  
525 Guide. SAS Inst. Inc., Cary, NC., Release Version 9.2.

526 SAS Intitute. 1996. User's guide: Statistical Analysis System Institute. 5. ed. North  
527 Carolina: Cray. 956 p.

528 Skinner, J. G., R. A. Brown, and L. Roberts, L. 1991. Bovine haptoglobin response in  
529 clinically defined field conditions. The veterinary record, 128(7), 147-149.

530 Spears, J. W., E. B. Kegley, and L. A. Mills. 2004. Bioavailabilty of copper from  
531 tribasic copper chloride and copper sulfate in growing cattle. Anim. Feed Sci. Tech.  
532 116:1-13.

533 Stricker, J.A., A.G. Matches, G.B. Thompson, V.E. Jacobs, F.A. Martz, H.N. Wheaton,  
534 H.D. Currence, and G.F. Krause. 1979. Cow-calf production on tall fescue-ladino  
535 clover pasture with and without nitrogen fertilization or creep feeding: Sprinh  
536 calves. J. Anim. Sci. 48:51.

537 Underwood, E.J., and N.F. Suttle. 1999. The mineral nutrition of livestock. 3rd Ed. Cabi  
538 Publ. Wallingford, Oxon, UK.

539 Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, netral  
540 detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J.  
541 Dairy Sci 74:3583-3597

542 Vázquez E.F.A., e A.P.N. Herrera. 2003. Concentração plasmática de cortisol, uréia,  
543 cálcio e fósforo em vacas de corte mantidas a pasto suplementadas com levedura de  
544 cromo durante a estação de monta. *Ciência Rural* (Santa Maria), 33, 743-747

545 Vasquez, E.F.A., A.P.N. Herrera, and G.S. Santiago. 2001. Interaction copper  
546 molybdenum and sulfur in ruminants. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 31, n. 6,  
547 p.1101-1106.

548 Weiss, W. P., H. R. Conrad and N. R. St. Pierre. 1992. A theoretically- based model for  
549 predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. *Anim. Feed*  
550 *Sci. Technol.* 39:95-110.

551 Yoshioka, M., A. Watanabe, N. Shimada, H. Murata, Y. Yokomizo, and Y. Nakajima.  
552 2002. Regulation of haptoglobin secretion by recombinant bovine cytokines in  
553 primary cultured bovine hepatocytes. *Domestic Animal Endocrinology* 23, 425–  
554 433.

555  
556  
557  
558  
559  
560  
561  
562  
563  
564  
565  
566  
567  
568  
569  
570

571 Table 2. Chemical composition of limit-fed supplements pre-weaning and pasture  
572 bahigrass (*Paspalum notatum*) (DM basis).<sup>1</sup>

| Item                         | Year one                       |         |               | Year two |         |               | Pasture |
|------------------------------|--------------------------------|---------|---------------|----------|---------|---------------|---------|
|                              | Control                        | Hydroxy | Oxide-Sulfate | Control  | Hydroxy | Oxide-Sulfate |         |
|                              | -----Limit-fed supplement----- |         |               |          |         |               |         |
| TDN, %                       | 82                             | 82      | 83            | 80       | 82      | 81            | 59,00   |
| CP, %                        | 42.0                           | 41.4    | 41.0          | 37.5     | 40.0    | 40.2          | 10,53   |
| NDF, % <sup>2</sup>          | 17.8                           | 15.9    | 15.1          | 21.3     | 17.4    | 18.2          | NA      |
| Calcium, %                   | 1.40                           | 1.61    | 1.54          | 1.60     | 1.96    | 1.81          | 0,40    |
| Potassium, %                 | 1.92                           | 2.04    | 2.08          | 2.06     | 2.05    | 2.14          | 1,36    |
| Magnesium, %                 | 0.28                           | 0.29    | 0.29          | 0.29     | 0.28    | 0.27          | 0,30    |
| Sodium, %                    | 0.451                          | 0.641   | 0.712         | 0.512    | 0.624   | 0.520         | 0,01    |
| Phosphorus, %                | 0.61                           | 0.60    | 0.63          | 0.54     | 0.58    | 0.55          | 0,21    |
| Cobalt, mg/kg <sup>2</sup>   | NA                             | NA      | NA            | 2.36     | 46.75   | 12.24         | 0.57    |
| Copper, mg/kg                | 64                             | 759     | 798           | 28       | 964     | 989           | 11.67   |
| Iron, mg/kg                  | 261                            | 508     | 550           | 304      | 574     | 477           | 70.33   |
| Manganese, mg/kg             | 56                             | 2865    | 2740          | 157      | 3777    | 3463          | 60.00   |
| Molybdenum,mg/kg             | 8.8                            | 10.6    | 10.8          | 7.6      | 8.4     | 8.9           | 1.33    |
| Selenium, mg/kg <sup>2</sup> | NA                             | NA      | NA            | 0.79     | 8.85    | 12.16         | 0.05    |
| Zinc, mg/kg                  | 168                            | 2210    | 2370          | 115      | 3067    | 2603          | 40.33   |

