

TATIANE RODRIGUES DA SILVA

**CARÊNCIA DE MACRO E MICROELEMENTOS EM CAPRINOS,
OVINOS E BOVINOS NOS ESTADOS DA PARAÍBA E
PERNAMBUCO**

RECIFE-PE

2014



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

TATIANE RODRIGUES DA SILVA

**CARÊNCIA DE MACRO E MICROELEMENTOS EM CAPRINOS,
OVINOS E BOVINOS NOS ESTADOS DA PARAÍBA E
PERNAMBUCO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Veterinária do Departamento de Medicina
Veterinária da Universidade Federal Rural do
Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do
grau de Doutor em Ciência Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Pierre Castro Soares
Co-Orientador: Prof. Dr. Franklin Riet-Correa

RECIFE-PE

2014

S586c Silva, Tatiane Rodrigues da.
Carência de macro e microelementos em caprinos, ovinos e bovinos nos Estados da Paraíba e Pernambuco / Tatiane Rodrigues da Silva. – Recife, 2014.
56 f.: il.

Orientador(a): Pierre Castro Soares.
Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, 2014.
Inclui anexo(s) e referências.

1. Hipocuprose. 2. Dosagem hepática e sérica. 3. Ataxia enzoótica. I. Soares, Pierre Castro, orientador. II. Título

CDD 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

CARÊNCIA DE MACRO E MICROELEMENTOS EM CAPRINOS, OVINOS E
BOVINOS NOS ESTADOS DA PARAÍBA E PERNAMBUCO

Tese de Doutorado elaborada por
TATIANE RODRIGUES DA SILVA

Aprovada em/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. PIERRE CASTRO SOARES
Orientador – Professor na UFRPE/ Campus Recife – PE

Prof. Dr. FRANKLIN RIET-CORREA
Co-orientador – Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária UFCG/Campus Patos – PB

Profª. Dra. SARA VILAR DANTAS SIMÕES
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária UFCG/Campus Patos – PB

Prof. Dr. ELDINÊ GOMES DE MIRANDA NETO
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária UFCG/Campus Patos – PB

Prof. Dr. HUBER RIZZO
Professor na UFRPE/ Campus Recife – PE

À minha mãe e meu pai, pelo amor incondicional, espero que um dia entendam a minha ausência.

Dedico

Que um dia eu consiga, sem distinção, ser Doutora na arte do amor ao próximo e a tudo que Deus criou... Que assim seja.

AGRADECIMENTOS

À Deus por toda força, coragem e sabedoria durante todos esses anos de aprendizado e ao meu Anjo Guardião, por toda proteção e auxílio.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Pierre Castro Soares e meu co-orientador Prof. Dr. Franklin Riet-Correa, por todos os momentos e atenção disponibilizados à realização desta pesquisa.

Aos meus queridos professores Sara Vilar e Eldinê Gomes por todo carinho, aprendizado de vida e profissional, parte dos meus esforços foram para retribuir a confiança e dedicação que vocês dois sempre tiveram comigo.

Aos meus Amigos, que além de me ajudarem durante os trabalhos de pesquisa, foram parte do meu alicerce nesses quatro anos Gildeni Aguiar, Ana Luisa Alves, Luedja Carla, Leonardo Alves, Rafael Otaviano, Beatriz Riet-Correa, Lisanka Maia, Gilzane e Temístocles Dantas, Emanuel Felipe e Daniel Nunes, sem vocês certamente não conseguiria.

Agradeço toda equipe da UFCG e UFRPE que de forma direta ou indireta, contribuíram na realização deste trabalho (Lizziane, Múcio, Édpo, Gabriel, Fabrício, Mikael, Emauela, Mariana, Cristiane, Cleyton e Everton).

A minha mãe e meu pai, por todo Amor e toda dedicação, espero em outro momento ser uma filha mais presente na vida dos que verdadeiramente me amam.

A toda minha família, por todas as alegrias e tristezas divididas, amo muito vocês (Rita, Jorge, Artur, Azize e Alice).

A todos os que fazem parte do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, professores, residentes, técnicos e todos os funcionários, que propiciam um ambiente de harmonia e interação afetuosa facilitando a realização das nossas pesquisas.

À Universidade Federal Rural do Pernambuco – UFRPE e à Coordenação de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, pelo esforço em oferecer um curso de boa qualidade, e em especial aos secretários Tom Menezes (*In memória*) e Lana pela atenção dispensada e serviços prestados, e ao seu corpo docente pelos conhecimentos compartilhados e pela contribuição para minha formação acadêmica.

Por fim, aos ruminantes que fizeram parte desta pesquisa, ser Buiatra é um dos melhores presentes que Deus poderia ter me ofertado.

Nunca deixe ninguém dizer que você não pode fazer alguma coisa...

RESUMO

As deficiências de minerais estão presentes em todo território nacional e representam um dos principais fatores de perda na produtividade em criações de ruminantes. O objetivo deste trabalho foi fazer uma revisão a respeito das deficiências de minerais, bem como um levantamento de casos clínicos de deficiência de cobre em ruminantes atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande e caracterizar o status de microminerais em tecidos de caprinos e ovinos criados no semiárido paraibano. Para identificação da ocorrência de deficiência de cobre no Estado da Paraíba avaliou-se o banco de dados do Ambulatório de Grandes Animais e do Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande do ano de 1998 até o ano de 2011. Durante o levantamento de dados foram evidenciados em caprinos quatro surtos de ataxia enzoótica tardia e um caso de deficiência de cobre congênita (*swayback*) e em bovinos um surto de diarreia crônica associado a hipocuprose. Para traçar o perfil de microminerais foi realizada a determinação dos teores de cobre, ferro, molibidênio e zinco em amostras de fígado e soro de ovinos e caprinos, criados e abatidos na região do sertão paraibano, nas épocas seca e chuvosa. Na caracterização do perfil de microminerais foram identificadas na dosagem sérica de pequenos ruminantes, deficiência marginal de cobre e deficiência acentuada de ferro e zinco. Na dosagem hepática foram encontrados níveis de deficiência marginal de cobre nas duas espécies e ferro nos caprinos. As apresentações clínicas de carência de cobre em caprinos e bovinos e a concentração marginal sérica e hepática deste elemento sugerem que a suplementação com cobre é necessária em ruminantes em pastejo no semiárido da Paraíba.

Palavras-chave: Hipocuprose, carência congênita de cobre, diarreia, ruminantes.

ABSTRACT

Mineral deficiencies are present throughout the country and represent a major loss factors in productivity creations of ruminants. The objective of this study was to review regarding mineral deficiencies, as well as a survey of clinical cases of copper deficiency in ruminants treated at the Veterinary Hospital of the Federal University of Campina Grande and characterize the status of trace elements in tissues of sheep and goats created in Paraiba semi-arid. Copper deficiency is initially identified in the state of Paraiba evaluated the database Clinic of Large Animal and Animal Pathology Laboratory of the Veterinary Hospital of the Federal University of Campina Grande in the year 1998 to the year 2011. During the survey data were highlighted in goats four delayed enzootic ataxia outbreaks and congenital copper deficiency case (swayback) in cattle and an outbreak of chronic diarrhea associated with hipocuprose. To trace the trace mineral profile was performed to determine the levels of copper, iron, molybdenum and zinc in samples of liver and serum of sheep and goats, raised and slaughtered in the backlands of Paraiba region, the dry and rainy seasons. The characterization of the trace mineral profile were identified in the serum of small ruminants, marginal copper deficiency and severe deficiency of iron and zinc. In hepatic dose found marginal deficiency of copper levels in both species and iron goats. The clinical presentations of copper deficiency in sheep and cattle and serum and liver marginal concentration of this element suggest that supplementation with copper is needed in grazing ruminants in the semiarid region of Paraíba.

Key words: Hipocuprose, congenital copper deficiency, diarrhea, ruminant

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigos científicos

Artigo 1

Figura 1 – Caprinos com ataxia enzoótica (A) e deficiência congênita de Cu (B) mostrando paralisia flácida dos quatro membros. (C) Histologia da medula espinal mostrando degeneração Walleriana semelhante à substância branca, cacterizada pela presença de vacúolos ordenados em cadeias (*), algumas delas contendo macrófagos (setas). Luxol azul rápido, bar=50 µm. 35

LISTA DE TABELAS

Artigos científicos

Artigo 1

TABELA 1 – Médias gerais e desvios-padrão da análise de variância dos elementos Cu, Fe, Mo e Zn no soro e fígado, nos fatores período, espécie e sexo, de animais abatidos no semiárido da Paraíba..... 39

SUMÁRIO

	Pág.
1. Introdução	12
2. Revisão de Literatura	14
2.1 Deficiência de Microminerais em Ruminantes	15
3. Referências	20
CAPÍTULO I – Surtos de deficiência de cobre em ruminantes no semiárido paraibano Brasil.	24
Resumo.....	25
Abstract	25
Comunicação Científica.....	26
Referências	29
CAPÍTULO II – Concentrações séricas e hepáticas de cobre, ferro, molibdênio e zinco em caprinos e ovinos criados no Estado da Paraíba, Brasil	32
Abstract	33
Resumo	34
Introdução	35
Material e Métodos	36
Resultados	38
Discussão	40
Conclusão	42
Referências	42
4 . Anexos	47

1 INTRODUÇÃO

As regiões tropicais aparentemente reúnem as melhores condições e potencialidades no fornecimento de pastagem, porém as forragens disponíveis para alimentação dos ruminantes geralmente não atendem os requerimentos minerais e dentre os fatores responsáveis pela baixa produtividade, as carências minerais ocupam lugar de destaque. Nenhum fator isolado tem tanto potencial para aumentar a produtividade de um rebanho, a custo relativamente baixo, como a nutrição mineral adequada. Não resta dúvida que no Brasil as deficiências minerais, de uma forma geral, têm ampla distribuição e são responsáveis por sérios prejuízos econômicos (MCDOWELL, 1999; MORAES *et al.*, 1999; PEIXOTO *et al.*, 2005).

Os minerais, em especial os macrominerais, estão em maior concentração no organismo animal, chegando a ocupar 2 a 5% do peso total, tendo funções essenciais tanto na estrutura de tecidos e biomoléculas, como no próprio metabolismo animal (SPEARS, 1998). Segundo TOKARNIA *et al.* (1988) a deficiência do metabolismo mineral pode afetar a produtividade e a fertilidade. Ainda de acordo com este autor, as deficiências mais frequentes de macrominerais nos animais são as de fósforo (P) e sódio e tem sido observado em animais mantidos em regime de pasto.

