

# **Veterinária e Zootecnia**

**Vet e Zootec.**

**2017 setembro; 24(3 Supl 1): 1-289**

**Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**

**ISSN Impresso 0102-5716**

**ISSN Eletrônico 2178-3764**

**Botucatu - SP - Brasil**

## Veterinária e Zootecnia

**ISSN Impresso 0102-5716**  
**ISSN Eletrônico 2178-3764**

VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
UNESP – Campus de Botucatu  
18618-681 – Dist. Rubião Jr. – Botucatu – SP – Brasil  
Portal: <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>  
E-mail: [vetzootecnia@fmvz.unesp.br](mailto:vetzootecnia@fmvz.unesp.br)  
Tel. +55 14 3880 2094

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Veterinária e Zootecnia / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. – Vol. 1, n. 1(1985)- . – Botucatu, SP : FMVZ, 1985

Trimestral  
Texto em português/inglês/espanhol  
Descrição baseada em: Vol. 24, n.3, set (2017)  
ISSN Impresso 0102-5716  
ISSN Eletrônico 2178-3764

1. Medicina veterinária. 2. Zootecnia. I. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu.

Os artigos publicados na *Revista VETERINÁRIA E ZOOTECNIA* são indexados por:  
Lilacs, PERIÓDICA – Índice de Revistas Latinoamericanas em Ciências,  
Cambridge Scientific Abstracts, CAB Abstracts e GALE- Cengage Learning.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**Administração Geral da UNESP**

**Reitor**

Prof. Dr. Sandro Roberto Valentini

**Vice-Reitor**

Prof. Dr. Sergio Roberto Nobre

**Pró-Reitor de Pesquisa**

Prof. Dr. Carlos Frederico de Oliveira Graeff

**Pró-Reitor de Pós-Graduação**

Prof. Dr. João Lima Sant'Anna Neto

**Pró-Reitor de Graduação**

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Gladis Massini-Cagliari

**Pró-Reitor de Extensão Universitária**

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cleopatra da Silva Planeta

**Pró-Reitor de de Planejamento Estratégico e Gestão**

Prof. Dr. Leonardo Theodoro Büll

**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**Administração da FMVZ**

**Diretor**

Prof. Dr. Celso Antonio Rodrigues

**Vice-Diretor**

Prof. Dr. Cezinande de Meira

**Botucatu**  
**Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**  
**FMVZ**  
**2017**

## **EXPEDIENTE**

### **Comissão Editorial**

Helio Langoni (Editor chefe)  
Márcio Garcia Ribeiro  
André Mendes Jorge

### **Assessoria Técnica**

**Editoração Eletrônica:** José Luis Barbosa de Souza, Wellington Ricardo Guerra

**Normalização Bibliográfica:** Rinaldo José Ortiz

**Revisor - Espanhol:** Selene Daniela Babboni (FMVZ - UNESP/Botucatu)

**Secretaria: Apoio:** Wellington Ricardo Guerra

A Revista **Veterinária e Zootecnia**, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-UNESP, Campus de Botucatu, publica artigos científicos originais, artigos de revisão bibliográfica, relatos de casos e comunicações curtas, referentes às áreas de Medicina Veterinária e de Zootecnia, com periodicidade trimestral, em português, espanhol, ou inglês, sendo os conceitos e opiniões emitidas, de responsabilidade exclusiva dos autores. Poderá editar e disponibilizar em sua página na internet, suplementos de eventos científicos.

A publicação está condicionada à avaliação preliminar do presidente da Comissão Editorial, que analisa o mérito e os aspectos formais do trabalho, de acordo com a categoria do artigo submetido e normas editoriais estabelecidas. Se adequado, adotando-se o mérito da avaliação por pares, é encaminhado para dois assessores (relatores), de acordo com a área. Os pareceres são mantidos sob sigilo absoluto, não havendo possibilidade de identificação entre autores e pareceristas. Os artigos não publicados são devolvidos.

Os trabalhos devem ser encaminhados pela página da internet:  
**<http://www.fmvz.unesp.br/rvz>**.

