

**AVALIAÇÃO DOS MICROMINERAIS FERRO, COBRE, ZINCO E  
MANGANÊS EM EQUINOS DA RAÇA PURO SANGUE LUSITANO  
ANTES E APÓS EXERCÍCIO**

**RODRIGO ANTONIO BORTO MININI**

**AVALIAÇÃO DOS MICROMINERAIS FERRO, COBRE, ZINCO E  
MANGANÊS EM EQUINOS DA RAÇA PURO SANGUE LUSITANO  
ANTES E APÓS EXERCÍCIO**

**RODRIGO ANTONIO BORTO MININI**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de Concentração: Fisiopatologia Animal

Orientadora: Profa.Dra. Cecília Braga Laposy

**RODRIGO ANTONI BORTO MININI**

**AVALIAÇÃO DOS MICROMINERAIS FERRO, COBRE, ZINCO E  
MANGANÊS EM EQUINOS DA RAÇA PURO SANGUE LUSITANO  
ANTES E APÓS EXERCÍCIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Presidente Prudente, 3 de dezembro de 2010.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dra. Cecília Braga Laposy  
Curso de Mestrado em Ciência Animal  
Universidade do Oeste Paulista

---

Prof. Dr. Raimundo Souza Lopes  
FMVZ – Universidade Estadual Paulista  
Botucatu - São Paulo

---

Prof. Dra. Alessandra Melchert  
Curso de Mestrado em Ciência Animal  
Universidade do Oeste Paulista

636.1  
M665a

Minini, Rodrigo Antonio Borto  
Avaliação dos microminerais ferro, cobre, zinco e manganês em eqüinos da raça Puro Sangue Lusitano antes e após exercício / Rodrigo Antonio Borto Minini – Presidente Prudente, 2010.  
36 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) –  
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE:  
Presidente Prudente – SP, 2010.

Bibliografia

1. Eqüinos -- Exercício. 2. Microminerais. 3.  
Puro Sangue Lusitano. I. Título.

## **DEDICATÓRIA**

*Dedico este trabalho a toda minha família, que nunca mediu esforços e esteve sempre presente em todos os momentos de sua realização.*

## **AGRADECIMENTOS**

*A professora orientadora, Dra. Cecilia Braga Laposy, pela orientação e dedicação a este trabalho.*

*Aos professores, do programa de Mestrado em Ciência Animal, pelos ensinamentos e conselhos durante esta etapa.*

*A toda minha família pelo apoio desde a graduação ate este momento.*

*Aos amigos, conselheiros em vários momentos.*

*A acadêmica Heloisa Ferreira Duarte do Valle por ceder sua propriedade e seus animais para realização deste trabalho.*

*Ao acadêmico Hugo de Rossi pela ajuda na coleta do material para este trabalho.*

*Ao Marcos pelo grande apoio e auxílio durante este trabalho.*

*Aos meus coordenadores e colegas e amigos da UNIGUAÇU e do CESCAGE pelo apoio e compreensão para o término deste trabalho.*

*“É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar; é melhor tentar, ainda que em vão, que sentar-se fazendo nada até o final. Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias tristes em casa me esconder. Prefiro ser feliz, embora louco, que em conformidade viver ...”*

Martin Luther King

## RESUMO

### **Avaliação dos microminerais ferro, cobre, zinco e manganês em equinos da raça Puro Sangue Lusitano antes e após exercício**

Com o objetivo de avaliar as quantidades dos microminerais ferro, cobre, zinco e manganês em equinos da raça Puro-sangue Lusitano, antes e depois de exercícios, foram utilizados 30 machos sadios, atestados por avaliações clínicas e laboratoriais, originários de uma propriedade no município de Martinópolis, estado de São Paulo. Amostras de sangue foram retiradas antes e imediatamente após 30 minutos de exercício para a realização das dosagens dos microminerais. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 30 repetições. A concentração dos íons metálicos ferro, cobre, zinco e manganês foi determinada por espectrofotometria de absorção atômica. Para a análise estatística foi realizado o teste *t* pareado, considerando significância estatística para valores de *p* inferiores a 5%. Observou-se que após o exercício, a atividade sérica de ferro não sofreu variações ( $p = 0,2365$ ), enquanto os valores de cobre se elevaram significativamente depois do treinamento. Já os microminerais zinco e manganês diminuíram após o exercício ( $p < 0,001$ ). Pode-se concluir que o exercício físico de curta duração altera significativamente a concentração sérica dos microminerais Cu, Zn e Mn na raça Puro-sangue Lusitano. A hemoconcentração, causada pela desidratação decorrente da sudorese, é a causa mais provável do aumento dos níveis séricos de Fe e Cu e diminuição de Zn.

**Palavras-chave:** Eqüinos. Microminerais. Exercício. Puro-sangue Lusitano



## ABSTRACT

### Trace mineral iron, copper, zinc and manganese evaluation in Purebred Lusitano horses before and after exercise

In order to assess the quantities of iron, copper, zinc and manganese trace minerals in Purebred Lusitano horses before and after exercise, 30 healthy males from a property in the municipality of Martinópolis, São Paulo were used, certified by clinical and laboratory assessments. Blood samples were taken before and after 30 minutes of exercise in order to measure trace elements. The experimental design was totally randomized, in 30 repetitions. The concentration of iron, copper, zinc and manganese metallic ions was determined by atomic absorption spectrophotometry. To have results for statistical analysis, the *t* test was performed, considering statistical significant for *p* values less than 5%. It was observed that after exercising, the serum activity of iron has not changed ( $p = 0.2365$ ), while copper values have significantly risen after training. On the other hand, zinc and manganese trace minerals decreased after exercise ( $p < 0.001$ ). It can be concluded that exercise of short duration significantly alter the serum concentration of trace Cu, Zn and Mn in Purebred Lusitano horse. The hemoconcentration caused by dehydration due to sweating is the most likely cause of increased serum levels of Fe and Cu and Zn decreased.

**Key words:** Equine. Trace mineral. Exercise. Purebred Lusitano horses

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	10
BIBLIOGRAFIA.....	15
ANEXOS.....	19
2 ARTIGO CIENTÍFICO.....	21

## 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

O exercício está amplamente reconhecido como fator estressante e pode influenciar no sistema imune e na susceptibilidade a doenças. Sua interação com a função imune é complexa e, como resultados disso, os efeitos variam dependendo da duração e intensidade da atividade física, bem como da aptidão do indivíduo. Em geral, os exercícios de intensidade moderada estão associados com efeitos benéficos sobre os mecanismos de defesa do hospedeiro. Em contraste, sessões agudas de atividade de alta intensidade ou exercícios prolongados podem resultar em imunossupressão, principalmente do sistema imune inato (WARREN, 2008).

A alimentação natural do cavalo sempre se constituiu de gramíneas, sendo suficiente para manter as suas condições físicas quando são de boa qualidade. Porém, o homem mudou e tem mudado o hábito de vida dos equinos, durante o processo de domesticação, obrigando-o a uma adaptação alimentar a níveis insuportáveis para a capacidade funcional de seu sistema digestório (RESENDE, 2003).

No Brasil, uma alimentação deficiente em minerais para equinos, é resultado de uma série de fatores, tais como o desenvolvimento de pastagens com características tropicais, as alterações sazonais e a tendência à concentração de animais devido ao alto custo da terra (KERBER, 2003).