A deficiência de P é uma condição frequente em bovinos sob dieta exclusiva de pasto, uma vez que as forrageiras, sobretudo as de climas tropicais, são notoriamente deficientes neste elemento. No Brasil a produção de gado de corte é feita predominantemente em pastagens de baixo valor nutritivo, onde a deficiência de P se destaca dentre as demais (TOKARNIA *et al.*, 2000; RIET-CORREA e TIMM, 2007), causando prejuízos avultados sobre a produção e reprodução dos rebanhos.

Além do fósforo, o cobre (Cu) é um dos elementos mais carentes em ruminantes criados em todos os continentes. A carência de Cu em ruminantes pode ocorrer por menor aporte deste nutriente na dieta ou maior presença de outros elementos antagonistas que diminuem a sua disponibilidade, tais como o molibdênio, enxofre, zinco e ferro (ORTOLANI, 2002; RIET-CORREA, 2004). Os dois primeiros microelementos citados podem interferir isoladamente ou em associação formando com o Cu fortíssima ligação metálica cujo complexo é insolúvel e indisponível. Estes

mecanismos de ligação foram intensamente estudados nas últimas décadas por UNDERWOOD e SUTTLE (2010).

Para a indicação de medidas corretivas e profiláticas quanto à mineralização é necessário realizar o diagnóstico das deficiências minerais que estão presentes nos rebanhos. O exame do rebanho é bastante importante e deve ser tido como o primeiro passo para ser efetuado este diagnóstico. A obtenção do histórico clínico, o exame clínico, a realização de necropsias e os estudos histopatológicos podem auxiliar no diagnóstico. A carência de um ou mais minerais pode não acarretar sinais clínicos e nem mesmo perdas na produção, assim a certeza final do diagnóstico das deficiências minerais é dada por meio das dosagens químicas e/ou pela experimentação (RIET CORREA, 2004; TOKARNIA *et al.*, 2010).

Alguns estudos sobre deficiência de minerais na Paraíba e Pernambuco vêm sendo realizados e algumas deficiências já estão estabelecidas. No semiárido paraibano a deficiência de P foi diagnóstica, mediante experimentação, em caprinos criados em sistema extensivo (SILVA *et al.*, 2011); e a de selênio (Se) em ovinos confinados através da observação de sinais clínicos e achados histopatológicos (RIET-CORREA, 2004; AMORIM *et al.*, 2005). Em Pernambuco SANTOS *et al.* (2006) diagnosticaram ataxia enzoótica tardia, uma das manifestações clínicas da deficiência de Cu, em rebanhos de caprinos e ovinos; e recentemente baixos teores de Cu e Zn foram determinados no soro e fígado de caprinos e ovinos abatidos no Estado de Pernambuco por MARQUES *et al.* (2011).

Tendo em vista a necessidade de realização de pesquisas no Estado da Paraíba, já que nesse Estado são poucos os conhecimentos com relação ao status de mineralização dos rebanhos de bovinos, caprinos e ovinos; este trabalho tem como objetivo relatar a deficiência de Cu no Estado da Paraíba e suas manifestações clínicas diversificadas como a ocorrência do primeiro caso de ataxia enzoótica congênita em caprinos diagnosticada no Brasil; surtos de ataxia enzoótica tardia em caprinos e surto de diarreia crônica associada à carência deste mineral em bovinos. Além disso, caracterizar o status de microminerais em tecidos de caprinos e ovinos criados no semiárido paraibano.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DEFICIÊNCIA DE MICROMINERAIS EM RUMINANTES

Junto com o P, a carência de Cu é uma das mais importantes no Brasil. Valores baixos de Cu são encontrados em forrageiras e em fígados de ruminantes das diversas regiões. Além disso, diversas formas clínicas da carência de Cu têm sido diagnosticadas em bovinos, ovinos e caprinos de todas as regiões, incluindo a Nordeste (TOKARNIA e DÖBEREINER, 1973; SOUSA, 1981; McDOWELL, 1999; MARQUES *et al.*, 2011).

A carência de Cu ocorre pela ingestão de pastagens com baixa concentração de Cu, menos de 5mg/kg (ppm) para ovinos (RADOSTITS *et al.*, 2007), e 7 mg/kg para caprinos (SMITH e SHERMAN, 1994), ou pela presença de outros elementos antagonistas que diminuem a sua disponibilidade, tais como o molibdênio, enxofre e o ferro (ORTOLANI, 2002). Os dois primeiros elementos podem interferir isoladamente ou em associação formando com o Cu fortíssima ligação metálica cujo complexo é insolúvel e indisponível. O Fe é potencialmente o exemplo mais importante para animais em pastagem, porque grandes quantidades de Fe são ingeridas através dos solos e provavelmente uma fração se ligue ao sulfato (UNDERWOOD e SUTTLE, 2010).

Embora se conheça, desde a década de 50, que o excesso de Fe pode interferir com a disponibilidade do Cu pouco se sabe dos mecanismos envolvidos neste antagonismo. A única hipótese disponível é a formulada por SUTTLE *et al.* (1984) que sugeriram que o ferro se ligaria inicialmente ao sulfeto no rúmen, formando o sulfeto ferroso. Quando da passagem desta molécula no abomaso devido ao baixo pH, existe a troca de ligação do sulfeto com o ferro e a formação de sulfeto cúprico, composto este estável e indisponível. Maiores estudos são necessários para compreender melhor os mecanismos desse antagonismo.

Segundo UNDERWOOD e SUTTLE (2010) quanto maior for à quantidade de enxofre na dieta maior será o antagonismo do Fe sobre a disponibilidade do Cu para ruminantes. Tal hipótese ainda necessita ser melhor estudada, pois no trabalho de

MARQUES *et al.* (2003) ocorreu a carência de Cu mesmo sem existir a concomitante alta ingestão de enxofre dos bovinos, apenas a de Fe.

A deficiência de Cu, também denominada hipocuprose, cursa nos animais com uma ampla variedade de manifestações clínicas, as quais variam de acordo com a idade, o sexo, a espécie animal, a severidade e a duração desse estado (BONDAN *et al.*, 1991).

As principais manifestações de deficiência de Cu incluem anemia microcítica e hipocrômica, redução do volume corpuscular e concentração de hemoglobina, diarreia, desordens ósseas, nervosas e cardiovasculares, falhas reprodutivas, perda na pigmentação da pele, e falha na queratinização dos pêlos e lã (MCDOWELL 1992). A hipocuprose em ovinos pode causar fragilidade e perda da ondulação da lã ou despigmentação da lã preta, alterações congênitas ou adquiridas da mielina (ataxia enzoótica), osteoporose, anemia e redução do crescimento. Em bovinos, diversos quadros clínicos são observados na hipocuprose, podendo ocorrer menor desenvolvimento corporal e baixo desempenho reprodutivo, anemia, osteoporose, alterações da pigmentação dos pêlos e diarreia (UNDERWOOD e SUTTLE 2010).

A ataxia enzoótica é expressão máxima da carência de Cu em cordeiros e cabritos até 180 dias de vida, sendo caracterizada pela desmielinização do sistema nervoso central e pelos sintomas de cambaleio dos membros posteriores e, em menor grau, dos anteriores, paralisia flácida ou espástica, incapacidade total de locomoção e morte. São descritos dois tipos de ataxia enzoótica, baseados no local da lesão e na cronologia do quadro. A forma congênita é marcada pela destruição da substância branca cerebral e acomete neonatos nos primeiros dias de vida e a forma tardia é caracterizada pelas lesões no tronco encefálico e tratos motores da medula espinhal, com ocorrência após a terceira semana de vida (UNDERWOOD e SUTTLE 2010).

Nos dois tipos de ataxia enzoótica, há depleção de Cu no organismo tanto da fêmea prenhe como dos neonatos, o que acarreta mielinização imperfeita do sistema nervoso do recém-nascido devido à menor atividade da citocromo C oxidase e da ceramida galactosil transferase e da produção de fosfolípidos, importantes na síntese da mielina. O surgimento da ataxia enzoótica está ligado com a precocidade do processo carencial e com a cronologia da mielinização no feto, que se inicia no sistema nervoso central no 96º dia de gestação, com máxima atividade ao redor do 20º dia que antecede o parto; seguido da medula espinhal e nervos periféricos, nos quais a mielina é mais depositada

do final da gestação até o 30º dia posterior ao parto (HOWELL e GOWTHORNE, 1987).

No Brasil, a ataxia enzoótica foi descrita pela primeira vez em ovinos no Estado do Piauí. Os animais apresentavam desequilíbrio do trem posterior e em casos graves paraplegia. Exames histológicos revelaram degeneração simétrica na mielina da medula espinhal. Teores muito baixos de Cu (7-23 ppm) foram encontrados no fígado (TOKARNIA *et al.*, 1966).

No Rio Grande do Sul, duas doenças têm sido associadas à carência de Cu em bovinos. A primeira delas caracteriza-se por hipomielinogênese congênita e apresenta um quadro clínico caracterizado pelo nascimento de bezerros com opstótono e incapacidade para se manterem em pé. As alterações histológicas caracterizam-se por uma marcada deficiência de mielina. Baixos teores de Cu são encontrados no fígado (7,64 ppm) e sistema nervoso central (< 9 ppm) (RIET-CORREA *et al.*, 1993). O quadro clínico e patológico assemelha-se à ataxia neonatal dos bezerros descrita por SANDERS (1980) e à ataxia enzoótica de ovinos (TOKARNIA *et al.*, 1966, VALLI, 1985). O outro quadro clínico são mortes súbitas, que ocorrem desde 1986 no sul do Rio Grande do Sul, em estabelecimentos localizados às margens da Lagoa Mirim e Lagoa dos Patos. Animais aparentemente normais, quando movimentados, caem e morrem subitamente, apresentando apenas tremores musculares. Os teores de Cu no fígado variam de 1,3 a 8,4 ppm (BONDAN *et al.*, 1991, RIET-CORREA *et al.*, 1993). A doença é semelhante à "falling disease" descrita por BENNETS *et al.* (1948) na Austrália.

Para uma correção adequada das carências minerais, é essencial o conhecimento preliminar dos diversos tipos de carências que ocorrem numa determinada região, considerando-se que estas frequentemente estão associadas à região geográfica (LOPES *et al.*, 1980).

Sabe-se que dificilmente as pastagens nativas fornecem os minerais essenciais em quantidades suficientes para atender as exigências nutricionais de rebanho caprino e ovino. Podem existir nutrientes com teores elevados, que podem ser tóxicos ou interferir na absorção de outros nutrientes (GOMIDE, 1976; BRUM *et al.*, 1987). Em muitas situações o desequilíbrio de nutrientes pode acarretar reduções no consumo de matéria seca.