**Prof. Dr. Helio Langoni**  
**Revista “Veterinária e Zootecnia”**  
**Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu**  
**18618-681 - Dist. Rubião Junior, s/n - SP - Brasil**

**I Simpósio Nacional de Bovinocultura e Bubalinocultura**  
**29/09 a 01/10 de 2017**

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP, Botucatu, SP, Brasil

Caros colegas e amigos,

Por iniciativa de nossos alunos de pós-graduação ofereceremos este simpósio, onde várias áreas do conhecimento confluem no estudo de duas espécies distintas: Bovinos e Búfalos.

Um dos objetivos desse evento é contribuir na formação dos estudantes tanto de graduação como pós-graduação, sendo multidisciplinar de temas cuja investigação proporcionará aos colegas ampliar e aprimorar seu conhecimento, ressaltando mais um desafio na atividade com a integração de produtores e criadores de bovinos e búfalos, com o intuito de suprimir e aprofundar no sentido de despertar o interesse e o aumento da produtividade e reprodução da espécie.

É com imenso prazer que oferecer-lhes neste simpósio. Sem a participação de vocês, seria impossível realizá-lo. O apoio mútuo dos profissionais é essencial para o fortalecimento de qualquer atividade, e, de nossa parte, esforçamo-nos para oferecer-lhes a oportunidade da expansão dos horizontes em nossa área de atuação, nos mais diversos aspectos.

Foram três dias dedicados ao conhecimento, à atualização, a rever antigos amigos e conhecer novos. Sem sombra de dúvida, atingimos nossos objetivos que foi divulgar o manejo, a produção e a reprodução de bovinos e búfalos no Brasil oportunizado por professores, alunos, pesquisadores e produtores através de palestras, debates e vivência profissional.

Foram realmente três dias maravilhosos e perfeitos de troca, partilha e profunda conexão com a essência da energia do bovino e búfalos, isso nos deixa mais e mais entusiasmados e firmes no firme propósito para realização de mais eventos como este em nosso país.

Agradecemos de coração a cada conhecimento que foi compartilhado e a cada pessoa que fez parte de todo esse grande encontro. Agradecemos a colaboração de todos os envolvidos nas palestras e também aos integrantes da equipe organizadora.

Um Grande Abraço a todos,

Professora Titular Eunice Oba

## **COMITÊ ORGANIZADOR**

### **Presidente**

Eunice Oba - Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Unesp, Campus de Botucatu, Brasil.

### **Membros**

Ariane Dantas  
Carla Martins de Queiroz  
Carolina Nogueira de Moraes  
Felipe Rydygier de Ruediger  
Juliana de Oliveira Bernardo  
Patrícia de Faria Lainetti  
Paulo Henrique Yamada  
Viviane Maria Codognoto

### **PROMOÇÃO & APOIO**

PROPG

FAPESP

BANCO DO BRASIL

BANCO SANTANDER

BOTUPHARMA

HHUB

LEVITARE

## COMISSÃO CIENTÍFICA

Prof. Dra. Ariane Dantas  
Doutoranda Carla Martins de Queiroz  
Dra. Carolina Nogueira de Moraes  
Profa. Dra. Cyntia Ludovico Martins  
Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza  
Doutorando Felipe Rydygier de Ruediger  
Doutoranda Juliana de Oliveira Bernardo  
Doutorando Michel de Campos Vettorato  
Mestranda Patrícia de Faria Lainetti  
Doutorando Paulo Henrique Yamada  
Mestranda Viviane Maria Codognoto

## **PROGRAMAÇÃO**

### **Sexta-feira, 29/09/2017**

13h00 - 13h30

Entrega de material e inscrição

13h30 - 14h30

Nível de volumoso e energia em dietas para bovinos terminando em confinamento - Prof. Dr. Flávio Augusto Portela Santos (ESALQ - USP/ Piracicaba).

14h30 - 15h30

Exigência Nutricional, Comportamento Alimentar, Temperamento Animal, Eficiência Alimentar, Parâmetros Metabólicos, Qualidade da Carcaça e da Carne de Bubalinos em Condições Tropicais - Prof. Dr. André Mendes Jorge (UNESP/ Botucatu).

15h30 - 16h00

*Coffee break*

16h00 - 17h00

Andrologia comparada em touros bovinos e bubalinos - Prof. Dr. Marcelo George Mungai Chacur (UNOESTE/ Presidente Prudente).