Os elementos inorgânicos ou minerais constituem apenas uma pequena fração do peso corporal e da quantidade de nutrientes exigidos na ração. O corpo do equino consiste de aproximadamente 60 a 65% de água; 30 a 35% de proteínas, gorduras e carboidratos; e 4% de minerais (LEWIS, 2000).

Deficiências e/ou desequilíbrios de minerais podem alterar as atividades de certas enzimas e funções de órgãos específicos, assim prejudicando percursos metabólicos específicos, bem como a resposta imune. A nutrição com microminerais pode, portanto, determinar a saúde dos animais e a homeostasia do seu organismo (NOVOTNY et al., 2006).

Com a introdução de novas técnicas de mensuração de microminerais em amostras de sangue de animais, torna-se cada vez mais necessária a padronização dos valores séricos dos minerais para a correta nutrição de equinos

atletas, permitindo a adequação dos teores de cada nutriente na alimentação de acordo com a exigência fisiológica a qual estão sendo submetidos e também com a idade e o sexo dos animais (JACKSON, 1997).

Existem variações na literatura sobre a quantidade de ferro no organismo, entretanto, sabe-se que as proporções mais importantes da totalidade deste elemento encontram-se na hemoglobina (60 a 70%), mioglobina (3%), armazenado (26%) e em enzimas como as catalases, peroxidases e citocromos numa proporção inferior a 1% (FERNANDES et al., 1999; STOCKHAM; SCOTT, 2008).

O ferro desempenha papel vital no metabolismo animal, relacionado aos processos de respiração celular, como componente da hemoglobina, mioglobina e citocromo, bem como de enzimas (McDOWELL, 1999). Para equinos atletas, é o primeiro mineral-traço considerado em termos de suplementação (JACKSON, 1997). Fernandes et al.(1999) verificaram que os valores de ferro não se alteraram após a realização de esforço físico, porém é um microelemento que melhor reflete um processo inflamatório agudo (BORGES et al., 2007).

Sua homeostasia é amplamente controlada pela absorção, que por sua vez pode ser afetada pela idade, estado férrico, higidez do animal, condições do trato gastrointestinal, quantidade e forma química. Geralmente quando os níveis da dieta aumentam, a porcentagem absorvida diminui (ANDREWS; SMITH, 2000). A forma absorvida do ferro é o  $Fe^{2+}$  que entra nas células epiteliais intestinais (SCHAEFER, 2009).

O ferro reabsorvido é retido com grande tenacidade e não é perdido pelo corpo exceto em quadros hemorrágicos. Ao ser liberado da hemoglobina durante a lise das hemácias, o ferro é carregado para o fígado e secretado pela bile para posterior utilização na formação da hemoglobina (ANDREWS; SMITH, 2000).

Em adultos, os valores normais de ferro sérico obtidos por Duncan et al. (1994) variaram de 73,1 a 140,1  $\mu\text{g/dL}$ , enquanto as variações verificadas por Puls (1994), Lewis (1985) e Meyer e Harvey (2000) foram, respectivamente, de 84,0 a 270,0  $\mu\text{g/dL}$ , 69,9 a 199,8  $\mu\text{g/dL}$  e de 72,6 a 206,0  $\mu\text{g/dL}$ .

O cobre é necessário para a respiração celular e a formação óssea, além de promover a mielinização da coluna, bem como a queratinização e a pigmentação tecidual. (STOCKHAM; SCOTT, 2008).

Os equinos necessitam de 9,0 mg/Kg de matéria seca deste elemento-traço. Pearce et al. (1998) enfatizam a importância de se relacionar as necessidades de cobre com a idade, sexo e raça. Segundo o autor, alterações ósseas e de cartilagem em potros em crescimento podem ser consequência de dietas com baixos níveis do mineral.

Cerca de 5 a 10% do cobre presente na dieta é absorvido pelos animais adultos. Segundo McDowell (1999), a absorção é influenciada pela forma física e outros fatores como os fitatos, altos níveis de cálcio, ferro e zinco, que podem reduzir seu transporte. Uma alta proporção deste microelemento ingerido aparece nas fezes. Outra fração pode ser eliminada pela urina, e pequenas quantidades pela transpiração.

Os valores normais de cobre sérico em equinos adultos variam de 56,8 a 170,2 µg/dL (LEWIS, 1985); 65,0 a 200,0 µg/dL (PUSL, 1994); 79 µg/dL (AUER; SEAWRIGHT, 1998); 100,0 a 140 µg/dL (PEARCE et al., 1998) e 45,85 a 56,29 µg/dL (SILVA et al., 2007).

O zinco é essencial para o desenvolvimento, crescimento, função imune e diferenciação de tecidos de todas as espécies. Este microelemento possui propriedades antioxidantes atuando na regulação da síntese da metalotioneína, na estrutura da enzima superóxido dismutase e na proteção de agrupamentos sulfidríla de proteínas de membranas celulares por antagonismo com metais pró-oxidantes como ferro e cobre (KOURY; DONANGELO, 2003; LEPESHKEVICH; DZHARAGOV, 2009).

Sendo fundamental na sinalização de células imunológicas, ativação, expressão gênica, síntese de proteínas e apoptose, o zinco é crucial para o desenvolvimento normal das células do sistema imunológico, mantém a atividade de neutrófilos, monócitos / macrófagos, células NK, linfócitos B e linfócitos T (WARREN, 2008). Também é um importante elemento para desenvolvimento e função de células moduladoras de resposta imunológica uterina não específica (PAPA et al., 2009).

Muitos componentes da dieta podem reduzir a absorção do zinco, incluindo fitato, fibras, fósforo, cobre e crômio. Seu metabolismo pode ser influenciado ainda pela interação com outros elementos com o cádmio, cálcio, ferro, selênio, manganês, bem como a histidina, o tipo e o nível proteico (McDOWELL, 1999).

Os valores de zinco sérico em equinos adultos, variam de 30 a 40 µg/dL segundo Koterba et al. (1990); 175,5 µg/dL segundo Balarin (2002); 440 a 1146 µg/L (WICHERT et al., 2002) e 172,75 a 270,69 µg/dL (SANTARÉM, 2004).

O manganês é um metal que atua como cofator nos sistemas enzimáticos envolvidos no metabolismo de carboidratos e lipídios, bem como nas sínteses de mucopolissacarídeos e da matriz óssea (JACKSON, 1997; McDOWELL, 1999). Além de manter a estrutura normal dos ossos, este elemento é importante para o sistema nervoso central e para reprodução (ANDREWS; SMITH, 2000).

Em todas as espécies, a absorção do elemento é relativamente eficiente, ocorrendo por toda a extensão do intestino delgado, tanto na forma livre como ligado à  $\alpha_2$ -macroglobulina ou à transferrina, a maior proteína carreadora deste microelemento antes de passar pelo fígado, onde é removido (SMITH, 2000).

A eliminação deste microelemento varia tanto quanto a regulação da absorção tecidual. Como sua quantidade corpórea é pequena, a excreção está próxima da ingestão. Assim, a administração excessiva desse mineral resulta tanto na absorção deficiente, como no aumento de sua eliminação (JACKSON, 1997).

Quase a totalidade do manganês oral (98%) é excretada nas fezes, sendo o restante eliminado pela urina. A quantidade de manganês recomendada na dieta para atender às necessidades de equinos é de 350 mg/Kg para animais de trabalho leve e 500 mg/Kg para aqueles com atividades moderadas ou intensas (JACKSON, 1997). O autor preconiza ainda 40 mg/Kg para animais em repouso, em relação aos valores séricos do manganês em cavalos PSI adultos clinicamente saudáveis, Balarin (2002), registrou 86,84 µg/dL.