573 <sup>1</sup>Results are a mean of 3 analyses conducted from random samples collected during the 84-d feeding  
574 period.

575 <sup>2</sup>NA=not analyzed

576

577

578

579

580

581

582

583

584

585

586

587 Table 3. Concentrate supplement offered to calves post-weaning.

| Item                   | Units    | Actual  |
|------------------------|----------|---------|
| Dry Matter             | %        | 88.77   |
| TDN                    | %        | 66.99   |
| Digestible Energy      | Mcal/kg  | 2.86    |
| NE Maintenance         | Mcal/kg  | 1.54    |
| NE Gain                | Mcal/kg  | 1.056   |
| CrudeProtein           | %        | 17.59   |
| CrudeFiber             | %        | 19.36   |
| Calcium:Phosphorus     | Ratio    | 1.19    |
| Calcium                | %        | 0.52    |
| Cation/Anion Balance   | mEq/100g | 15.33   |
| Vitamin A              | KIU/kg   | 1728.93 |
| Vitamin D              | KIU/kg   | 508.83  |
| Vitamin E              | IU/kg    | 93.038  |
| Lasalocid <sup>1</sup> | g/ton    | 67.60   |

588 <sup>1</sup>Bovatec ® 20CC Lasalocid Sodium Premix (Ionophore)

589

590

591

592

593

594

595

596

597

598

599

600

601

602

603

Table 4. Pre-weaning performance of calves receiving limit-fed creep-feeding supplements with or without trace mineral fortification with different sources<sup>1, 4</sup>

| Item                      | Treatment    |         |               | SEM  | Contrast               |                      |
|---------------------------|--------------|---------|---------------|------|------------------------|----------------------|
|                           | Control      | Hydroxy | Oxide-Sulfate |      | Hidro vs Oxide/Sulfate | Control vs Fortified |
|                           | -----kg----- |         |               |      |                        |                      |
| Creep Intake <sup>4</sup> | 7.6          | 8.2     | 6.5           | 0.43 | 0.01                   | 0.72                 |
| Initial BW <sup>3</sup>   | 130          | 137     | 134           | 4.5  | 0.56                   | 0.30                 |
| Final BW <sup>3</sup>     | 213          | 229     | 217           | 5.9  | 0.15                   | 0.15                 |
| BW Gain                   | 83           | 90      | 83            | 3.4  | 0.12                   | 0.32                 |

<sup>1</sup>Values are least square means.

.

<sup>3</sup>Initial and final BW (d 84; weaning) were collected without feed.

<sup>4</sup>Total creep intake over 84 d.