17h00 - 18h00

Ação, controle e resistência dos helmintos em gado de corte - Prof. Dr. Ricardo Velludo Gomes de Soutello (UNESP/ Dracena).

### **Sábado, 30/09/2017**

08h00 - 09h00

Evolução e Perspectivas dos Programas de IATF no Brasil - Pesquisador Científico Nelcio Antonio Tonizza de Carvalho (APTA/ Registro).

09h00 - 10h00

Diferenças nutricionais entre bubalinos e bovinos - Profa. Dra. Natalia Guarino Souza Barbosa (UFRA/ Belém).

10h00 - 10h30

*Coffee break*

10h30 - 11h30

Novidades no manejo alimentar de bezerras leiteiras - Profa Dra Carla Maris Machado Bittar (ESALQ - USP/ Piracicaba).

11h30 - 13h30

Almoço

13h30 - 14h30

Gestão com as pessoas: o mais novo caminho para o sucesso de seu negócio - Médico Veterinário Sergio Soriano (Fazenda Colorado - Araras/ SP).



14h30 - 15h30

Microminerais para bovinos em pastejo - Prof. Dr. Luis Souza Lima De Souza Reis (UNOESTE/ Presidente Prudente).

15h30 - 16h00

*Coffee break*

16h00 - 17h00

Planejamento do sistema produtivo com ênfase na sanidade animal, aumento da produtividade e da qualidade do alimento produzido - Prof. Dr. Eduardo Bastianetto (UFMG/ Belo Horizonte).

17h00 - 18h00

Mesa Redonda

18h30 - 23h00

Apresentação de Pôster e Confraternização

### **Domingo, 01/10/2017**

9h00 - 10h00

Sistemas de nutrição e alimentação de búfalas leiteiras - Profa Dra Lúcia Maria Zeoula (UEM/ Paraná).

10h00 - 11h00

Confinamento: Estrutura, manejo e melhor ganho na propriedade rural - Médico Veterinário Fernando Flores.