A maioria dos artigos referentes aos requerimentos nutricionais para equinos, baseou-se em estudos com animais estabulados ou sob condições experimentais, e com objetivo de quantificar os valores para macro e microminerais na alimentação, uma vez que os métodos utilizados há uma década, limitavam o estudo da determinação desses elementos no soro sanguíneo (LEWIS, 2000). No entanto, os valores relatados como referência para equinos, mostram resultados bastante discrepantes quanto às diferentes faixas etárias estudadas, ao sexo, exigências fisiológicas a que estão sendo submetidos e também quanto à metodologia utilizada (BALARIN, 2002; SANTARÉM, 2004).

Com base no exposto acima, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os microminerais ferro, cobre, zinco e manganês de cavalos da raça Puro Sangue Lusitano antes e após o exercício.

## BIBLIOGRAFIA

ANDREWS, G. A.; SMITH, J. Iron metabolism. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 129-134.

AUER, D. E.; SEAWRIGHT, A. A. Assesment of copper and zinc status of farm horses and training throughbreds in South-East Queensland. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 65, p. 235-239, 1998.

BALARIN, M. R. S. **Efeito do treinamento e de exercício de diferentes intensidades sobre os valores dos macro e microminerais, bioquímicos e hematológicos em equinos Puro Sangue Inglês (PSI), machos e fêmeas, dos 24 aos 36 meses de idade**. 111 f. 2002. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2002.

BORGES, A. S. et al. Serum iron and plasma fibrinogen concentrations as indicators of systemic inflammatory disease in horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 489-494, 2007.

DUNCAN, J. R. et al. **Veterinary Laboratory Medicine – Clinical Pathology**. 3.ed. Iowa: Sate University Press, 1994. 300 p.

FERNANDES, W. R. et al. Influência do exercício físico sobre os níveis séricos de ferro e de capacidade total de ligação do ferro em equinos de enduro. **Veterinária Notícias**, p. 79-82, 1999.

FITSANAKIS, V. A et al. Manganese (Mn) and Iron (Fe): Interdependency of Transport and Regulation. **Neurotoxicity Research Journal**, v. 18, nov., 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19921534>>. Acesso em: 20 out. 2010.

JACKSON, S. G. Trace minerals for the performance horse know biochemical roles and estimates of requirements. **Continuing Education**, London, v. 50, p. 668-674, 1997.

KERBER, C. E. **Mineralização de potros em crescimento**. 2003. Disponível em: <<http://www.biochoonline.com.br>>. Acesso em: 15 dez. 2009.



KOTERBA, A. M.; DRUMOND, W.; KOSCH, P. C. **Equine Clinical Neonatology**, Baltimore: Williams e Wilkins, 1990. 846 p.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, p. 433-441, 2003.

LEPESHKEVICH, S. V.; DZHARAGOV, B. M. Effect of zinc and cadmium ions on structure and function of myoglobin. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1794, p. 103-109, 2009.

LEWIS, L. D. Minerals for horses. In. LEWIS, L. D. **Equine clinical nutrition: feeding and care**. Philadelphia: Saunders Company, 1995. p. 25-60.

LEWIS, L. D. Necessidades em energia, nutrientes e fibra. In.: LEWIS, L. D. **Alimentação e cuidados do cavalo**. São Paulo: Roca, 1985. p. 63-112.

LEWIS, L. D. **Nutrição clínica equina: Alimentação e cuidados**. São Paulo: Editora Roca, 2000. 710 p.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. F. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista de Nutrição, Campinas**, v. 17, p. 79-87, 2004.

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

McDOWELL, L. R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil**. 3.ed. Illinois: Agrico Feed Ingredients, 1999. 92 p.

MEYER, J. D.; HARVEY, J. W. **Veterinary Laboratory Medicine**. 2.ed. Philadelphia: Saunders Company, 2000. 373 p.

MORENO, J. A. et al. Age-dependent susceptibility to manganese-induced neurological dysfunction. **Toxicological Sciences**, v. 112, p. 394-404, 2009.

NOVOTNY, J.; PISTL, J.; KOVAC, G. **Organic Trace Elements and Immunity of Pigs**. Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen, Denmark, 2006 .

PAPA, F. O. et al. **Concentration of Selenium, Zinc and Copper of Uterine Fluid of Mare in Preovulatory Period.** Proceedings of the 11th International Congress of the World Equine Veterinary Association. Brasil, 2009.

PEARCE, S.G. et al. Effect of copper supplementation on the copper status of pasture-fed young Thoroughbreds. **Equine Veterinary Journal**, Suffolk, v. 30, p. 204-210, 1998.

PULS, R. **Mineral levels in animal health.** Vancouver: Sherpa International, 1994. 367 p.

RESENDE, A. **Nutrição.** 2003. Disponível em: <http://pc2.powerline.com.br/jalencar/alehnut.html>. Acesso em: 15 dez. 2009.

SANTARÉM, C. L. **Valores séricos de macro e microminerais de equinos da raça puro sangue inglês (PSI), do nascimento até aos seis meses de idade.** 2004. 116f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu.

SCHAEFER, D. M. W. **Iron Metabolism and Laboratory Assessment of Iron Status.** Proceeding of the ACVP/ASVCP Concurrent Annual Meetings. United States of America, 2009.

SILVA, M. A. M. L. et al. Determinação das concentrações de cobre e zinco séricos de equinos da região de Espírito Santo do Pinhal. **Boletim de Medicina Veterinária**, v. 3, p. 24-34, 2007.

SMITH, J. E. Iron metabolism and its disorders. In.: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals.** 5.ed. London: Academic Press, 1997. p. 223-237.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. **Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology.** 2.ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2008. 908 p.

UNDERWOOD, E. J. The mineral nutrition of livestock. In.: UNDERWOOD, E. J. **Commonwealth Agricultural Bureaux.** London: Academic Press, 1981. p. 407-429.

WARREN, L. K. **Potential Immuno-stimulatory Nutrients for the Equine Athlete.** Proceedings of the 4th European Equine Nutrition & Health Congress. Netherlands, 2008.

WICHERT, B.; KREYENBERG, K.; KIENZLE, E. Serum response after oral supplementation of different zinc compounds in horses. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 1769-1770, 2002.