Table 5. Liver mineral<sup>1</sup> concentrations of calves receiving limit-fed creep-feeding supplements with or without trace mineral fortification with different sources<sup>2</sup>.

| Item | Treatment                  |         |               | SEM   | P-Value Contrast |              |
|------|----------------------------|---------|---------------|-------|------------------|--------------|
|      | Control                    | Hydroxy | Oxide-Sulfate |       | Hidroxx vs       | Control      |
|      |                            |         |               |       | Oxide/Sulfate    | vs Fortified |
|      | -----mg/kg (DM basis)----- |         |               |       |                  |              |
| Co   | 0.09                       | 0.28    | 0.17          | 0.032 | 0.02             | 0.003        |
| Cu   | 129                        | 163     | 209           | 25.7  | 0.22             | 0.07         |
| Fe   | 247                        | 259     | 296           | 25.3  | 0.31             | 0.34         |
| Mn   | 9.9                        | 9.4     | 12.5          | 1.62  | 0.83             | 0.17         |
| Mo   | 3.04                       | 2.97    | 3.29          | 0.352 | 0.88             | 0.49         |
| Se   | 0.25                       | 0.51    | 0.62          | 0.075 | 0.32             | 0.003        |
| Zn   | 161                        | 161     | 158           | 7.8   | 0.75             | 0.84         |

<sup>1</sup>Liver samples were collected at weaning.

<sup>2</sup>Values are least square means. N = 34 total samples (10 and 24 for years 1 and 2, respectively).

631 Table 6. Plasma concentrations of cortisol, haptoglobin and ceruloplasmin of post-  
632 weaned calves provided limit-creep supplements during milking phase with or without  
633 trace mineral fortification with different sources.

634

| Item                 | Treatment |         |                   | SEM   | <i>P</i> -Value Contrast        |                         |
|----------------------|-----------|---------|-------------------|-------|---------------------------------|-------------------------|
|                      | Control   | Hydroxy | Oxide/<br>Sulfate |       | Hidroxi vs<br>Oxide/<br>Sulfate | Control vs<br>Fortified |
| Cortisol, µg/dL      | 3.536     | 2.989   | 3.089             | 0.119 | 0.74                            | 0.06                    |
| Haptoglobin, mg/mL   | 0.230     | 0.372   | 0.297             | 0.062 | 0.38                            | 0.16                    |
| Ceruloplasmin, mg/mL | 27.03     | 27.02   | 28.88             | 1.152 | 0.77                            | 0.24                    |

635

636

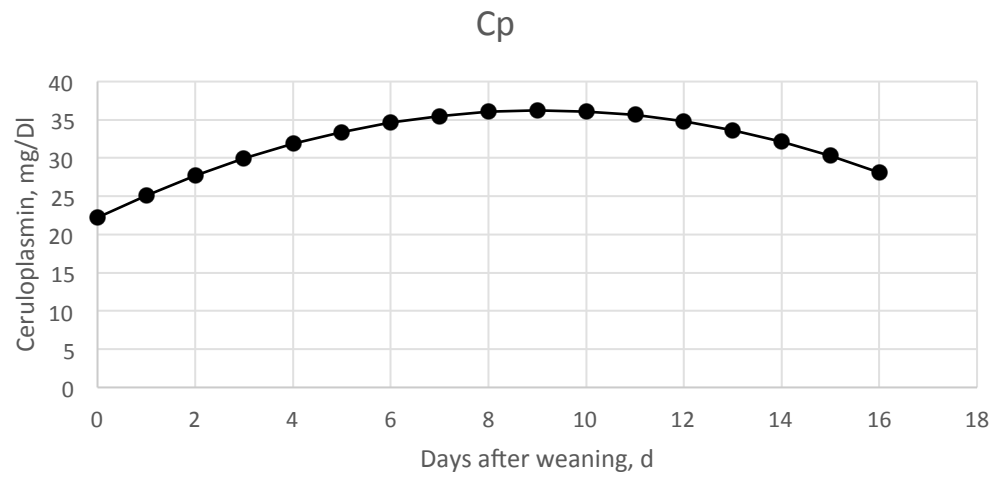


Figure 1. Ceruloplasmin plasma concentrations of post-weaned calves provided limit-creep supplements during milking phase with or without trace mineral fortification with different sources.