A inter-relação entre minerais no metabolismo animal é extremamente importante para a formação de estruturas no organismo e participação de rações bioquímicas, seja diretamente ou como componentes essenciais de sistemas enzimáticos (SOUZA *et al.*, 1986; HENRY e MILES, 2000).

O estudo e o diagnóstico dos problemas das carências minerais em ruminantes criados em regime de pastagem nos trópicos não são geralmente de fácil descrição, haja vista a multiplicidade dos nutrientes essenciais e de suas inter-relações (CARDOSO, 1997). O conhecimento das variações dos teores de determinados minerais permite formular misturas minerais que suprem as necessidades, melhorando a produtividade a um custo mínimo.

Nos diagnósticos dos distúrbios minerais, as variações sazonais devem ser consideradas, para que se obtenham resultados de maior clareza na interpretação (GUIMARÃES *et al.*, 1992), e para uma correção adequada das carências minerais, é essencial o conhecimento preliminar dos diversos tipos de carências que ocorrem em uma determinada região (LOPES *et al.*, 1980).

Os teores minerais de tecidos animais são os melhores indicadores de suas disponibilidades para os animais do que aqueles nas forragens e no solo (BOYAZOGLU *et al.* citado por MENDES *et al.*, 1981). As análises de solo e plantas forrageiras são de difícil interpretação, devido a grande interação existente entre os elementos envolvidos (CARDOSO, 1997).

Grande parte dos distúrbios de deficiências de minerais a campo está relacionada à deficiência clínica, quando os animais já apresentam sintomas típicos de deficiências de um elemento ou conjunto deles. Entretanto, a deficiência marginal é concomitantemente mais prejudicial, pois, devido à falta de sinais clínicos, nenhum cuidado especial é tomado com relação aos animais, objetivando aumentar seu potencial de produtividade. O desenvolvimento de métodos para a detecção e diagnóstico de deficiência marginal dos animais é de grande valor, e com menor risco de erros na interpretação dos resultados, para que se possa fazer uma correção eficiente e econômica (POSSENTI *et al.*, 1992).

O diagnóstico da maioria das deficiências minerais é realizado por dosagens bioquímicas do soro do animal, seguido por análise das pastagens e do solo. O exame bioquímico, em associação com os dados clínicos, oferece resultados com maior

rapidez, baixo custo e menor risco de erro na interpretação, enquanto as análises das pastagens e do solo demandam recursos econômicos e materiais específicos, e geram conclusões dúbias devido a fatores mutáveis. Porém, para que os testes bioquímicos sejam convenientemente utilizados, há a necessidade de se conhecer os valores de referência para as diferentes espécies, idades, sexos, raças de animais criados em diferentes regiões e sob diferentes sistemas de produção (TOKARNIA *et al.*, 1999).

A análise de material proveniente dos animais permite verificar, de forma direta, com maior rapidez e mais facilmente, as deficiências existentes, com menor risco de erros na interpretação dos resultados (BOYAZOGLU *et al.*, 1972; MILLER e STAKE 1974; MENDES 1977; UNDERWOOD 1981; CONRAD 1984). Tratando-se de fígado e osso, com número relativamente pequeno de amostras pode-se chegar a conclusões bastante seguras sobre a ocorrência de deficiências minerais em extensas regiões.

A análise de amostras de fígado é eficaz para avaliar a condição do animal em relação a Co, Cu, Mn e Se e , eventualmente, a Zn. MENDES (1977), baseado em dosagens de amostras de fígado de mais que 500 bovinos que analisou para Fe, Cu, Zn, Mn, Co e Mo, concluiu que o nível de certos minerais no gado pode ser determinado satisfatoriamente em amostras de fígado obtidas, ou por biópsia, ou por abate, próximo ao fim da estação de chuvas, uma vez que esta é a época do ano em que os animais são mais produtivos e suas exigências são maiores.

A análise de tecido ósseo é indicada em estudos sobre as deficiências de P e Ca. Análises de sangue, soro e plasma são úteis no diagnóstico de deficiências de Mg, Zn, Cu, P e Ca, mas têm as suas limitações; por exemplo, os teores de P são influenciados por estresse, exercício, hemólise, temperatura e tempo de separação do soro sanguíneo (DAYRELL *et al.*, 1973). Para a determinação de certas deficiências minerais, ainda outros materiais provenientes do animal podem ser analisados, como pêlos (na deficiência de Zn), saliva, urina e fezes (na deficiência de Na).

O estado nutricional rebanho quanto ao Cu pode ser avaliado nos alimentos, na água, no soro e no fígado, ou ainda por determinação da atividade sérica da ceruloplasmina (HIDIROGLOU, 1980; VERMUNT e WEST, 1994). A avaliação baseada em apenas um item pode levar a conclusões errôneas (WIKSE *et al.*, 1992). Cerca de 40 a 70% do Cu absorvido é estocado no fígado, de onde é liberado quando há redução de consumo (CORAH e IVES, 1991). A análise de amostras de fígado é

confiável para avaliar a condição orgânica de Cu, Co, Mg, Se e, eventualmente, Zn (TOKARNIA *et al.*, 1999).

3 REFERÊNCIAS

- AMORIM, S.L.; OLIVEIRA, A.C.P.; RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S.V.D.; MEDEIROS, R.M.T. & CLEMENTINO, I.J. 2005. Distrofia muscular nutricional em ovinos na Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 25(2):120-124.
- BENNETS, H.W.; BECK, A.B. & HARLEY, R. 1948. The pathogenesis of "falling disease". *Aust. Vet. J.* 24:237-244.
- BONDAN, E.F.; RIET-CORREA, F. & GIESTA, S.M. 1991. Níveis de cobre em fígados de bovinos no sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 11(3/4):75-80.
- BOYAZOGLU, P.A.; BARRETT, E.L.; YOUNG, E. & EBEDES, H. 1972. Liver mineral analysis as indicator of nutritional adequacy. *Proc. 2nd World Conference of Animal Nutrition, Madrid*, p. 995-1008.
- BRUM, P.A.R.; SOUZA, J.C.; CAMASTRI FILHO, J.A.; ALMEIDA, I. L. 1987. Deficiências minerais de bovinos na sub-região dos Paiaguais, no Pantanal Mato – Grossense. I. Cálcio, fósforo e magnésio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 22(9/10): 1039-1048.
- CARDOSO, E.C. 1997. Nutrição mineral em bubalinos e bovinos nos campos do Marajó, estado do Pará: cálcio, fósforo, cobre, cobalto, manganês, ferro e zinco. Belém. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Pará. 173 p.
- CONRAD J.H. 1984. Administração racional de suplementos minerais a nível de fazenda. I Simpósio sobre Nutrição Mineral, São Paulo, p. 57-67.
- CORAH, L.H.; IVES, S. 1991. The effects of essential trace minerals on reproduction in beef cattle. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.* 7:41-57.
- DAYRELL, M.S., LOPES H.O.S., SAMPAIO I.B.M. & DÖBEREINER J. 1973. Fatores a serem considerados na interpretação de valores analíticos de fósforo inorgânico no soro sanguíneo de bovinos. *Pesq. Agropec. Bras., Sér.Vet.* 8: 43-47.

- GOMIDE, J.A. Composição mineral de gramíneas e leguminosas forrageiras tropicais. Simpósio Latinoamericana sobre pesquisa em nutrição mineral de ruminantes em pastagem, Belo Horizonte, MG. 1976. p. 20-33.
- GOONERATNE, S.R.; BUCKLEY, W.T.; CHRISTENSEN, D.A. 1989. Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. *Canadian Journal Animal Science*, 69: 819-845.
- GUIMARÃES, A. M.; RODRIGUEZ, N.M.; SALIBA, E.S.; MOREIRA, P. K. 1992. Variação sazonal de vitamina A, macro e microelementos no capim, plasma e fígado de novilhas Nelore, criadas em pastagens de capim braquiária (*Brachiaria decumbens*). *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.*, 44(1): 57-66.
- HENRY, P.R.; MILES, R.D. 2000. Interactions among the minerals. *Ciência Animal Brasileira*. 1(2): 95-106.
- HIDIROGLOU, M. 1980. Trace elements in fetal and neonate ruminant: A review. *Can. Vet. J.*, 21:328-335.
- HOWELL, J.M.; GAWTHORNE, J.M. 1987. Copper in animal and man. Florida: CRC. v. 2, 140p.
- LOPES, H.O.S.; FICHINER, S.S.; JARDIM, E.C. & COSTA, C.P. 1980. Teores de cobre e zinco em amostras de solo, forrageiras e tecido animal da micro-região Mato Grosso de Goiás. *Arq. Esc. Vet. UFMG, Belo Horizonte*, 32 (2): 151-159.
- MARQUES, A.P.; RIET-CORREA, F.; SOARES, M.P.; ORTOLANI, E.L.; GIULIODORI, M.J. 2003. [Sudden deaths in cattle associated with copper deficiency] Mortes súbitas em bovinos associadas à carência de cobre. *Pesq. Vet. Bras.* 23(1):21-32.
- MARQUES, A. V. S.; SOARES, P. C.; RIET-CORREA, F.; MOTA, I. O.; SILVA, T. L. A.; BORBA NETO, A. V.; SOARES, F. A. P.; ALENCAR, S. P. 2011. Teores séricos e hepáticos de cobre, ferro, molibdênio e zinco em ovinos e caprinos no estado de Pernambuco. *Pesq. Vet. Bras.* 31(5): 398-406.
- McDOWELL, L.R. 1992. Minerals in animal and human nutrition. San Diego: Academic Press, 524p.
- McDOWELL, L.R. 1999. Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil. 3ª ed. University of Florida, 92p.