**ANEXOS**

## Anexo A: Níveis de Garantia ração (TecHorse12 - Purina®) 40 kg

Umidade (Max)	13,0%
Proteína Bruta (Min)	12,0%
Extrato Etéreo (Min)	2,0%
Matéria Fibrosa (Max)	15,0%
Matéria Mineral (Max)	15,0%
Cálcio (Max)	1,5%
Fósforo (Min)	0,4%

**Anexo B: Níveis de Garantia Omolenefós70 - Purina® 25 kg**

---

Cálcio (Max)	150,00g
Fósforo (Min)	70,00g
Enxofre	10,00g
Magnésio	10,00g
Sódio	150,00g
Ferro	2.500,00mg
Cobre	820,00mg
Zinco	2.620,00mg
Manganês	2.124,00mg
Lisina	10,00mg
Iodo	20,00mg
Selênio	12,50mg
Cobalto	20,00mg
Beta Glucanas	3.300mg
Cromo	6,00mg
Vitamina A	60.000,00 UI/kg
Vitamina D3	12.000,00 UI/kg
Vitamina E	450,00 UI/kg
Mananoligossacarídeo	2.100mg
Tiamina – Vitamina B1	50,00mg
Riboflavina – Vitamina B2	80,00mg
Niacina - Vitamina B3	240,00mg
Ácido Pantotênico – Vitamina B5	100,00mg
Piridoxina – Vitamina B6 HCL	20,00mg
Vitamina B9	25,30mg
Vitamina B12	240,00mg
Vitamina H – Biotina	14,00mg
Flúor (Max)	700,00mg

---

## 1 2 ARTIGO CIENTÍFICO\*

2

3 **Avaliação dos microminerais ferro, cobre, zinco e manganês em equinos da raça**

4 **Puro-sangue Lusitano antes e após exercício**

5 **Micromineral iron, cooper, zinc and manganese evaluation in Lusitano horses before**

6 **and after exercise.**

7 Rodrigo Antonio Borto Minini<sup>I</sup>, Cecília Braga Laposy<sup>II\*</sup>, Hemann Bremer Neto<sup>II</sup>, Hugo De

8 Rossi<sup>III</sup>, Heloisa Ferreira Duarte do Valle<sup>III</sup>.

### 9 **Resumo**

10 Com o objetivo de avaliar as quantidades dos microminerais ferro, cobre, zinco e  
11 manganês em equinos da raça Puro-sangue Lusitano, antes e depois de exercícios, foram  
12 utilizados 30 machos sadios, atestados por avaliações clínicas e laboratoriais, originários de  
13 uma propriedade no município de Martinópolis, estado de São Paulo. Amostras de sangue  
14 foram retiradas antes e após o exercício para a realização das dosagens dos microminerais. O  
15 delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 30 repetições. A concentração  
16 dos íons metálicos ferro, cobre, zinco e manganês foi determinada por espectrofotometria de  
17 absorção atômica. Para a análise estatística foi realizado o teste *t* pareado, considerando  
18 significância estatística para valores de *p* inferiores a 5%. Observou-se que após o exercício, a  
19 atividade sérica de ferro não sofreu variações ( $p = 0,2365$ ), enquanto os valores de cobre se  
20 elevaram significativamente depois do treinamento. Já os microminerais zinco e manganês  
21 diminuíram após o exercício ( $p < 0,001$ ).

---

\* Normas da revista Ciência Rural

<sup>I</sup> Discente do Mestrado em Ciência Animal-Universidade do Oeste Paulista

<sup>II</sup> Professores dos cursos de Mestrado em Ciência Animal e Graduação em Medicina Veterinária – Universidade do Oeste Paulista (Unoeste). \* Autor para correspondência: Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Unoeste. Rod. Raposo Tavares Km 572, Bairro Limoeiro. 19075-175, Presidente Prudente, SP. Tel.: 55183229-2066. e-mail: claposy@unoeste.br.

<sup>III</sup> Discentes do curso de Medicina Veterinária – Universidade do Oeste Paulista

22           Pode-se concluir que o exercício físico de curta duração altera significativamente a  
23 concentração sérica dos microminerais Cu, Zn e Mn na raça Puro-sangue Lusitano. A  
24 hemoconcentração, causada pela desidratação decorrente da sudorese, é a causa mais provável  
25 do aumento dos níveis séricos de Fe e Cu e diminuição de Zn.

26 **Palavras-chave:** equinos; microminerais; exercício; Puro-sangue Lusitano

27

### 28 **Abstract**

29 In order to assess the quantities of iron, copper, zinc and manganese trace minerals in  
30 Purebred Lusitano horses before and after exercise, 30 healthy males from a property in the  
31 municipality of Martinópolis, São Paulo were used, certified by clinical and laboratory  
32 assessments. Blood samples were taken before and after exercise in order to measure trace  
33 elements. The experimental design was totally randomized, in 30 repetitions. The  
34 concentration of iron, copper, zinc and manganese metallic ions was determined by atomic  
35 absorption spectrophotometry. To have results for statistical analysis, the *t* test was  
36 performed, considering statistical significant for *p* values less than 5%. It was observed that  
37 after exercising, the serum activity of iron has not changed ( $p = 0.2365$ ), while copper values  
38 have significantly risen after training. On the other hand, zinc and manganese trace minerals  
39 decreased after exercise ( $p < 0.001$ ). It can be concluded that exercise of short duration  
40 significantly alter the serum concentration of trace Cu, Zn and Mn in Purebred Lusitano  
41 horse. The hemoconcentration caused by dehydration due to sweating is the most likely cause  
42 of increased serum levels of Fe and Cu and Zn decreased.

43 **Key words:** equine; trace minerals; exercise; purebred Lusitano horses

#### 44 **Introdução**

45            Nas últimas décadas, os criadores brasileiros investiram em melhoramento genético,  
46 obtendo uma das mais seletas tropas de Puro-sangue Lusitanos do mundo. Atualmente, o país  
47 é o maior exportador da raça para a América do Norte e vem aumentando suas exportações  
48 para a Europa – inclusive para Portugal. No Brasil, cerca de 350 criadores possuem um  
49 plantel de 10 mil Lusitanos Puro-sangue, a maioria está concentrada no interior do estado de  
50 São Paulo (ALMEIDA FILHO, 2010).

51            O exercício está amplamente reconhecido como fator estressante e pode influenciar no  
52 sistema imune e na susceptibilidade a doenças. A interação entre o exercício e a função imune  
53 é complexa e, como resultados disso, os efeitos variam dependendo da duração e intensidade  
54 do exercício, bem como da aptidão do indivíduo. Em geral, os exercícios de intensidade  
55 moderada regular são associados a efeitos benéficos sobre os mecanismos de defesa do  
56 hospedeiro. Em contraste, sessões agudas de atividade de alta intensidade ou exercícios  
57 prolongados podem resultar em imunossupressão, principalmente do sistema imune inato  
58 (WARREN, 2008).

59            No Brasil, uma alimentação deficiente em minerais para equinos é resultado de uma  
60 série de fatores, tais como o desenvolvimento de pastagens com características tropicais, as  
61 alterações sazonais e a tendência à concentração de animais por causa do alto custo da terra  
62 (KERBER, 2003).

63            O ferro desempenha papel vital no metabolismo animal, sendo relacionado aos  
64 processos de respiração celular, como componente da hemoglobina, da mioglobina e do  
65 citocromo, além das enzimas (McDOWELL, 1999).

66            Embora a anemia esteja relacionada à deficiência de ferro, em animais com deficiência  
67 de cobre há atraso na maturação das hemácias e diminuição de sua vida média, causando  
68 anemia do tipo microcítica e hipocrômica (STOCKHAM & SCOTT, 2008).



69 O cobre é necessário para a respiração celular e a para a formação óssea, além de  
70 promover a mielinização da coluna e a queratinização e pigmentação tecidual (STOCKHAM  
71 & SCOTT, 2008). PEARCE et al. (1998) enfatizam a importância de se relacionar as  
72 necessidades de cobre à idade, ao sexo e à raça.

73 O zinco é essencial para o desenvolvimento, crescimento, função imune e  
74 diferenciação de tecidos de todas as espécies. (KOURY & DONANGELO, 2003;  
75 LEPESHKEVICH & DZHARAGOV, 2009). Desempenha, ainda, papel fundamental na  
76 sinalização de células imunológicas, ativação, expressão gênica, síntese de proteínas e  
77 apoptose (WARREN, 2008).