11h00 - 12h00

*Coffee break* e Premiação

## SUMÁRIO

PALESTRANTES CONVIDADOS.....	13
RESUMOS	
<b>AVALIAÇÃO DA IDADE À MATURIDADE SEXUAL DE BOVINOS DA RAÇA BRAHMAN, NELORE E GUZERÁ.</b> Isabela de Paula Silva, João Vitor Fernandes, Larissa Graciano Braga, Arthur dos Santos Mascioli, Adriana Santana do Carmo .....	43
<b>COMPARAÇÃO DO CONSUMO DE BOVINOS INDUZIDOS EXPERIMENTALMENTE À ACIDOSE RUMINAL POR ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS COM DIETA CONTENDO ADITIVOS.</b> Natalia Sato Minami, Rejane dos Santos Sousa, Francisco Leonardo Costa de Oliveira, Mailson Rennan Borges Dias, Débora Aparecida Cassiano, Juliana Aparecida Bombardelli, Enrico Lippi Ortolani.....	44
<b>CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIS EM OVÁRIOS DE BÚFALAS MURRAH PROVENIENTES DE ABATEDOURO.</b> Nayara Fernanda Silva Marques, Ana Carolina Pedrosa, Alana Belucci Manfrin, Monike Faria Flores, Kenya Costa Peres, Camila Bizarro da Silva, Suellen Miguez González, Halim Atique Netto .....	45
<b>CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIS EM OVÁRIOS DE NOVILHAS NELORE, F1 ANGUS E MISTIÇAS PROVENIENTES DE ABATEDOURO.</b> Ana Luisa Callegari Silva, Patricia Baltagim Zacheo, Eduardo dos Santos Rossi, Camila Bizarro da Silva, Suellen Miguez González, Halim Atique Netto .....	46
<b>CORRELAÇÃO ENTRE O NÚMERO DE FOLÍCULOS ANTRAIS DE OVÁRIOS DE ABATEDOURO COM A PRODUÇÃO <i>IN VITRO</i> DE EMBRIÕES DE NOVILHAS F1 ANGUS E NELORE.</b> Eduardo dos Santos Rossi, Ana Luisa Callegari Silva, Patricia Baltagim Zacheo, Camila Bizarro da Silva, Suellen Miguez González, Halim Atique Netto .....	47
<b>DOSAGEM SÉRICA DE TESTOSTERONA E CORTISOL DE CARNEIROS DAS RAÇAS SANTA INÊS E TEXEL DURANTE 48 HORAS.</b> Josiane Adelaide Camargo Lourenção, Nathália Genú Nakazato, Gabriela Amorim Campos, Victor Filgueiras Cruz Garcia, Ariane Dantas, Rogério Antônio de Oliveira, Nereu Carlos Prestes, Eunice Oba .....	48
<b>INFLUÊNCIA DA LACTAÇÃO EM PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS EM BÚFALOS DA RAÇA MURRAH.</b> Roberto Rodrigues da Rosa Filho, Nelcio Antonio Tonizza de Carvalho, Jose Ilson Silva Menezes Junior, Flavio César Viani, Paula Nunes Rosato .....	49
<b>LAMINITE AGUDA DECORRENTE DE ACIDOSE RUMINAL POR OLIGOFRUTOSE EM BOVINOS NELORE.</b> Rejane dos Santos Sousa, Francisco Leonardo Costa de Oliveira, Mailson Rennan Borges Dias, Natalia Sato Minami, Leonardo do Amaral, Juliana Aparecida Alves dos Santos, Paulo Giovane Limberger Pacheco, Enrico Lippi Ortolani .....	50
<b>PESQUISA DE AGLUTININAS ANTI-LEPTOSPÍRICAS EM BUBALINOS NO MUNICÍPIO DE BOFETE-SP.</b> Leonardo Sauer, Karine Bott Mantovan, Mariana Aimee Ramos Xavier da Silva, Mariana Zanchetta e Gava, Dália Monique Ribeiro Machado, Paula Ferraz de Camargo Zanotto, Leandro Temer Jamas, Hélio Langoni.....	51
<b>PREVALÊNCIA DE ALTERAÇÕES NAS AMPOLAS E PRÓSTATA DE TOUROS DE RODEIO ATRAVÉS DE EXAME ULTRASSONOGRÁFICO.</b> Daniele Camargos Arantes, Thayná Cristine Motta Arruda, Valter Rocha Polini, Silvio Luiz Nascimento Meneghetti, Camila Bizarro da Silva, Suellen Miguez González, Halim Atique Netto .....	52
<b>PREVALÊNCIA DE ALTERAÇÕES NAS VESÍCULAS SEMINAIS EM TOUROS DE RODEIO ATRAVÉS DE EXAME ULTRASSONOGRÁFICO.</b> Thayná Cristine Motta Arruda, Daniele Camargos Arantes, Valter Rocha Polini, Silvio Luiz Nascimento Meneghetti, Camila Bizarro da Silva, Suellen Miguez González, Halim Atique Netto .....	53