- MENDES, M.O. 1977. Mineral status of beef cattle in the northern part of Mato Grosso, Brazil, as indicated by age, season, and sampling technique. Dissertation, University of Florida, Gainesville. 236p.
- MENDES, M.O.; CONRAD, J.H. & AMMERMAN, C.B. 1981. Teores de minerais em bovinos de corte do Estado de Mato Grosso, Revta Bras. Med. Vet. 4 (3):25-30.
- MILLER, W.J. & STAKE, P.E. 1974. Uses and limitations on biochemical measurements in diagnosing mineral deficiencies. Proc. Nutrition Conference for the Feed Industry. Atlanta, Georgia, p.25-43.
- MILTIMORE, J.E. & MASON, J.L. 1971. Cooper to molybdenum ratio and molybdenum and copper concentration in ruminant feeds. Canadian Journal Animal Science. 51: 193 – 200.
- MORAES, S.S.; TOKARNIA, C.H. & DÖBEREINER, J. 1998. Deficiências e desequilíbrios de microelementos em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. Pesq. Vet. Bras. 19(1):19-33.
- MORAES, S.S.; TOKARNIA, C.H. & DÖBEREINER, J. 1999. Deficiências e desequilíbrios de microelementos em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. Pesq. Vet. Bras. 19 (1).
- ORTOLANI, E.L. 2002. Macro e microelementos, p.641-651. IN: SPINOSA, H.S.; GORNIK, S.L. & BERNADI, M.M. (EDS). Farmacologia aplicada à medicina veterinária. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro-RG.
- PEIXOTO, P.V.; MALAFAIA, P.; BARBOSA, J.D.; TOKARNIA, C.H. 2005. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. Pesq. Vet. Bras. 25(3):195-200.
- POSSENTI, R.A., LOBÃO, A.O., RIBEIRO, W.R. 1992. Determinações minerais em forragens e tecidos de bovinos. Bol. Ind. Anim., 49(2):131-144.
- RADOSTITIS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P. D. 2007. Clínica Veterinária - Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 10ª ed. Guanabara Koogan.
- RIET-CORREA F.; BONDAN E.F.; MENDEZ M.C.; MORAES S.S. & CONCEPCIÓN M.R. 1993. Efeito da suplementação com cobre e doenças associadas à carência de cobre em bovinos no Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras. 13(3/4)45-49.

- RIET-CORREA, F. 2004. Suplementação mineral em pequenos ruminantes no Semi-árido. *Ciên. Vet. Tróp.*, 7(2-3): p. 112-130.
- RIET-CORREA, F.; TIMM, C.D. 2007. Deficiência de Fósforo. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. Doenças de ruminantes e equídeos. Santa Maria: Pallotti, v. 2, p. 248-257.
- SANDERS, D.E. 1980. Bovine neonatal ataxia associated with hypocupremia in pregnant cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 176:728-29.
- SANTOS, N.V.M.; SARKIS, J.E.S.; GUERRA, J.L.; MAIORKA, P.C.; HORTELANI, M.A.; SILVA, F.F. & ORTOLANI, E.L. 2006. Avaliação epidemiológica, clínica, anátomopatológica e etiológica de surto de ataxia em cabritos e cordeiros. *Ciência Rural* 36 (4):1207-1213.
- SILVA, T.R.; SIMÕES, S.V.D.; MIRANDA NETO, E.G.; PEREIRA FILHO, J.M.; ASSIS, A.C.O.; AGUIAR, G.M.N.; LIMA, F.A.; RIET-CORREA, F. 2011. Efeitos da suplementação com fósforo em caprinos no semiárido do Nordeste Brasileiro. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.63 (5):1268-1271.
- SMITH, M.C. & SHERMAN, D.M. 1994. *Goat Medicine*. Lea & Febiger, Philadelphia, p. 535-540.
- SOUZA, J.C.; GONÇALVES, E.M.; VIANA, J.A.C.; DARSIE, G. 1986. Deficiências minerais em bovinos d Roraima, Brasil. III. Cálcio e fósforo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 21(12):1327-1336.
- SOUSA, J.C. 1981. Aspectos da suplementação mineral de bovinos de corte. Circular técnica, EMBRAPA, Centro Nacional de Gado de Corte, Campo Grande, n.5, 50p.
- SPEARS, J. W. 1998. Reevaluation of the metabolic essentiality of the minerals – Review. *Asian Australian Journal Animal Science*, 12(6):1002-1008.
- SUTTLE, N.F.; ABRAHAMS, P.; HORNTON, I. 1984. The role of a soil x dietary sulphur interaction in the impairment of copper absorption by ingested soil in sheep. *Journal Agriculture Science (Cambridge)*, v. 103, p. 81 – 86.
- TOKARNIA C.H., DÖBEREINER J., CANELLA C.F.C. & GUIMARÃES J.A. 1966. Ataxia enzoótica em cordeiros no Piauí. *Pesq. Agropec. Bras.* 1:375-382.

- TOKARNIA, C.H. & DÖBEREINER, J. 1976. Doenças causadas por deficiências minerais em bovinos em regime de campo no Brasil. In: Simpósio Latino-Americano sobre Pesquisa em Nutrição Mineral de Ruminantes em Pastagens, Belo Horizonte, Minas Gerais, p. 298-308
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J. & MORAES, S.S. 1988. Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 8(1/2):1-16.
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; MORAES, S.S. & PEIXOTO, P.V. 1999. Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos: revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. *Pesq. Vet. Bras.* 19(2):47-62.
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V.; CANELLA, C.F.C. 2000. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 20 (3):127-138.
- TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V.; BARBOSA, J.D.; BRITO, M.F. & DÖBEREINER, J. 2010. Deficiências Minerais em Animais de Produção. Ed.Helianthus, Rio de Janeiro.
- UNDERWOOD E.J. 1981. *The Mineral Nutrition of Livestock*. 2nd ed. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, England, p. 102-103.
- UNDERWOOD, E. J. & SUTTLE, N. F. 2010. *The mineral nutrition of livestock*. 4^{ed}. New York: CAB International, p. 587.
- WIKSE, S.E.; HERD, D.; FIELD, R. et al. 1992. Diagnosis of copper deficiency in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 200:1625-1629.
- VALLI, V.E.O. 1985. The hematopoietic system, p.125-130. In: Jubb K.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (ed.) *Pathology of Domestic Animals*. Vol. 3. 3rd ed. Academic Press, New York.
- VERMUNT, J.J.; WEST, D.M. 1994. Predicting copper status in beef cattle using serum copper concentrations. *New Zeal. Vet. J.*, 42:194- 195.

CAPÍTULO I

Surto de deficiência de cobre em ruminantes no semiárido paraibano, Brasil
(Artigo formatado e aceito para publicação na Revista Semina Ciências Agrárias –
Normas Anexo 1)

Surtos de deficiência de cobre em ruminantes no semiárido paraibano Brasil¹**Outbreaks of copper deficiency in ruminants in the semiarid region of Paraíba,
Brazil**

Tatiane R. da Silva^{1*}, Gildeni M. N. Aguiar², Fabrício K. L. Carvalho², Sara V. D. Simões², Eldinê G. Miranda Neto², Antônio F. M. Dantas², Pierre C. Soares¹, Franklin Riet-Correa²

ABSTRACT

Five outbreaks of copper deficiency in goats and one in cattle are reported in the semiarid region of the state of Paraíba, Northeastern Brazil. In four outbreaks of delayed enzootic ataxia, the goat kids showed weakness that progressed to paralysis of the four limbs and recumbency. Head tremors were also present. In another outbreak, the kids were born with paralysis due to congenital copper deficiency. The serum copper concentrations were below the reference values. Histologically, myelin degeneration was observed mainly in the spinal cord. In one outbreak of copper deficiency in cattle, adult cows exhibited chronic diarrhea lasting 6-8 months. The cows were supplemented with parenteral copper glycinate and recovered in 20-30 days after treatment. It is concluded that due to the occurrence of copper deficiency in goats and cattle, the supplementation of this mineral is necessary in grazing ruminants in the semiarid region of Paraíba.

Key words: Hypocuprosis, enzootic ataxia, swayback, diarrhea

RESUMO

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brasil. Autora correspondente: tatianerodrigues.vet@gmail.com

² Hospital Veterinário, Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, PB 587000-00, Brasil.

Cinco surtos de deficiência de cobre em caprinos e um em bovinos são descritos na região semiárida da Paraíba. Em quatro surtos de ataxia enzótica os cabritos mostraram, após o nascimento, fraqueza evoluindo para paralisia dos quatro membros e decúbito permanente. Tremores de cabeça também ocorreram. Em outro surto, os cabritos nasceram com paralisia devida à deficiência de cobre. Os valores séricos de cobre estavam abaixo dos valores normais. Na histologia degeneração da mielina foi observada, principalmente na medula. Em um surto de deficiência de cobre em bovinos, vacas adultas apresentaram diarreia crônica durante 6-8 meses. As vacas foram suplementadas parenteralmente com glicinato de cobre e se recuperaram em 20-30 após o tratamento. Conclui-se que em consequência da ocorrência de carência de cobre em caprinos e bovinos, a suplementação deste mineral é necessária em ruminantes em pastejo no semiárido da Paraíba.

Palavras-chave: Hipocuprose, ataxia enzoótica, carência congênita de cobre, diarreia.

Copper (Cu) deficiency is one of the more common mineral deficiencies in ruminants raised on tropical pastures (OWEN et al. 1965; MORAES et al. 1999). In kids, Cu deficiency due to low Cu ingestion by the goats during pregnancy is manifested in two ways: enzootic ataxia, which appears 3-28 weeks after birth and is characterized by progressive ataxia and weakness due to myelin degeneration; and swayback, in which the kids are born with clinical signs similar to those of enzootic ataxia or, more rarely, with severe clinical signs of brain lesions due to myelin degeneration leading to porencephaly or hydranencephaly of the cerebral white matter (SUMMERS; CUMMINGS; DE LAHUNTA, 1995; UNDERWOOD; SUTTLE, 2010).

In cattle, low levels of copper deficiency are responsible for weight loss, diarrhea, failure of hair pigmentation, anestrus, abortion, uterine infections, and sudden death (SUTTLE, 2010; RIET-CORREA et al. 1993).

In northeastern Brazil, low Cu concentrations were found in liver tissue from cattle in the state of Piauí with a chronic disease characterized by wheezing (Tokarnia et al. 1968). Outbreaks of enzootic ataxia were diagnosed in sheep and goats in the state of Pernambuco (SANTOS et al. 2006) and in sheep in the states of Piauí (TOKARNIA et al. 1966) and Rio Grande do Norte (SOUSA et al. 2009). In the semiarid region of

Pernambuco, marginal levels of Cu and Zn were found in the serum and liver of goats and sheep (MARQUES et al. 2011).

This paper reports the epidemiology, clinical signs and histologic findings in outbreaks of enzootic ataxia and congenital disease (swayback) due to copper deficiency in goats. An outbreak of diarrhea associated with copper deficiency in adult cows is also reported.

Four outbreaks of enzootic ataxia occurred in kids in the municipalities of Lagoa Seca, Mogeiro, Patos and São Sebastião do Umbuzeiro from 1998 to 2010, and an outbreak of congenital deficiency occurred in the municipality of Patos in 2010. The herds were not receiving adequate mineral supplements and were reared in native pastures (named *caatinga*).