78 O manganês é um metal que atua como cofator nos sistemas enzimáticos envolvidos  
79 no metabolismo de carboidratos e lipídios e nas sínteses de mucopolissacarídeos e da matriz  
80 óssea (JACKSON, 1997; McDOWELL, 1999).

81 Deficiências e/ou desequilíbrios de minerais podem alterar as atividades de certas  
82 enzimas e funções de órgãos específicos, prejudicando percursos metabólicos específicos e a  
83 resposta imune. A nutrição com microminerais pode, portanto, determinar a saúde dos  
84 animais e a homeostasia de seu organismo (NOVOTNY et al., 2006).

85 Com a introdução de técnicas para mensuração de microminerais em amostras de  
86 sangue de animais, torna-se cada vez mais necessária a padronização dos valores séricos dos  
87 minerais para a correta nutrição de equinos atletas, permitindo a adequação dos teores de cada  
88 nutriente na alimentação, de acordo com a exigência fisiológica a qual estão sendo  
89 submetidos e também.

90 A maioria dos artigos referentes aos requerimentos nutricionais para equinos foi baseada  
91 em estudos com animais estabulados ou sob condições experimentais e com objetivo de  
92 quantificar os valores para macro e microminerais na alimentação, uma vez que os métodos  
93 utilizados há uma década limitavam o estudo da determinação desses elementos no soro

94 sanguíneo (LEWIS, 2000). No entanto, os valores relatados como referência para equinos  
95 mostram resultados bastante discrepantes no que se refere às diferentes faixas etárias  
96 estudadas, ao sexo, a exigências fisiológicas a que estão sendo submetidos e também à  
97 metodologia utilizada (BALARIN, 2002; SANTARÉM, 2004).

98 Tendo em vista os fatos expressos anteriormente, este trabalho, portanto, propõe-se a  
99 avaliar as quantidades dos microminerais ferro, zinco, cobre e manganês em equinos da raça  
100 Puro-sangue Lusitano, antes e depois de exercícios.

### 101 **Material e Métodos**

102 Foram utilizados 30 equinos machos, inteiros, com média de  $3 \pm 0,5$  anos de idade, da  
103 raça Puro-sangue Lusitano, clinicamente saudáveis e submetidos a  $30 \pm 7$  minutos de  
104 exercício (trote) diário. A alimentação dos animais constituiu-se de feno *coast cross*, ração  
105 peletizada TecHorse12 (Purina<sup>®</sup>), administrados duas vezes ao dia, e suplemento mineral  
106 Omolenefós70 (Purina<sup>®</sup>) *ad libitum*.

107 Para avaliação do estado de hígidez dos animais durante o experimento, foi realizada  
108 a inspeção das mucosas aparentes, a auscultação dos batimentos cardíacos e dos movimentos  
109 respiratórios, e a aferição da temperatura retal. Exames coproparasitológicos, hemograma e  
110 pesquisa de hematozoários foram realizados com a finalidade de complementar a avaliação  
111 do estado de saúde, segundo REED & BAYLY (2000).

112 As amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular, utilizando-se  
113 agulhas de 25,0 x 8,0 mm, no total de 10 mL, coletadas em tubos a vácuo siliconados sem  
114 anticoagulante para realização das dosagens dos minerais, antes e após o exercício para  
115 posterior processamento e obtenção do soro.

116 As concentrações dos íons metálicos ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn) e manganês  
117 (Mn) foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica, de acordo com  
118 SANTARÉM (2004), sendo que para a mineralização (digestão) das amostras, foi utilizada

119 mistura ácida composta por 3,0 mL de ácido nítrico concentrado, 0,5mL de ácido perclórico  
120 a 30% (Merk<sup>®</sup>), em forno de microondas com sistema de vaso fechado. Na digestão foi  
121 utilizado 1,0 mL de soro equino, transferido para o frasco do aparelho de micro-ondas,  
122 acrescentando-se em seguida em cada recipiente a mistura ácida. Os extratos ácidos obtidos  
123 após este processo foram transferidos para tubo de ensaio graduado, acertando-se o volume  
124 final com água deionizada na quantidade suficiente para 5,0 mL.

125 Para a análise estatística, empregou-se inicialmente o teste de Kolmogov-Smirnov  
126 para avaliar a normalidade dos dados, pelo qual todas as variáveis analisadas foram  
127 consideradas como paramétricas ( $p > 0,10$ ). A seguir, os valores de dosagens séricas de  
128 minerais – antes e depois dos exercícios – foram transformados em escores-Z para determinar  
129 a existência de valores atípicos influentes (*outliers*), sendo classificadas dentro dessa  
130 categoria as observações com valor de  $Z > 2,5$  (HAIR JUNIOR et al., 2005).

131 A análise de observações influentes foi complementada por meio da construção de  
132 gráficos do tipo *Box-plot*. As dosagens séricas dos minerais pesquisados antes e após os  
133 exercícios foram comparadas pelo teste *t*-pareado (PAGANO & GAUVREAU, 2004). Todas  
134 as análises foram realizadas por meio do pacote computacional Bioestat (AYRES et al. 2007),  
135 com nível de significância de 5%.

## 136 **Resultados e Discussão**

137 Os gráficos do tipo *Box-plot* referentes aos dois momentos observados para cada um  
138 dos quatro minerais pesquisados estão representados nas figuras de 1 a 4.

139 Foi observado que, após o exercício, os teores séricos de ferro tiveram um aumento,  
140 porém não significativo ( $p = 0,2365$ ) (Figura 1). Antes do exercício, o valor para o Fe foi de  
141  $362,91 \pm 134,13 \mu\text{g/dL}$  e após o exercício foi de  $398,32 \pm 85,55 \mu\text{g/dL}$  (Tabela 1). Segundo  
142 MACHADO et al. (2010), as análises, com objetivo de verificar os efeitos do exercício no  
143 metabolismo do ferro, devem contemplar principalmente o período entre seis e 24 horas pós-

144 exercício, excluindo-se o efeito imediato da hemoconcentração. No presente estudo,  
145 possivelmente, este efeito pós-exercício pode estar associado ao aumento da concentração de  
146 Fe, já que a coleta foi feita imediatamente após o exercício. MACHADO et al. (2010) e  
147 FERNANDES et al. (1999), em trabalhos realizados com coletas de amostras em tempo  
148 superior a seis horas, verificaram que os valores de ferro não se alteraram após realização de  
149 esforço.

150 De acordo com estudos de MACHADO et al. (2010), o exercício pode induzir  
151 diferentes alterações no metabolismo do Fe, dependendo da intensidade e duração, sendo o  
152 sequestro o evento mais comum.

153 O cobre (figura 2) teve um aumento ( $p < 0,0001$ ) variando de  $75,70 \pm 23,56 \mu\text{g/dL}$  antes  
154 do exercício para  $103,41 \pm 23,16 \mu\text{g/dL}$  (Tabela 1) logo após a atividade física, de acordo  
155 com CAMPBELL & ANDERSON (1987), em estudos com humanos, o Cu é eliminado  
156 apenas pela urina e pelas fezes, motivo pelo qual possivelmente em decorrência da  
157 hemoconcentração relacionada a perda de líquido pelo suor e sua eliminação ocorrer apenas  
158 pela defecação e micção este microelemento encontra-se aumentado após o exercício no  
159 presente estudo. Em estudos realizados por BALARIM (2002) com equinos PSI submetidos a  
160 galope, pode-se verificar aumento nos teores séricos deste micromineral nos equinos machos  
161 avaliados.