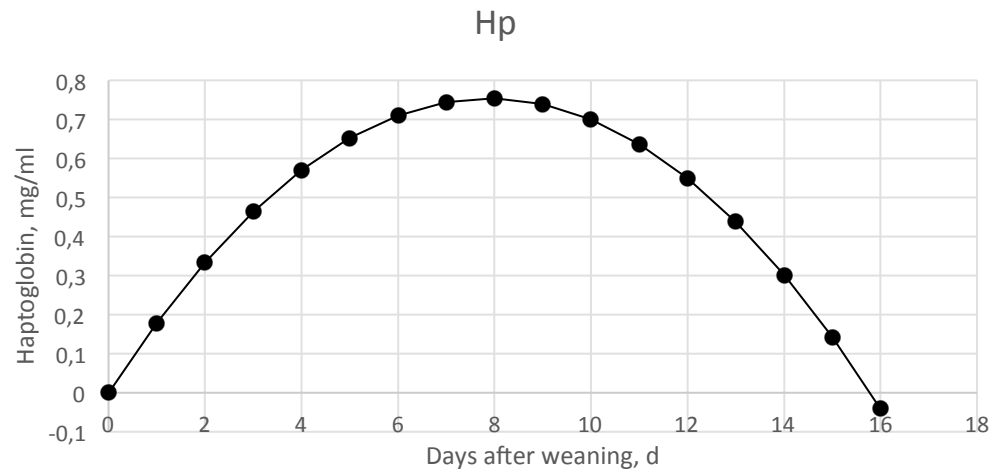


Figure 2. Haptoglobin plasma concentrations of post-weaned calves provided limit-creep supplements during milking phase with or without trace mineral fortification with different sources.

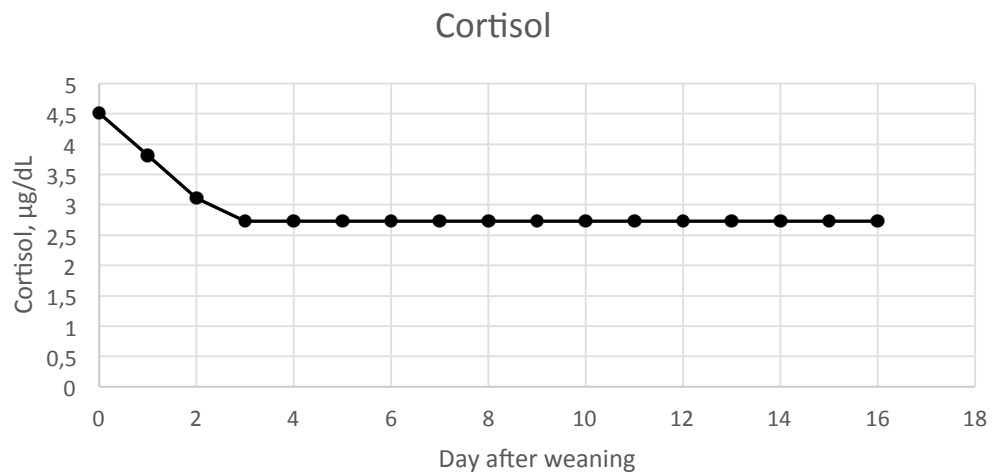


Figure 3. Cortisol plasma concentrations of post-weaned calves provided limit-creep supplements during milking phase with or without trace mineral fortification with different sources.

696 Table 7. Voluntary dry matter intake of post-weaning calves provided limit-creep  
 697 supplements with and without mineral fortification for 12 weeks post-weaning.

698

| Item, kg/d | Treatment |         |                   | SEM   | P-Value Contrast                |                         |
|------------|-----------|---------|-------------------|-------|---------------------------------|-------------------------|
|            | Control   | Hydroxy | Oxide/<br>Sulfate |       | Hidroxy vs<br>Oxide/<br>Sulfate | Control vs<br>Fortified |
| Hay        | 0.738     | 0.791   | 0.734             | 0.056 | 0.46                            | 0.71                    |
| Grain      | 1.142     | 0.691   | 0.715             | 0.160 | 0.91                            | 0.02                    |
| Total      | 1.874     | 1.517   | 1.417             | 1.188 | 0.69                            | 0.07                    |

699

700

701

702

703

704

705