In the outbreaks of enzootic ataxia, the age of the affected kids ranged from 15-days-old to one-year-old. The animals initially showed weakness or spasticity and ataxia of the hindlimbs, followed by paralysis of the four limbs, causing recumbency (Fig. 1A). Head tremors were also present. In one case, the animal had bruxism, decrease of pupillary reflex, absence of anal reflex, swallowing and purulent nasal discharge. In one outbreak of enzootic ataxia, serum Cu concentrations in two kids were 1.61 and 1.29 $\mu\text{mol/L}$, which were below the normal range of values (9.24-23.6 $\mu\text{mol/L}$) for the species (SMITH; SHERMAN, 2007).

The kid affected by congenital deficiency exhibited, immediately after birth, marked incoordination and difficulty standing for long periods and later became recumbent with flaccid paralysis of the four limbs (Fig. 1B). On radiographs, the kid was found to have generalized bone rarefaction in the vertebral column, limbs and joints. The metaphyseal cortex of the long bones showed greater radiolucency and was thinner than normal, showing osteoporosis in the distal femur and humerus. The serum Cu concentration (6.43 $\mu\text{mol/L}$) was below the normal range for the species.

No significant lesions were found on necropsies of the five affected kids. Organs of the abdominal and thoracic cavities and central nervous system (CNS) were processed by routine histological methods and stained by hematoxylin-eosin. Sections of the CNS were also stained by Luxol Fast Blue. Histological findings were similar in all goats. Some neurons in the spinal cord, and with lower frequency in the brainstem, were eosinophilic, with diffuse chromatolysis and sometimes with a marginalized nucleus. In the spinal cord, mainly in the ventral funiculi, the white matter showed Wallerian-like

degeneration that was characterized by the presence of vacuoles, sometimes ordered in chains, and occasionally containing macrophages or axonal residues (Fig. 1C).

In 2003 in the municipality of Patos, in a herd of 25 Holstein crossbred cattle, four adult cows showed chronic diarrhea lasting 6-8 months. Animals were supplemented with parenteral Cu glycinate, (120 mg/animal). After treatment, three cows recovered in 20 to 30 days and one died one week after treatment. In this case, the diagnosis was made on the basis of the response to Cu supplementation.

The results of this study indicate that copper deficiency is frequent in ruminants in the state of Paraíba. The observation of outbreaks of neurological disease in young goats, with clinical and pathological characteristics of copper deficiency in this species and low levels of Cu, confirmed the occurrence of enzootic ataxia, a disease already reported in other states of the Brazilian semiarid region, including Piauí (TOKARNIA et al. 1966), Rio Grande do Norte (SOUSA et al. 2009), and Pernambuco (SANTOS et al. 2006). In these cases, the clinical signs are due to copper deficiency in late pregnancy, which leads to a failure in the second stage of myelination of the spinal cord in neonates a few weeks after birth, mainly between 2 and 4 months old (SUTTLE 2010).

The congenital form of copper deficiency (swayback), observed in one outbreak, had not been previously diagnosed in goats or sheep in Brazil. This congenital form is due to extreme copper deficiency of the fetus in the last 2 months of pregnancy, which results in the occurrence of the disease in neonates (SUTTLE; FIELD, 1968). The marked incoordination and difficulty standing for long periods is characteristic of congenital copper deficiency in kids, which can also exhibit flaccid or spastic paralysis in all four limbs, resulting in a total inability to walk and death (UNDERWOOD; SUTTLE, 2010). Radiographic findings of irregular radiolucency patterns of the long bones may result from the failure of endochondral ossification, which causes retarded growth, decreased weight gains and gait alterations. Changes related to bone rarefaction caused by generalized osteoporosis are also observed in cattle and sheep with severe Cu deficiency (SUTTLE, 2010).

Chronic diarrhea was the only clinical form of Cu deficiency observed in cattle. This form of the disease has not previously been reported in Brazil. According to Ward (1978), animals with severe Cu deficiency usually have a rapid and effective response to supplementation, as was observed in the cows with diarrhea after the treatment with Cu

glycinate. This diagnosis draws attention to the need to include Cu deficiency in the differential diagnosis of chronic diarrhea in cattle in the Brazilian semiarid region. It has to be differentiated mainly from paratuberculosis, which is a common disease in the region.

During the period of this study, no outbreaks of disease caused by copper deficiency were observed in sheep, which are reared in the same areas and similar conditions as goats, suggesting greater susceptibility of goats to the disease, as observed by Santos et al. (2006). It is known that levels of Cu stored in the liver of goats are 10 times lower than in other ruminants. Thus, goats are more susceptible to copper deficiency, mainly pregnant females with twin pregnancies, which are more prone to produce kids that will be affected by swayback or enzootic ataxia (MESCHY, 2000).

The occurrence of outbreaks of different diseases caused by copper deficiency in the semiarid region of Paraíba indicates the need for copper supplementation in grazing livestock and mainly in pregnant goats.

REFERENCES

- MARQUES, A. V. S.; SOARES, P. C.; RIET-CORREA, F.; MOTA, I. O.; SILVA, T. L. A.; BORBA NETO, A. V.; SOARES, F. A. P.; ALENCAR, S. P. Teores séricos e hepáticos de cobre, ferro, molibdênio e zinco em ovinos e caprinos no estado de Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira* v.31, p.398-406, 2011.
- MESCHY, F. Recent progress in the assessment of mineral requirements of goats. *Livestock Production Science* v.64, p.9-14, 2000.
- OWEN, E. C.; PROUDFOOT, R.; ROBERTSON, J. M.; BARLOW, R. M.; BUTTER, E. J.; SMITH, S.W. Pathological and biochemical studies of an swayback in goat. *Journal of Comparative Pathology* v.75, p.241-251, 1965.
- RIET-CORREA, F.; BONDAN, E. F.; MÉNDEZ, M. C.; MORAES, S. S.; CONCÉPCION, M. R. Efeito da suplementação com cobre e doenças associadas a carência de cobre em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.13, p.45-49, 1993.
- SANTOS, N. V. M., SOUZA; J. E., GUERRA, S. J. L.; MAIORKA, P. C.; HORTELANI, M. A.; SILVA, F. F.; ORTOLANI, E. L. Avaliação epidemiológica,

- clínica, anatomopatológica e etiológica de surtos de ataxia em cabritos e cordeiros. *Ciência Rural* v.36, p.1207-1213, 2006.
- SMITH, M. C.; SHERMAN, D. M. Nervous system, In: __ Goat Medicine. 2ª. Lea and Febiger, Philadelphia. , 2007, p.157–159.
- SOUSA, I. K. F.; MINERVINO, A. H. H.; BARROS, I. O.; SOUSA, R. S.; CHAVES, D. F.; ARAUJO, C. A. S. C.; BARRÊTO JÚNIOR, R. A.; ORTOLANI, E. L. Surto de ataxia enzoótica em ovinos em Mossoró – RN. *Ciência Animal Brasileira* v.1, p.134-139, 2009.
- SUMMERS, B. A.; CUMMINGS, J. F.; DE LAHUNTA, A. Degenerative diseases of the central nervous system In: Ibid. (Eds), Veterinary Neuropathology. Mosby, St Louis. 1995, , p.208-214.
- SUTTLE, N. F.; FIELD, A. C. Effect of intake of copper molybdenum and sulphate on copper of metabolism in sheep II. Copper status of the newborn lamb. *Journal of Comparative Pathology* v.78, p.363-370, 1968.
- SUTTLE, N. F., 2010. Copper. In: Mineral nutrition of livestock . 4ª ed. MPG Books Group, India. p. 255-305.
- TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; CANELLA, C. F. C.; GUIMARÃES, J. A. Ataxia enzoótica em cordeiros do Piauí. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* v.1, p.375-382, 1966.
- TOKARNIA, C. H.; CANELLA, C. F. C.; GUIMARÃES, J. A.; DOBEREINER, J. Deficiências de cobre e cobalto em bovinos e ovinos no Nordeste e norte do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* v.3, p.352-360, 1968.
- UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. The mineral nutrition of livestock. 4ªed. New York: CAB International, 2010, p. 587.
- WARD, G. M. Molibdenum toxicity and hypocurosis in ruminant. *Journal of Animal Science*, 46, 1078-1085, 1978.

List of Figures:

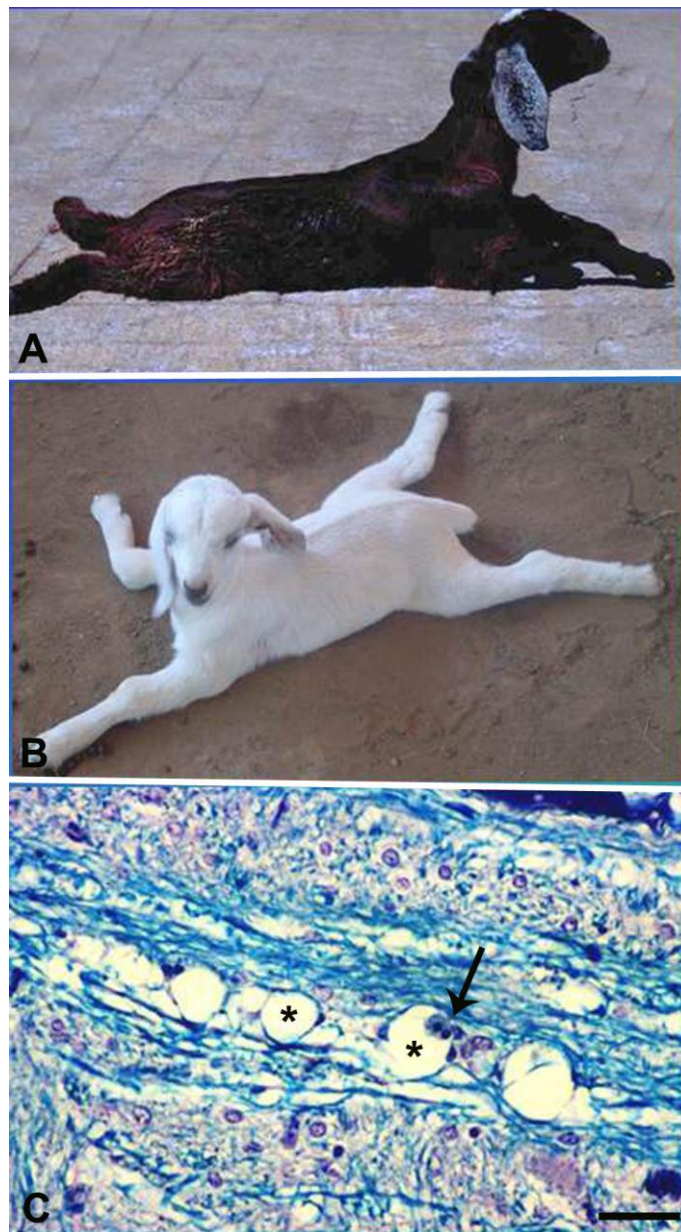


Figure 1. A and B) Kids with enzootic ataxia (a) and congenital copper deficiency (B) showing flaccid paralysis of the four limbs. C). Histology of the spinal cord showing Wallerian-like degeneration of the white matter characterized by the presence of vacuoles ordered in chains (*), some of them containing macrophages (arrow). Luxol fast blue, bar=50 μ m