162 A concentração sérica de zinco (figura 3) teve uma diminuição ( $p < 0,0002$ ), variando  
163 de  $294,85 \pm 119,52 \mu\text{g/dL}$  antes do exercício para  $193,86 \pm 48,19 \mu\text{g/dL}$  depois do exercício  
164 (Tabela 1). MEYER (1987), estudando equinos, E CAMPBELL & ANDERSON (1987), em  
165 trabalhos com humanos, determinaram que em ambas as espécies há perda de Zn no suor,  
166 que é possivelmente a causa dessa diminuição logo após o exercício neste estudo.  
167 CAMPBELL & ANDERSON (1987) ainda citam que o zinco é eliminado também pela urina  
168 após o exercício; dados estes que complementam a citação de HUDSON (2001), que, em

169 estudo comparando equinos que não se exercitam regularmente com animais rotineiramente  
170 em exercício, verificou que há uma maior exigência de Zn para estes.

171 BALARIM (2002), em estudo comparando a dosagem sérica de microminerais em  
172 equinos Puro-sangue Inglês (PSI), verificou que, após o galope, houve diminuição  
173 significativa nos valores de Zn nos equinos machos testados, dados estes que corroboram com  
174 os do presente estudo.

175 Os teores séricos de manganês depois de 30 minutos de exercícios (figura 4), tiveram  
176 uma diminuição ( $p < 0,0001$ ) variando de  $9,91 \pm 4,37 \mu\text{g/dL}$  antes do exercício para  $4,01 \pm$   
177  $2,38 \mu\text{g/dL}$  imediatamente depois (Tabela 1). Possivelmente, esta diminuição está relacionada  
178 ao importante papel do manganês em sistemas enzimáticos que catalisam a primeira etapa da  
179 síntese de carboidratos descrito por TOMLINSON et al. (2004). A dependência do Mn, não só  
180 no metabolismo de carboidratos, mas também no de lipídios, é descrita por BRINGS (2001),  
181 que ainda cita a essencialidade do mineral para síntese do sulfato de condroetina, necessário  
182 para a formação da cartilagem.

### 183 **Conclusão**

184 Pode-se concluir que o exercício físico de curta duração altera significativamente a  
185 concentração sérica dos microminerais Cu, Zn e Mn na raça Puro-sangue Lusitano. A  
186 hemoconcentração, causada pela desidratação decorrente da sudorese, é a causa mais provável  
187 do aumento dos níveis séricos de Fe e Cu e diminuição de Zn.

### 188 **Comissão de Ética**

189 O presente experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição  
190 de origem, protocolada sob o número 226/09.

### 191 **Referências**

192 ALMEIDA FILHO, M. R. T. **Tradição à vista**. Private Books, ed. 26. 2010. Disponível em:  
193 < <http://www.privatebrokers.com.br/edicoes/artigo.asp?cod=189>>. Acesso em 20 jun. 2010.

- 194 AYRES, M. et al. **Bioestat – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas.**  
195 Belém, PA: ONG Mimiraua, 2007.
- 196 BALARIN, M.R.S. **Efeito do treinamento e de exercício de diferentes intensidades sobre**  
197 **os valores dos macro e microminerais, bioquímicos e hematológicos em equinos Puro-**  
198 **sangue Inglês (PSI), machos e fêmeas, dos 24 aos 36 meses de idade.** 2002.111f. Tese  
199 (Doutorado em Clínica Veterinária) Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e  
200 Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- 201 BRINGS, K. **Amazing Minerals.** Thehorse.com. Article #453, 4 out. 2001 Disponível em:  
202 <<http://www.thehorse.com/viewarticle.aspx?ID=453>>. Acesso em 15 dez. 2009.
- 203 CAMPBELL, W W : ANDERSON, R A. Effects of aerobic exercise and training on the trace  
204 minerals chromium, zinc and copper. **Sports-Medicine**, v.4, p.9-18, 1987.
- 205 FERNANDES, W. R. et al. Influência do exercício físico sobre os níveis séricos de ferro e de  
206 capacidade total de ligação do ferro em equinos de enduro. **Veterinária. Notícias**, v.5,p.79-  
207 82,1999.
- 208 HAIR JUNIOR, J. F. et al. **Análise multivariada de dados.** 5 ed. Porto Alegre: Bookman,  
209 2005. 593p.
- 210 HUDSON, C. et al. Effects of exercise training on the digestibility and requirements of  
211 copper, zinc and manganese in Thoroughbred horses. **Proceedings of 17<sup>th</sup> Equine Nutrition**  
212 **and Physiology Society Symposium**, 2001.
- 213 JACKSON, S.G. Trace minerals for the performance horse know biochemical roles and  
214 estimates of requirements. **Continuing Education**, London, v. 50, p. 668-74, 1997.
- 215 KERBER, C. E. **Mineralização de potros em crescimento.** 2003. Disponível em:  
216 <<http://www.biochoonline.com.br>>. Acesso em 15 dez. 2009.
- 217 KOURY,J.C.; DONANGELO,C.M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de**  
218 **Nutrição.** Campinas, v.16, p.433-441, 2003.

- 219 LEPESHKEVICH,S.V.; DZHARAGOV,B.M. Effect of zinc and cadmium ions on structure  
220 and function of myoglobin. **Biochimical and Biophysical Acta**, v.1794, p.103-109, 2009.
- 221 LEWIS R. L. Necessidades em energia, nutrientes e fibra. In: \_\_\_\_\_ **Alimentação e cuidados**  
222 **do cavalo**. São Paulo: Roca, 1985, p. 63-112.
- 223 LEWIS, L. D. **Nutrição clínica equina: alimentação e cuidados**. São Paulo: Roca, 2000.  
224 710p.
- 225 MACHADO, L. P. Metabolismo do ferro em equinos atletas. **Ciência Rural**. Santa Maria,  
226 v.40, n.3, p.703-711, mar. 2010.
- 227 McDOWELL, L. R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais,**  
228 **ênfatizando o Brasil**. 3.ed., Illinois: Agrico Feed Ingredients, 1999. 92p.
- 229 MEYER, H. Nutrition of the equine athlete. In: **Proceedings of 2<sup>nd</sup> International**  
230 **Conference on Equine Exercise Physiology**. J.R. San Diego, California: Gillespie and N. E.  
231 Robinson eds., 1987.
- 232 NOVOTNY, J. et al. Organic Trace Elements and Immunity of Pigs. **Proceedings of the 19<sup>th</sup>**  
233 **International Pig Veterinary Society Congress**. Copenhagen, Denmark, 2006 .
- 234 PAGANO, M., GAUVREAU, K. **Princípios de bioestatística**. 2. ed. São Paulo: Pioneira  
235 Thomson Learning, 2004.
- 236 PEARCE, S. G. et al. Effect of copper supplementation on the copper status of pasture-fed  
237 young Thoroughbreds. **Equine Veterinary Journal**, Suffolk, v. 30, p. 204-10, 1998.
- 238 REED, S. M.; BAYLY, W. M. **Medicina Interna Equina**. Rio de Janeiro: Guanabara  
239 Koogan, 2000. 938p.
- 240 RESENDE, A. S. C. et al. **Efeito de Dois Diferentes Programas Nutricionais sobre o**  
241 **Desenvolvimento Corporal de Potros Mangalarga Marchador**. 2000. Disponível em:  
242 <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S151635982000000200024&script=sci\\_arttext&tlng=s](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S151635982000000200024&script=sci_arttext&tlng=s)  
243 >. Acesso em 07 de dez. 2010.