<b>RELAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE ESTRUTURAS OVARIANAS COM A PRESENÇA DE PROCESSOS INFECCIOSOS UTERINOS EM FÊMEAS BOVINAS REPETIDORAS DE CIO.</b> Ana Beatriz Marques de Almeida, Mateus Anastacio da Silva, Denis Vinicius Bonato, Camila Bizarro da Silva, Werner Okano .....	54
<b>REPETIBILIDADE DA CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIS EM NOVILHAS F1 SANTA GERTRUDIS.</b> Patricia Baltagim Zacheo, Ana Luisa Callegari Silva, Eduardo dos Santos Rossi, Edmar Eduardo Bassan Mendes, Fernando Zanovello, Camila Bizarro da Silva, Suellen Míguez González, Halim Atique Netto .....	55
<b>REPETIBILIDADE DA CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIS EM VACAS MESTIÇAS.</b> Lais Botós Brambati, Caroline Felipe de Oliveira, Karina de Souza Mendes, Flávio Antonio Barca Junior, Camila Bizarro da Silva, Suellen Míguez González, Halim Atique Netto .....	56
<b>USO DA MONENSINA E VIRGINAMICINA NA PREVENÇÃO E CONTROLE DA ACIDOSE LÁCTICA RUMINAL EM BOVINOS DE CORTE.</b> Francisco Leonardo Costa de Oliveira, Rejane dos Santos Sousa, Carolina Akiko Sato Cabral de Araújo, Juliana Aparecida Alves dos Santos, Natalia Sato Minami, Mailson Rennan Borges Dias, Luis Felipe Prada e Silva, Enrico Lippi Ortolani .....	57
<b>ARTIGOS DE REVISÃO DE LITERATURA</b>	
<b>ASPECTOS DA INFLUÊNCIA DE FATORES CLIMÁTICOS NO ESPERMOGRAMA, PROTEÍNA DO PLASMA SEMINAL, TERMORREGULAÇÃO TESTICULAR, HORMÔNIO E BIOQUÍMICA DO SÊMEN E SANGUE EM TOUROS BOVINOS.</b> Ellyn Amanda Fonseca Martins, Camila Dutra Souza, Maurilio Frattini Palacio, Gabriela Figueredo Cornacini, Talita Cavichioli Sebastião, Luciana M. Guaberto, Eunice Oba, Marcelo George Mungai Chacur .....	59
<b>ASPECTOS DA REPRODUÇÃO EM TOUROS BOVINOS COM USO DE CONGELAÇÃO DE SÊMEN E TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA.</b> Nildo Redivo Junior, Milton Mendes Cattini, Camila Dutra de Souza, Evellyn Amanda Fonseca Martins, Daniel de Oliveira Creste, Gabriela Gasparin, Gabriela Figueredo Cornacini, Murilo Magro Ferreira, Pamela Mara Celestino Soares, Ruyter França Carvalho, Marcelo George Mungai Chacur .....	75
<b>ASPECTOS DA TÉCNICA DE ELETROFORESE DO PLASMA SEMINAL EM BOVINOS.</b> Camila Dutra de Souza, Talita Raquel Cavichioli Sebastião, Gabriela Figueredo Cornacini, Fernanda Luíza Guinossi Barbosa Deak, Marcelo George Mungai Chacur .....	82
<b>AVALIAÇÃO DO MANEJO PRÉ-ABATE NA OCORRÊNCIA DE CONTUSÕES EM CARCAÇAS BOVINAS.</b> Marina Testa de Moura Carvalho, Luiz Gustavo Bicas Barbosa, Ana Paula Araújo Moreira, Leticia Sorregot de Souza, Ariane Dantas, Elaine Regina Vasconcelos de Oliveira, Carolina Toledo Santos, Roberto de Oliveira Roça.....	95
<b>BASE CONCEITUAL PARA AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E DO BEM-ESTAR DE BÚFALAS LEITEIRAS.</b> Jéssica Leite Fogaça, Ariane Dantas, Michel de Campos Vettorato, Marco Antônio Rodrigues Fernandes, Gizele Cristina Ferreira, Vânia Maria Vasconcelos Machado.....	105
<b>BUBALINE BREEDING AND STEM CELLS BIOTECHNOLOGY: A BRIEF REVIEW.</b> Elaine Cristina Galhardo, Ariane Dantas, Viviane Maria Codognoto, Leandro Maia, Fernanda da Cruz Landim.....	118
<b>CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS DE TECIDO ADIPOSEO BOVINO: UMA OPÇÃO DE TRATAMENTO PARA ENDOMETRITE?</b> Carla Martins de Queiroz, Carolina Nogueira de Moraes Maia, João Carlos Pinheiro Ferreira .....	127
<b>INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM BÚFALOS.</b> Felipe Rydygier de Ruediger, Gabriela Azenha Milani Soriano, Eunice Oba .....	138