CAPÍTULO II

Serum and liver copper, iron, molybdenum and zinc concentrations in goats and sheep raised in the rangelands of the state of Paraíba, Brazil
(Artigo formatado para publicação na Revista Ciência Rural – Normas Anexo 2)

Serum and liver copper, iron, molybdenum and zinc concentrations in goats and sheep raised in the rangelands of the state of Paraíba, Brazil

Concentração sérica e hepática de cobre, ferro, molibdênio e zinco de caprinos e ovinos criados em pastagens no Estado da Paraíba, Brasil

Tatiane Rodrigues da Silva² Franklin Riet-Correa^{3*} Antônio Flavio Medeiros

Dantas^{II} Allan Vieira dos Santos Marques^I Gildeni Maria Nascimento de Aguiar^{II}

Ana Luisa Alves Marques^{II} Pierre Castro Soares^I

ABSTRACT

This study aimed to determine Cu, Fe, Mo, and Zn liver and serum concentrations in sheep and goats raised in the rangelands of the semiarid region of the State of Paraíba, Brazil, in the dry and rainy seasons, and to establish if Cu deficiency is primary or secondary to high ingestion of Mo or Fe. Cu, Zn, Mo, and Fe concentrations were determined by atomic absorption spectrometry coupled to mass (ICP - Plasma) in 253 liver and serum samples randomly selected in a slaughterhouse. The mean serum concentrations of Cu in the goats and sheep were 11.82 ± 3.28 $\mu\text{mol/L}$ and 10.97 ± 3.61 $\mu\text{mol/L}$, respectively. The liver Cu concentrations were 160.37 ± 11.77 mg/kg in goats and 152.12 ± 13.16 mg/kg in sheep. The mean serum Fe concentrations were 16.38 ± 4.51 $\mu\text{mol/L}$ in goats and 25.41 ± 9.76 $\mu\text{mol/L}$ in sheep. The mean Fe concentrations in the liver were 189.37 ± 6.51 mg/kg in goats and 313.70 ± 12.89 mg/kg in sheep. The mean serum concentrations of Mo were 0.14 ± 0.04 $\mu\text{mol/L}$ in goats and 0.29 ± 0.06 $\mu\text{mol/L}$ in

^I Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural do Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos - CEP: 52171-900 – Recife, PE, Brasil.

^{II} Hospital Veterinário, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, CEP: 58700-970, Patos, PB, Brasil. E-mail: franklin.riet@pq.cnpq.br

sheep. The mean Mo concentrations in the liver were 6.09 ± 0.23 mg/kg in goats and 6.22 ± 0.15 mg/kg in sheep. The mean serum Zn concentrations were 8.30 ± 1.91 $\mu\text{mol/L}$ in goats and 8.63 ± 2.22 $\mu\text{mol/L}$ in sheep. The mean Zn concentrations in the liver were 132.80 ± 3.39 mg/kg in goats and 130.70 ± 2.99 mg/kg in sheep. These results show low or marginal serum and liver concentrations of Cu and Zn, indicating that these minerals should be supplemented. The normal or even low concentrations of Mo and Fe suggest that Cu deficiency is primary, due to low Cu ingestion, and not secondary to high Mo or Fe ingestion.

Key words: mineral nutrition, small ruminants, trace mineral deficiencies, brazilian semiarid.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo determinar as concentrações séricas e hepáticas de ovinos e caprinos criados em pastagens da região semiárida do Estado da Paraíba, Brasil nas estações seca e chuvosa e estabelecer se a deficiência de Cu é primária ou secundária à alta ingestão de Mo ou Fe. Foram selecionados aleatoriamente 253 animais abatidos no matadouro municipal de Patos, Paraíba, coletadas amostras de sangue e fígado para determinar as concentrações de Cu, Zn, Mo e Fe através da espectrometria de absorção atômica acoplado a massa (ICP - Plasma). As concentrações médias de Cu no soro de caprinos e ovinos foram $11,82 \pm 3,28$ mmol/L e $10,97 \pm 3,61$ mmol/L, respectivamente. As concentrações hepáticas de Cu foram $160,37 \pm 11,77$ mg/kg em caprinos e $152,12 \pm 13,16$ mg/kg em ovinos. As médias de concentrações séricas de Fe foram $16,38 \pm 4,51$ mmol/L em caprinos e $25,41 \pm 9,76$ mmol/L em ovinos. As concentrações médias de Fe no fígado foram $189,37 \pm 6,51$ mg/kg em caprinos e $313,70$

$\pm 12,89$ mg/kg em ovinos. As médias de concentrações séricas de Mo foram de $0,14 \pm 0,04$ mmol/L em caprinos e $0,29 \pm 0,06$ mmol/L em ovinos. As concentrações médias de Mo no fígado foram $6,09 \pm 0,23$ mg/kg em caprinos e $6,22 \pm 0,15$ mg/kg em ovinos. As médias de concentrações séricas de Zn foram $8,30 \pm 1,91$ mmol/L em caprinos e $8,63 \pm 2,22$ mmol/L em ovinos e no fígado foram $132,80 \pm 3,39$ mg/kg em caprinos e $130,70 \pm 2,99$ mg/kg em ovinos. Estes resultados mostram que as concentrações no soro e fígado de Cu e Zn estão abaixo dos valores normais, indicando que estes minerais devem ser suplementados. As concentrações normais ou até mesmo baixas de Mo e Fe sugerem que a deficiência de Cu é primária, devido à baixa ingestão de Cu, e não secundária a alta ingestão Mo ou Fe.

Palavras-chave: nutrição mineral, pequenos ruminantes, deficiência de microminerais, semiárido brasileiro.

INTRODUCTION

Knowledge about mineral deficiencies in ruminants in northeastern Brazil is scarce. Enzootic ataxia due to copper deficiency was reported in lambs from Piauí (TOKARNIA et al., 1966) and Rio Grande do Norte (SOUSA et al., 2009), in goats in Paraíba (GUEDES et al., 2007), and in lambs and goats in Pernambuco (SANTOS et al., 2006). Deficiencies of Cu and Co in cattle and sheep in the states of Maranhão and Piauí and Co deficiency in cattle in Ceará are also reported (TOKARNIA et al., 1968). Low concentrations of Zn and Mn were found in the livers of cattle and sheep in different regions of northeastern Brazil (MORAES et al., 1999). Low levels of Cu and Zn were determined in the serum and livers of sheep and goats slaughtered in the State of Pernambuco (MARQUES et al., 2011). White muscle disease due to Se and vitamin

E deficiency was reported in feedlot sheep (RIET-CORREA 2004; AMORIM et al., 2005). Phosphorus deficiency was reported in goats reared in pastures in Paraíba (SILVA et al., 2011), and an outbreak of botulism associated with osteophagia as a result of P deficiency was reported in Piauí (RIET-CORREA et al., 2012).

Despite those reports, the need is clear to acquire a better knowledge of the occurrence and geographical distribution of the different mineral deficiencies in small ruminants in the Brazilian semiarid region, which has a population of 10,110,352 sheep and 8,538,255 goats. Only with this information will it be possible to formulate appropriate mineral supplements at the lowest cost. This study aimed to determine the concentrations of Cu, Fe, Mo, and Zn in liver and serum samples from sheep and goats raised in the semiarid region of the State of Paraíba in the dry and rainy seasons and to establish if copper deficiency is primary, due to the ingestion of low levels of copper, or secondary to the ingestion of high levels of Mo or Fe.

MATERIAL AND METHODS

The samples of liver and blood were taken from animals slaughtered in a slaughterhouse in Patos, in the State of Paraíba. During collection, a survey was conducted to characterize the sex, age, nutritional score and municipality of origin. At all, 253 liver and serum samples were randomly collected from the municipalities of Patos, Nova Olinda, Coremas, Santa Terezinha, São José das Espinharas, and Catingueira, all belonging to the semiarid region of Paraíba, as established by the Institute of Agricultural Defense in the State of Paraíba.

The sampling was conducted during the final third of the rainy season, when forage was available in the pastures, and during the final third of the dry period, with a

shortage of forage in the pastures. The sampling periods were defined following the normal rainfalls in the region as informed by the National Institute of Meteorology.

To obtain the serum, blood samples were collected by jugular venipuncture in Vacutainer tubes without anticoagulant. The blood samples remained at rest at room temperature to retract the clot and then were centrifuged for 15 minutes at 500G. The serum aliquots were then stored in Eppendorf tubes at - 20 °C for subsequent mineral analysis. Liver samples of approximately 50 g of liver were obtained using stainless steel knives. These samples were placed on filter paper to remove excess blood and then placed in plastic bags, properly identified and stored in a freezer at - 20 °C.

For the determination of minerals in the serum, the samples were diluted 6-20:1-fold with Milli-Q water, according to SOLAIMAN et al. (2001). The liver samples were fragmented using a scalpel blade, placed in a watch glass and dried in an oven at 103 °C for 24 hours to obtain dry matter. After this procedure, all the samples were weighed on an analytical balance. All weights were recorded, and the samples were placed in tubes containing boro-silicate nitric acid-perchloric acid (4:1 v/v) and maintained at rest for 12 hours. Next, the tubes were placed in a block digester at 150 °C. Upon completion of digestion, 10 mL 0.1 N hydrochloric acid was added, and the solution was deposited on the plastic container, hermetically sealed and forwarded to the laboratory for analytical procedures (TEBALDI et al., 2000). Cu, Mo, Fe and Zn levels were determined by atomic absorption spectrometry coupled to mass (ICP - Plasma), using the device model Spectraa - 200G (MILES et al., 2001).

For statistical analysis, the variables were described by the mean and standard deviation. The data were subjected to analysis of variance (F test), separating the effect of periods, species, and gender as causes of variation. Where the F test was significant, the treatment means were compared using Duncan (SAMPALIO 1998). All statistical

analysis was conducted at 5% significance. The following model was used: $Y_{ij} = P + E + S + E_{ij}$, where: Y_{ij} = the observed; P = effect of length; E = effect of species; S = effect of sex; E_{ij} = error.