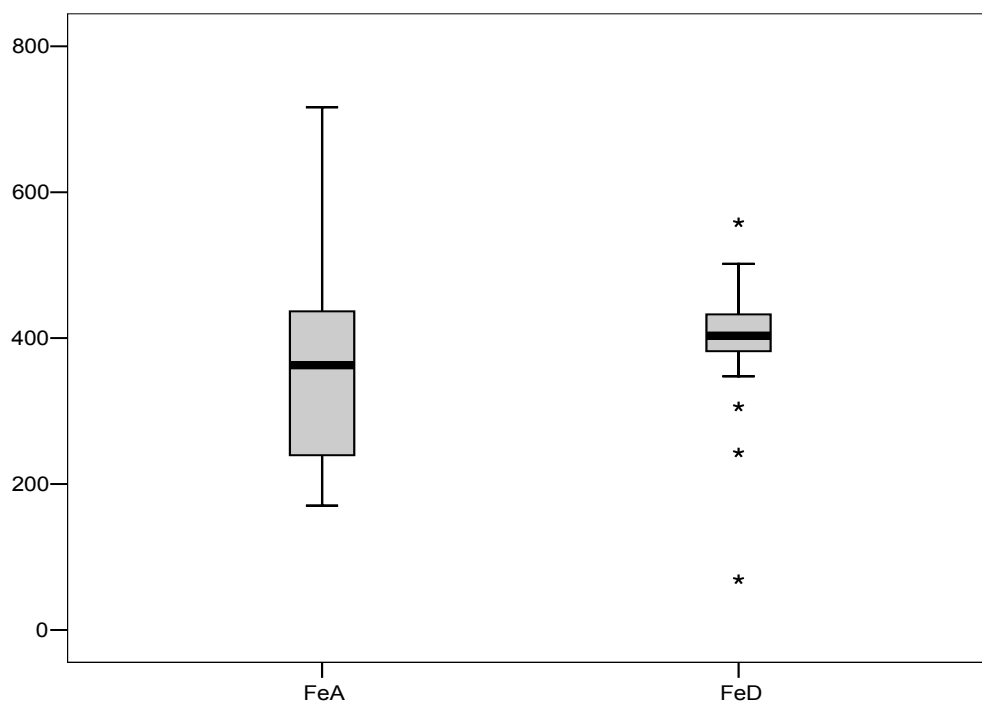
- 244 SANTARÉM, C.L. **Valores séricos de macro e microminerais de equinos da raça Puro-**  
245 **sangue Inglês (PSI), do nascimento até aos seis meses de idade.** 2004. 116f. Tese  
246 (Doutorado) Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade  
247 Estadual Paulista (UNESP).
- 248 SANTOS, S.A. **Recomendações sobre manejo nutricional para equinos criados em**  
249 **pastagens nativas no Pantanal.** Corumbá: EMBRAPA-CPAP, 1997. 63p. (EMBRAPA-  
250 CPAP. Documentos, 22).
- 251 STOCKHAM,S.L.; SCOTT,M. **Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology**, 2. ed.  
252 Iowa: Blackwell Publishing, 2008. 908p.
- 253 TOMLINSON, D. et al. Nutrition and the bovine claw metabolic control of keratin formation.  
254 In: **Proceedings of the 13th International Symposium and 5<sup>th</sup> Conference on Lameness in**  
255 **Ruminants.** Maribor, Slovenia: 11<sup>th</sup> – 15<sup>th</sup> February 2004.
- 256 WARREN, L. K. Potential Immuno-stimulatory nutrients for the equine athlete. **Proceedings**  
257 **of the 4th European Equine Nutrition & Health Congress. Netherlands, 2008.**



258 Tabela 1 – Médias, desvios-padrão e significância estatística (*p*) das comparações entre  
 259 dosagens séricas dos minerais ferro, cobre, zinco e manganês ( $\mu\text{g/dL}$ ) em equinos da raça  
 260 Puro-sangue Lusitano, antes e após a realização de exercícios.

MINERAL	ANTES	DEPOIS	<i>p</i>
Ferro ( $\mu\text{g/dL}$ )	362,91 $\pm$ 134,13	398,32 $\pm$ 85,55	0,2365
Cobre g/dL)	75,69 $\pm$ 23,56	103,41 $\pm$ 23,15	<0,0001
Zinco ( $\mu\text{g/dL}$ )	294,85 $\pm$ 119,52	193,86 $\pm$ 48,19	<0,0002
Manganês ( $\mu\text{g/dL}$ )	9,91 $\pm$ 4,37	4,01 $\pm$ 2,37	< 0,0001

261



262

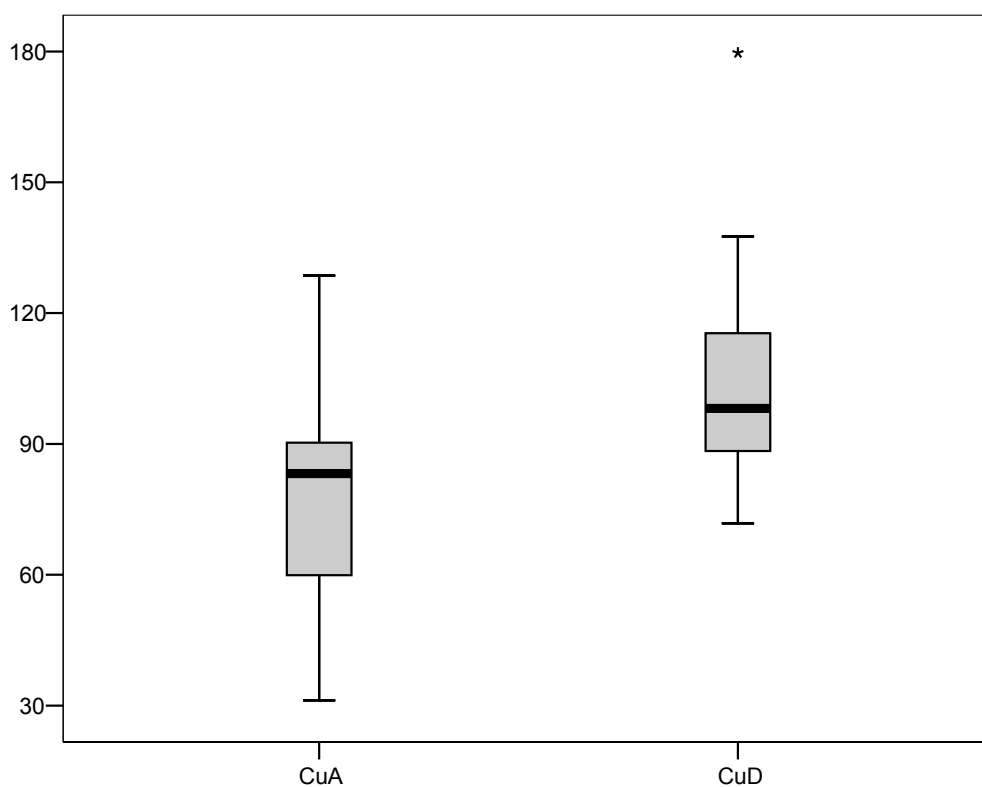
263 Figura 1 – Concentrações séricas de ferro ( $\mu\text{g/dL}$ ) antes (FeA) e depois (FeD) dos exercícios