<b>INSENSIBILIZAÇÃO NO ABATE DE BOVINOS DE CORTE.</b> Ana Paula Araújo Moreira, Elaine Regina Vasconcelos de Oliveira, Luiz Gustavo Bicas Barbosa, Marina Testa de Moura Carvalho, Leticia Sorregot de Souza, Carolina Toledo dos Santos, Roberto de Oliveira Roça .....	150
<b>MATURAÇÃO OOCITÁRIA EM BOVINOS: EFEITO DOS ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS.</b> Jennifer Cardoso Couto, Gabriela Azenha Milani Soriano, Claudia Maria Bertan Membrive, Ines Cristina Giometti, Caliê Castilho .....	161
<b>PREDIÇÕES DO CONSUMO DE MATÉRIA SECA EM BOVINOS DE CORTE.</b> Aline Maria Soares Ferreira, Simone Pedro da Silva, Carina Ubirajara de Faria.....	173
<b>SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E OVULAÇÃO COM PROGESTERONA EM OVELHAS.</b> Gabriela Azenha Milani Soriano, Felipe Rydygier de Ruediger, Caliê Castilho.....	189
<b>SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES E OS EFEITOS NA PRODUÇÃO DE BOVINOS DE CORTE.</b> Letícia Marques da Fonseca, Aline Maria Soares Ferreira, Dulio Henrique Abrão Gomide, Simone Pedro da Silva .....	200
<b>USO DE TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA NA AVALIAÇÃO REPRODUTIVA DE TOUROS E EFEITOS DE FATORES CLIMÁTICOS NA QUALIDADE DE SÊMEN.</b> Talita Raquel Cavichioli Sebastião, Camila Dutra de Souza, Gabriela Figueredo Cornacini, Fernanda Luíza Guinossi Barbosa Deak, Eunice Oba, Marcelo George Mungai Chacur .....	220
<b>USO DE TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA PARA MENSURAR TEMPERATURAS DE ÁREAS DO CORPO EM VACAS DE LEITE.</b> Fernanda Luiza Guinossi Barbosa Deak, Camila Dutra de Souza, Isamara Batata Andrade, Gabriela Figueiredo Cornacini, Caio Oliveira Siqueira, Murilo Redivo, Luís Roberto Almeida Gabriel Filho, Marcelo George Mungai Chacur.....	231
<b>RELATOS DE CASO</b>	
<b>ANOMALIAS CONGÊNITAS DE BEZERROS ORIUNDOS DE EMBRIÕES PRODUZIDOS IN VITRO: RELATO DE CASO.</b> Eduardo Fernandes Castelo Branco, Gabriel Molinari de Mattos, Adriano Felipe Mendes, Caliê Castilho .....	239
<b>ARTIGOS ORIGINAIS</b>	
<b>AVALIAÇÃO POR MEIO DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DAS PRINCIPAIS ESTRUTURAS DO ESCROTO DE BÚFALOS EM DESENVOLVIMENTO.</b> Ariane Dantas, Viviane Maria Codognoto, Luiz Gustavo Bicas Barbosa, Camila de Andrade Sarkis, Maria Márcia Pereira Sartori, Fernanda Gabriela de Oliveira, Michel de Campos Vettorato, Eunice Oba, Vânia Maria de Vasconcelos Machado.....	246
<b>EFEITO DO CLOPROSTENOL SÓDICO NA INVOLUÇÃO UTERINA, PROGESTERONA E CONCENTRAÇÃO DE 13,14-DIHYDRO-15-KETO PROSTAGLANDINA F2ADE VACAS MULTÍPARAS BOS TAURUS INDICUS.</b> Carolina Nogueira de Moraes, Leandro Maia, Carla Martins de Queiroz, Flavia Caroline Destro, Mateus José Sudano, Fabiana Ferreira de Souza, João Carlos Pinheiro Ferreira, Eunice Oba .....	256
<b>EFFECT OF AD LIBITUM SUPPLEMENTATION SELENIUM AND SELENIUM SERUM IN NELLORE CATTLE.</b> Luis Souza Lima De Souza Reis, Simone Biagio Chiacchio, Eunice Oba .....	273
<b>PRODUTIVIDADE E QUALIDADE DE SORGO PASTEJO CONSORCIADO COM DIFERENTES CULTIVARES DE <i>PANICUM MAXIMUM</i> E <i>UROCHLOA</i>.</b> Amarildo Francisquini Junior, Tiago Aranda Catuchi, Júlio Cesar Dominato, Alexandre Paio Leite da Silva, Douglas Celestino Junior, Caroline Honorato Rocha.....	281

## **FLÁVIO AUGUSTO PORTELA SANTOS**

### Formação acadêmica/titulação

Graduado em Engenharia Agrônoma pela Universidade de São Paulo (1984), mestrado em Nutrição Animal e Pastagens pela Universidade de São Paulo (1991) e doutorado em Animal Science pela University of Arizona (1996). Atualmente é professor titular da Universidade de São Paulo.