RESULTS

The serum and liver concentrations of Cu, Fe, Mo, and Zn in male and female goats and sheep during the dry and raining season are presented in Table 1. The mean serum concentrations of Cu in goats ($11.82 \pm 3.28 \mu\text{mol/L}$) and sheep ($10.97 \pm 3.61 \mu\text{mol/L}$) were not influenced by any of the factors evaluated [season ($P > 0.1462$), species ($P > 0.2166$), and sex ($P > 0.0516$)]. The serum concentrations of Fe were significantly higher ($P < 0.0001$) in the rainy season ($11.61 \pm 2.98 \mu\text{mol/L}$) than in the dry season ($10.97 \pm 3.61 \mu\text{mol/L}$). Additionally, the serum Fe concentrations in goats ($16.38 \pm 4.51 \mu\text{mol/L}$) were significantly lower ($P < 0.0001$) than in sheep ($25.41 \pm 9.76 \mu\text{mol/L}$). No significant variations were found between males and females ($P > 0.3159$).

The serum concentrations of Mo were significantly higher ($P < 0.0048$) in the dry season ($0.41 \pm 0.01 \mu\text{mol/L}$) than in the rainy season ($0.13 \pm 0.01 \mu\text{mol/L}$). No significant variations were found between species ($P > 0.1879$) and sexes ($P > 0.5946$). The serum concentrations of Zn were also significantly higher ($P < 0.0104$) in the dry season ($8.64 \pm 2.22 \mu\text{mol/L}$) than in the rainy season ($7.91 \pm 2.05 \mu\text{mol/L}$). No significant differences were observed between sexes ($P > 0.0546$) and species ($P > 0.4269$).

Hepatic Cu and Mo concentrations were not influenced by the season ($P > 0.4245$ and $P > 0.8065$, respectively), species ($P > 0.6452$ and $P < 0.6099$, respectively) or sex ($P > 0.4240$ and $P > 0.8105$, respectively).

During the rainy season, the liver concentrations of Fe (189.01 ± 6.75 mg/kg) were significantly lower ($P < 0.0001$) than in the dry season (312.73 ± 12.11 mg/kg). Liver Fe concentrations were significantly lower ($P < 0.0001$) in goats (189.37 ± 6.51 mg/kg) than in sheep (313.70 ± 12.89 mg/kg). Males showed a higher ($P < 0.0001$) Cu concentration in the liver (284.69 ± 13.55 mg/kg) than females (242.60 ± 10.91 mg/kg).

No differences were observed in liver Zn concentration between species ($P > 0.0938$) or sex ($P > 0.0600$). However, during the dry period, the liver concentrations of Zn (125.22 ± 2.99 mg/kg) were significantly lower ($P < 0.0500$) than during the rainy season (133.93 ± 3.46 mg/kg).

Table 1 Serum and liver concentrations of Cu, Fe, Mo and Zn in different seasons in male and female goats and sheep slaughtered in the semiarid region of Paraíba.

Variables	Factors					
	Period		Species		Sex	
	Serum ($\mu\text{mol/L}$)					
	Drought	Rain	Goats	Sheep	Male	Female
Cu	10.97 \pm 3.61	11.61 \pm 2.98	11.82 \pm 3.28	10.97 \pm 3.61	10.45 \pm 3.23	11.55 \pm 3.68
Fe	25.30 \pm 9.76 ^{A*}	16.57 \pm 5.00 ^B	16.38 \pm 4.51 ^B	25.41 \pm 9.76 ^A	24.62 \pm 8.84	23.07 \pm 10.06
Mo	0.41 \pm 0.01 ^A	0.13 \pm 0.01 ^B	0.14 \pm 0.04	0.29 \pm 0.06	0.30 \pm 0.09	0.25 \pm 0.03
Zn	8.64 \pm 2.22 ^A	7.91 \pm 2.05 ^B	8.30 \pm 1.91	8.63 \pm 2.22	8.99 \pm 2.05	8.32 \pm 2.20
	Liver (mg/kg)**					
	Drought	Rain	Goats	Sheep	Male	Female
Cu	152.12 \pm 13.16	166.58 \pm 11.94	160.37 \pm 11.77	152.12 \pm 13.16	170.30 \pm 19.45	151.33 \pm 8.82
Fe	312.73 \pm 12.11 ^A	189.01 \pm 6.75 ^B	189.37 \pm 6.51 ^B	313.70 \pm 12.89 ^A	284.69 \pm 13.55 ^A	242.60 \pm 10.9 ^B
Mo	6.22 \pm 0.15	6.16 \pm 0.23	6.09 \pm 0.23	6.22 \pm 0.15	5.92 \pm 0.20	6.35 \pm 0.17
Zn	125.22 \pm 2.99 ^B	133.93 \pm 3.46 ^A	132.80 \pm 3.39	130.70 \pm 2.99	128.68 \pm 4.07	129.46 \pm 2.73

*Different uppercase letters on the same line within each factor (seasonal period, species and sex) differ at 5% probability. ** mg/kg= mg by kg dry matter.

DISCUSSION

The serum and liver concentrations of Cu found in this study are similar to those observed in Pernambuco by MARQUES et al. (2011) and suggest a marginal deficiency of this element. The normal serum Cu values differ among authors but in general may range from 10.16 to 31.25 $\mu\text{mol/L}$, and the hepatic levels range from 150 to 500 mg/kg (GRACE 1983; OREGUI & BRAVO 1993; POTT et al., 1999). Copper deficiency is one of the most important mineral deficiencies in Brazil, and low values of this element are found in the livers of ruminants and in forage in various Brazilian regions (TOKARNIA et al., 1999; McDOWELL 1999). In addition, various clinical forms of copper deficiency in ruminants have been diagnosed in all regions, including the Northeast (RIET-CORREA 2004). The marginal serum and liver Cu concentrations observed herein suggest that in the semiarid region of northeastern Brazil, in addition to economic losses caused by outbreaks of enzootic ataxia in sheep and goats (TOKARNIA et al., 1966; SOUSA et al., 2009; GUEDES et al., 2007; SANTOS et al., 2006), even greater economic losses may occur due to subclinical deficiency, which is associated with reduced growth and reproductive failure (McDOWELL et al., 1993).

Serum Fe in small ruminants may vary from 34.6 to 37.45 $\mu\text{mol/L}$ (UNDERWOOD & SUTTLE 1999; BLOOD 1994); thus, the results of this study demonstrate low serum concentrations of this element, which appeared even more marked in the goats (16.38 ± 4.51 $\mu\text{mol/L}$) than in the sheep (25.41 ± 9.76 $\mu\text{mol/L}$). In Pernambuco, MARQUES et al. (2011) found Fe serum concentrations of 35.380 $\mu\text{mol/L}$ in sheep and 25.06 $\mu\text{mol/L}$ in goats. Some authors consider serum Fe below 29 $\mu\text{mol/L}$ to be indicative of marginal deficiency (TOKARNIA et al., 1988; JONES et al., 1984). In contrast, the Fe concentrations in the liver of goats (189.37 ± 6.51) and sheep (313.70 ± 12.89) in this study were similar to those reported in various regions of Brazil,

ranging from 181 to 380 mg/kg (TOKARNIA et al., 1988), and higher than the mean value (138.8 mg/kg) reported by JONES et al. (1984) in sheep. Iron deficiency is very rare in sheep and goats raised under extensive grazing, occurring almost exclusively in cases of parasitism (PUGH 2005; SMITH & SHERMAN 2007). The low serum concentrations of Fe found in this research could be related to blood loss caused by *Haemonchus contortus*, which is the main gastrointestinal parasite that affects goats in the region (SILVA et al., 2008).

The metabolism of Mo in small ruminants has been rarely studied, and the few values found in the literature vary from 0.28 to 0.8 $\mu\text{mol/L}$ in serum and from 3.62 to 8.10 mg/kg in the liver (VAN RYSSSEN & STIELAU 1981; MARQUES et al., 2011). The Mo values found here in the serum and liver of goats and sheep were within normal ranges, suggesting that the copper deficiency is not associated with high Mo intake.

Normal serum and liver concentrations of Zn in small ruminants vary from 12 to 18.5 $\mu\text{mol/L}$ (SANZ LORENZO et al., 1996; UNDERWOOD & SUTTLE 1999) and from 101 to 200 mg/kg (TOKARNIA et al., 1988), respectively. The serum concentrations of Zn in this study were below the normal ranges, and the liver values were within normal ranges but significantly lower in the dry season than in the rainy season. In the semiarid region of the state of Pernambuco, MARQUES et al. (2011) reported marginal Zn concentrations in goats and sheep, and the authors considered the drought to be an important factor that determines low serum and liver Zn concentrations. These results, taken together, suggest the need for Zn supplementation in grazing small ruminants in the Brazilian semiarid region, mainly during the dry season.

CONCLUSION

The low or marginal serum and liver concentrations of Cu and Zn in small ruminants in the semiarid region of Paraíba indicate that these minerals should be included in mineral supplements. The normal or even low concentrations of Mo and Fe indicate that the Cu deficiency is primary, due to low Cu ingestion, and not secondary to high Mo or Fe ingestion.

REFERENCES

- BLOOD, D.C. Manual de Medicina Veterinária. 1th ed. Interamericana McGraw-Hill, Philadelphia, p.790, 1994. GRACE, N. D. Amounts and distribution of mineral elements associated with fleece-free empty body weight gains in the grazing sheep. Journal of Agricultural Research, New Zealand, Wellington, v.26, p.59-70, 1983. Disponível em <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/00288233.1983.10420952>. Acesso em: 23 de Jan. de 2013. doi: 10.1080/00288233.1983.10420952
- MARQUES, A.V.S. et al. Teores séricos e hepáticos de cobre, ferro, molibidênio e zinco em ovinos e caprinos no Estado de Pernambuco. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 31, n. 5, p. 398-406, 2011.
- Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2011000500006. Acesso em: 20 de Jun. de 2013. DOI: 10.1590/S0100-736X2011000500006

McDOWELL, L.R. Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil, University of Florida, 3 th ed., 292p., 1999.

McDOWELL, L.R. Minerals in Animal and Human Nutrition, New York: Academic Press, 524p., 1992.

MILES, P.H. et al. Analysis of Minerals for Animal Nutrition Research, Florida: USDA/T-STAR Grant, 3 th ed., 117p., 2001.

MILLS, C.F.; DAVIS, G.K. Molybdenum. Trace elements in human and animal nutrition. Academic Press, v.1, p.429-457, 1987.

MILLS, C. F. Biochemical and physiological indicators of mineral status in animals: copper, cobalt and zinc. **Journal Animal Science**, Champaign, v.65, p.1702, 1987. Disponível em <http://www.journalofanimalscience.org/content/65/6/1702.long>. Acesso em: 20 de Jun. de 2013.

MORAES, S.S. et al. Deficiências e desequilíbrios de microelementos em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.19, n,1, p. 19-33, 1999. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100736X1999000100004&script=sci_arrtext. Acesso em: 22 de Jan. de 2013. Doi 10.1590/S0100-736X1999000100004.