264 em equinos da raça Puro-sangue Lusitano. As linhas no interior dos boxes denotam 50% dos

265 dados – mediana; as linhas superiores, 75% dos dados; e as inferiores, 25% dos dados. As

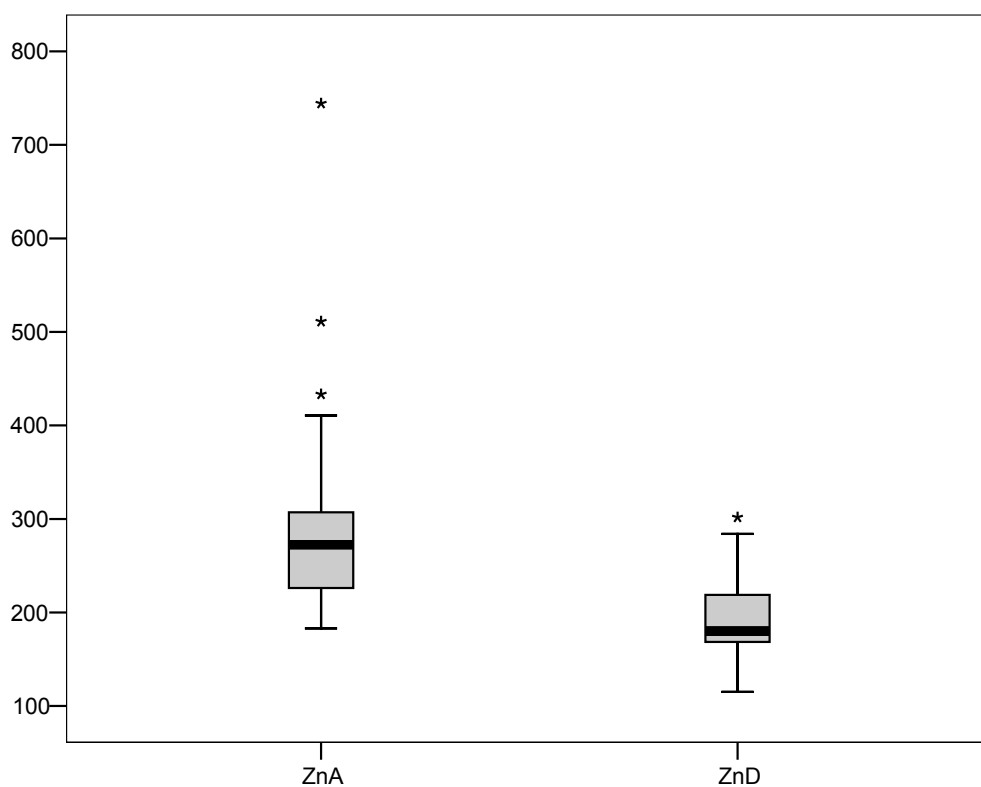
266 linhas externas ao boxe indicam os limites dos valores máximos e mínimos, e os pontos

267 externos a elas indicam os *outliers*.



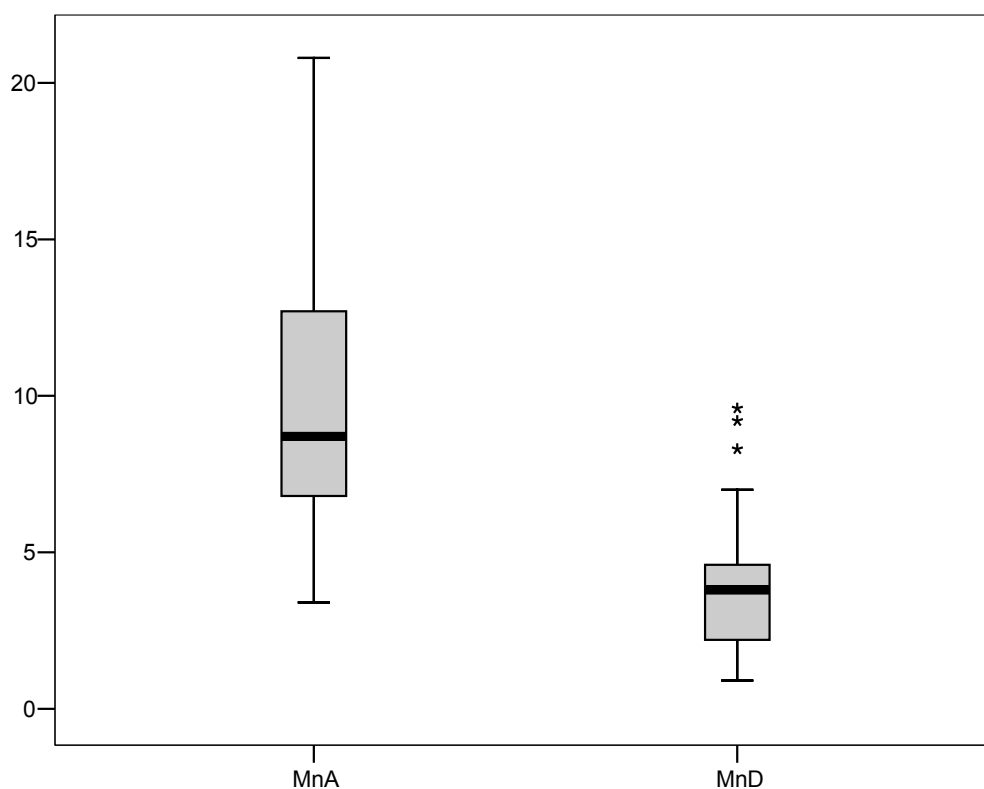
268

269 Figura 2 – Concentrações séricas de cobre ( $\mu\text{g/dL}$ ) antes (CuA) e depois (CuD) dos  
270 exercícios em equinos da raça Puro-sangue Lusitano. As linhas no interior dos boxes denotam  
271 50% dos dados – mediana; as linhas superiores, 75% dos dados; e as inferiores, 25% dos  
272 dados. As linhas externas ao boxe indicam os limites dos valores máximos e mínimos, e os  
273 pontos externos a elas indicam os *outliers*.



274

275 Figura 3 – Concentrações séricas de zinco ( $\mu\text{g/dL}$ ) antes (ZnA) e depois (ZnD) dos exercícios  
276 em equinos da raça Puro-sangue Lusitano. As linhas no interior dos boxes denotam 50% dos  
277 dados – mediana; as linhas superiores, 75% dos dados; e as inferiores, 25% dos dados. As  
278 linhas externas ao boxe indicam os limites dos valores máximos e mínimos, e os pontos  
279 externos a elas indicam os *outliers*.



280

281 Figura 4 – Concentrações séricas de manganês ( $\mu\text{g/dL}$ ) antes (MnA) e depois (MnD) dos  
282 exercícios em equinos da raça Puro-sangue Lusitano. As linhas no interior dos boxes denotam  
283 50% dos dados – mediana; as linhas superiores, 75% dos dados; e as inferiores, 25% dos  
284 dados. As linhas externas ao boxe indicam os limites dos valores máximos e mínimos, e os  
285 pontos externos a elas indicam os *outliers*.