### Resumo da Palestra

#### **Nível de volumoso e energia em dietas para bovinos terminando em confinamento**

Fontes de volumosos são incluídas em dietas de bovinos em confinamento por duas razões principais, a) para a manutenção de ambiente ruminal saudável e b) para estimular a ingestão de matéria seca e por consequência, a ingestão de energia (Owens et al, 1998; Zinn et al., 2004; Galyean e Vasconcelos, 2008; Galyean e Huber, 2012).

Acidose é o principal distúrbio nutricional em bovinos confinados com dietas com alto teor de concentrado e a maior preocupação dos nutricionistas. A inclusão de nível adequado de fibra na dieta é a forma mais efetiva para minimizar os riscos de ocorrência de acidose. Por outro lado, pequenas alterações no teor de volumoso de dietas com alto teor de energia, permitem manipular o consumo de matéria seca e consequentemente o consumo de energia do animal. De modo geral, dentro da faixa de inclusão entre 0 a 30% de volumoso na dieta, observa-se aumento linear ou quadrático do consumo de MS, dependendo da fonte de volumoso, com aumento quadrático no consumo de energia e redução linear na eficiência alimentar dos animais. Esses pontos serão discutidos durante a apresentação do trabalho.

### Publicações recentes

DE SOUZA, JONAS; BATISTEL, FERNANDA; **SANTOS, FLÁVIO AUGUSTO PORTELA**. Effect of sources of calcium salts of fatty acids on production, nutrient digestibility, energy balance, and carryover effects of early lactation grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 100, p. 1072-1085, 2017.

BATISTEL, FERNANDA; DE SOUZA, JONAS; **SANTOS, FLÁVIO AUGUSTO PORTELA**. Corn grain-processing method interacts with calcium salts of palm fatty acids supplementation on milk production and energy balance of early-lactation cows grazing tropical pasture. *Journal of Dairy Science*, v. 100, p. 1-15, 2017.

MARQUES, R. S.; CHAGAS, L. J.; OWENS, F. N.; **SANTOS, F. A. P.** Effects of various roughage levels with whole flint corn grain on performance of finishing cattle. *Journal of Animal Science*, v. 94, p. 339, 2016.

GOUVÊA, V. N.; BATISTEL, F.; SOUZA, J.; CHAGAS, L. J.; SITTA, C.; CAMPANILI, P. R. B.; GALVANI, D. B.; PIRES, A. V.; OWENS, F. N.; **SANTOS, F. A. P.** Flint corn grain processing and citrus pulp level in finishing diets for feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, v. 94, p. 665, 2016.

MACEDO, FERNANDA LOPES; DE SOUZA, JONAS; BATISTEL, FERNANDA; CHAGAS, LUCAS JADO; **SANTOS, FLÁVIO AUGUSTO PORTELA**. Supplementation with Ca salts of soybean oil interacts with concentrate level in grazing dairy cows: milk production and milk composition. *Tropical Animal Health and Production*, v. 48, p. 016-1132-4, 2016.

MACEDO, FERNANDA LOPES; BATISTEL, FERNANDA; DE SOUZA, JONAS; CHAGAS, LUCAS JADO; **SANTOS, FLÁVIO AUGUSTO PORTELA**. Supplementation with Ca salts of soybean oil interacts with concentrate level in grazing dairy cows: intake, ingestive behavior, and ruminal parameters. *Tropical Animal Health and Production*, v. 48, p. 016-1132-4, 2016.

IMAIZUMI, HUGO; BATISTEL, FERNANDA; DE SOUZA, JONAS; **SANTOS, FLÁVIO AUGUSTO PORTELA**. Replacing soybean meal for wet brewer's grains or urea on the performance of lactating dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*, v. 47, p. 877-882, 2015.

IMAIZUMI, HUG; DE SOUZA, JONAS; BATISTEL, FERNANDA; **SANTOS, FLÁVIO AUGUSTO PORTELA**. Replacing soybean meal for cottonseed meal on performance of lactating dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*, v. -, p. -, 2015.