OREGUI, L.M.; BRAVO, M.V. El cobre, funciones y necesidades, In: Oregui L.M. Patologia relacionada com El cobre: Deficiencias e intoxicaciones. 1 th ed, Luzans Ediciones, Madrid, p. 9-22, 1993.

RIET-CORREA, F. Suplementação mineral em pequenos ruminantes no semi-árido. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v.7, n.2-3, p.112-130, 2004. Disponível em: http://www.rcvt.org.br/volumes/volume_7,numero_2_3,maio_dezembro,2004.pdf. Acesso em: 18 de Jun. de 2009.

RIET-CORREA, F. et al. Doenças de ruminantes e equinos. 2ed. Editora Varela, p. 312-320, 2001.

RIET-CORREA, F. et al. Botulism by *Clostridium botulinum* type C in goats associated with osteofagia. **Small Ruminant Research**, v.106, p.201-205, 2012. Disponível em: [http://www.smallruminantresearch.com/article/S0921-4488\(12\)00095-8/abstract](http://www.smallruminantresearch.com/article/S0921-4488(12)00095-8/abstract). Acesso em: 20 de Março de 2013. DOI: [dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.03.010](https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.03.010).

SANTOS, N. V. M. et al. Avaliação epidemiológica, clínica, anátomopatológica e etiológica de surtos de ataxia em cabritos e cordeiros. **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1207-1213, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v36n4/a25v36n4.pdf>. Acesso em: 24 de Maio de 2012. ISSN: 0103-8478.

SILVA, L. A. F. et al. Efeito da administração parenteral de cobre sobre o ganho de peso, eritrograma e parênquimas, hepático e renal, em bovinos mestiços (Zebu x

Europeu) confinados. **Semina: Ciências Agrárias**, v.25, n.3, p.225-234, 2004.

Disponível em:

<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/2241/1923>. Acesso

em: 15 de Março de 2012.

SPINOSA, H. S. et al. Macro e microelementos, In: Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.750-761, 2006.

Statistical Analyses Sistem Institute, Inc. SAS user's guide: Statistics Version, SAS, Cary, N. C. 2000

TOKARNIA, C. H., et al. Deficiências de cobre e cobalto em bovinos e ovinos no nordeste e norte do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.3, p.351-360, 1968.

Disponível em:

<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:a2OzB1MKgjsJ:https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/download/17981/12051+&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>. Acesso em: 05 de Fev. de 2010.

TOKARNIA, C. H. et al. Deficiências de cobre e cobalto em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.6, p.61-77, 1971.

Disponível em: <http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/viewFile/17737/11902>.

Acesso em: 05 de Fev. de 2010.

TOKARNIA, C. H. et al. Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.8, n.1-2, p.1-16, 1988. Acesso em: 18 de Fev. 2010.

TOKARNIA, C. H. et al. Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos - revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.19, n.2, p.47-62, 1999. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0100-736x1999000200001.

Acesso em: 04 de Fev. de 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X1999000200001>.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. The mineral nutrition of livestock. 3 th ed. New York: CAB International, 614p., 1999.

VAN RYSSSEN, J. B. J.; STIELAU, W. J. Effect of different levels of dietary molybdenum on copper and Mo metabolism in sheep fed on high levels of Cu. **British Journal of Nutrition**. v.45, p.203-210, 1981. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7470435>. Acesso em: 10 de Abr. de 2011.

ANEXOS

Anexo 1

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO – REVISTA SEMINA CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Os artigos poderao ser submetidos em portugues e apos o aceite serem traduzidos para o ingles. Os artigos em inglês terão prioridade de publicação.

Os artigos em ingles deverao estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de traducao; correcao de um dos seguintes tradutores

[American Journal Experts.](#)

[Editage](#)

[Elsevier](#)

O autor principal deverá anexar no sistema **documento comprobatório** dessa correção.

Categorias dos Trabalhos

- a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;
- b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- c) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- d) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português, inglês ou espanhol, no editor de texto Word for Windows, com espaçamento 1,5, em papel A4, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas, de acordo com a categoria do trabalho. Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem estar separadas no final do trabalho.

As figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões. As legendas das figuras deverão ser colocadas em folha separada obedecendo à ordem numérica de citação no texto. Fotografias devem ser identificadas no verso e desenhos e gráfico na parte frontal inferior pelos seus respectivos números do texto e nome do primeiro autor.

Quando necessário deve ser indicado qual é a parte superior da figura para o seu correto posicionamento no texto.

Preparação dos manuscritos

Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras); Abstract com Key words (no máximo seis palavras); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final ou Resultados, Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser escritos em letras maiúsculas e minúsculas e destacados em negrito, sem numeração. Quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem receber números arábicos. O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo de congresso, nota prévia ou formato reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. *Título do trabalho*, acompanhado de sua tradução para o inglês.
2. *Resumo e Palavras-chave*: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 150 e um máximo de 300 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).
3. *Introdução*: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.
4. *Material e Métodos*: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.
5. *Resultados e discussão com conclusões ou Resultados, Discussão e Conclusões*: De acordo com o formato escolhido, estas partes devem ser apresentadas de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados, pontos de vistas discutidos e conclusões sugeridas.
6. *Agradecimentos*: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Quando for o caso, antes das referências, deve ser informado que o artigo foi aprovado pela comissão de bioética e foi realizado de acordo com as normas técnicas de biosegurança e ética.

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos: Deverá obedecer às normas nacionais correspondentes (ABNT).

7. *Citações dos autores no texto:* Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

- a) Os resultados de Dubey (2001) confirmam que
- b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....
- c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....
- d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et. al., 1992).
- e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

Citações com três autores

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula.

Ex: (RUSSO; FELIX; SOUZA, 2000).

Incluídos na sentença, utilizar virgula para os dois primeiros autores e (e) para separar o segundo do terceiro.

Ex: Russo, Felix e Souza (2000), apresentam estudo sobre o tema....

Citações com mais de três autores

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Observação: Todos os autores devem ser citados nas Referências Bibliográficas.

8. *Referências Bibliográficas:* As referências bibliográficas, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes (única exceção à norma – item 8.1.1.2). A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porém, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

Comunicação científica

Uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento (nota prévia), com documentação bibliográfica e metodologia completas, como um artigo científico regular. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Corpo do trabalho sem divisão de tópicos, porém seguindo a seqüência – introdução, metodologia,

resultados (podem ser incluídas tabelas e figuras), discussão, conclusão e referências bibliográficas.

Relato de caso

Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, achados inéditos, descrição de novas espécies e estudos de ocorrência ou incidência de pragas, microrganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico ou veterinário. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Introdução com revisão da literatura; Relato do (s) caso (s), incluindo resultados, discussão e conclusão; Referências Bibliográficas.

Artigo de revisão bibliográfica

Deve envolver temas relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por fascículo é limitado e os colaboradores poderão ser convidados a apresentar artigos de interesse da revista. No caso de envio espontâneo do autor (es), é necessária a inclusão de resultados relevantes próprios ou do grupo envolvido no artigo, com referências bibliográficas, demonstrando experiência e conhecimento sobre o tema.

O artigo de revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Desenvolvimento do tema proposto (com subdivisões em tópicos ou não); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

Outras informações importantes

- 1.A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "Ad hoc" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.
- 2.Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).
- 3.Os trabalhos não aprovados para publicação serão devolvidos ao autor.
- 4.Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.
- 5.As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".

2. Informo que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares serão carregados, ESTANDO CIENTE que a **formatação incorreta importará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DO MÉRITO.**
3. **No passo seguinte preencher os metadados em inglês.**
Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "**editar metadados**" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.
4. **Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no processo de submissão.**
Utilize o botão "**incluir autor**"
5. A **identificação de autoria** do trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação Cega por Pares](#).
6. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)
7. O texto está em espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11; emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL);
O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.
8. Atesto que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação por Comitê de Ética e Termo de Livre consentimento caso sejam solicitados. Tendo sido citado no texto a obediência aos preceitos éticos cabíveis.
9. [Taxa de Submissão de novos artigos](#)

Declaração de Direito Autoral

Os **Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais. A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores. Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário. Nesses casos, os artigos, depois de adequados, deverão ser submetidos a nova apreciação. As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

Anexo 2

Normas para publicação

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica e editados **preferencialmente em idioma Inglês**. Os encaminhados em Português poderão ser traduzidos após a 1º rodada de avaliação para que ainda sejam revisados pelos consultores ad hoc e editor associado em rodada subsequente. Entretanto, caso **não traduzidos** nesta etapa e se **aprovados** para publicação, terão que **ser obrigatoriamente traduzidos para o Inglês** por empresas credenciadas pela Ciência Rural e obrigatoriamente terão que apresentar o certificado de tradução pelas mesmas para seguir tramitação na CR. **As despesas de tradução serão por conta dos autores**. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. O máximo de páginas será **15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras**. Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que não poderão ultrapassar as margens **enem estar com apresentação paisagem**.

3. O artigo científico (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão**. Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

4. A revisão bibliográfica (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words;

Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

5. A nota (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

6. O preenchimento do campo "**cover letter**" deve apresentar, obrigatoriamente, as seguintes informações em inglês, **exceto** para artigos **submetidos em português** (lembrando que preferencialmente os artigos devem ser submetidos em inglês).

- a) What is the major scientific accomplishment of your study?
- b) The question your research answers?
- c) Your major experimental results and overall findings?
- d) The most important conclusions that can be drawn from your research?
- e) Any other details that will encourage the editor to send your manuscript for review?

Para maiores informações acesse o seguinte [tutorial](#).

7. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

8. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

9. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

10. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

10.1. Citação de livro:
JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

10.2. Capítulo de livro com autoria:
GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

10.3. Capítulo de livro sem autoria:
COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.
TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

10.4. Artigo completo:
O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICH, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Response of *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Oryzaephilus surinamensis* (L.) to different concentrations of diatomaceous earth in bulk stored wheat. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

10.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

10.6. Tese, dissertação:
COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

10.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

10.8. Informação

verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

10.9. Documentos

eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

11. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

12. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

14. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

15. Lista de verificação (Checklist [.doc](#), [.pdf](#)).

16. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

17. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

18. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

19. Todos os artigos encaminhados devem pagar a [taxa de tramitação](#). Artigos reencaminhados (**com decisão de Reject and Resubmit**) deverão pagar a taxa de tramitação novamente. Artigos arquivados por **decurso de prazo** não terão a taxa de tramitação reembolsada.

20. Todos os artigos submetidos passarão por um processo de verificação de plágio usando o programa “Cross Check”.