DE SOUZA, JONAS; BATISTEL, FERNANDA; WELTER, KATIELI CAROLINE; SILVA, MATEUS MENDES; COSTA, DIOGO FLEURY; **PORTELA SANTOS, FLÁVIO AUGUSTO**. Evaluation of external markers to estimate fecal excretion, intake, and digestibility in dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*, v. 47, p. 265-268, 2015.

CARMO, CAROLINA ALMEIDA; BATISTEL, FERNANDA; DE SOUZA, JONAS; MARTINEZ, JUNIO CESAR; CORREA, PAULO; PEDROSO, Alexandre Mendonça; **SANTOS, FLÁVIO AUGUSTO PORTELA**. Starch levels on performance, milk composition and energy balance of lactating dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*, v. 47, p. 179-184, 2015.

## **ANDRÉ MENDES JORGE**

### Formação acadêmica/titulação

Graduado em Zootecnia pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (1985), Mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (1993) e Doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (1997). Estágio Pós-Doutoral no Exterior em Ultrassonografia (UTAD- Portugal 2011) e Análise de Imagens (Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine- Japão 2012). Atualmente é Professor Adjunto III (Livre Docente) do Depto. Produção Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho UNESP, campus de Botucatu-SP-Brasil.

### Resumo da Palestra

#### **Projeto Temático FAPESP: “Exigência Nutricional, Comportamento Alimentar, Temperamento Animal, Eficiência Alimentar, Parâmetros Metabólicos, Qualidade da Carcaça e da Carne de Bubalinos em Condições Tropicais”**

Há um interesse cada vez maior na utilização do consumo alimentar residual (CAR) como uma medida de eficiência alimentar em bovinos e ovinos em crescimento. Entretanto, as bases biológicas da variação do CAR em bubalinos são desconhecidas. Objetiva-se com esse estudo inédito avaliar em bubalinos a exigência alimentar, a eficiência alimentar e suas correlações fenotípicas com parâmetros metabólicos, digestão do alimento, comportamento e características de carcaça e da carne. O delineamento experimental será inteiramente casualizado. Ao total serão 4 Experimentos desenvolvidos em 4 anos (um a cada ano), sendo o último ano (5º ano) utilizado para a análise de amostras, análise estatística e publicações dos dados. No Experimento I (Ano 1; duração: 231 dias; composto de 3 etapas) serão utilizados 75 bubalinos (25 animais de cada raça: Jafarabadi, Mediterrânea e Murrah) machos não-castrados nascidos e desmamados em 2015, com peso e idade média de 180 kg e 210 dias, respectivamente. As etapas correspondem em: 1 - Determinar o consumo e comportamento alimentar individual (Sistema Intergado®); 2 - Ensaio de digestibilidade; 3 - Determinar a exigência nutricional de cada raça. Serão realizadas avaliações de ultrassonografia, bem como, avaliações biométricas, de escore corporal e de temperamento animal. As pesagens serão realizadas diariamente por meio de balanças automáticas acopladas a sensores (Sistema Intergado®). Amostras de sangue serão coletadas para avaliação de parâmetros metabólicos, comportamentais e para avaliação de marcadores que caracterizam desempenho. Serão realizadas mensurações da EGS e AOL; coletadas amostras da secção HH e da carne (LD) para a avaliação dos parâmetros de qualidade. No Experimento II (Ano 2; duração: 231 dias; composto por 3 etapas) 2 etapas serão semelhantes ao ano anterior (Experimento I), porém, na terceira etapa os animais serão classificados de acordo com o CAR determinado na primeira etapa. Serão utilizados 120 animais (40 de cada raça) machos não castrados. Serão realizadas as mesmas coletas de dados do experimento I a fim de aumentar a confiabilidade dos resultados. Com o Experimento III (Ano 3; duração: até atingirem o peso de abate determinado nos experimentos I e II). Objetiva-se a validação dos resultados dos experimentos I e II por meio de 3 diferentes sistemas de produção: 1 – Pasto + Confinamento; 2 - Pasto com suplementação; 3 - Confinamento. As dietas serão formuladas utilizando-se os resultados de exigência nutricional obtidos nos dois

primeiros experimentos (ano 1 e 2). Serão utilizados 108 animais (36 de cada raça; 12 animais de cada raça/sistema de produção). Serão realizadas avaliações de ultrassonografia, avaliações biométricas, de escore corporal e temperamento animal. As pesagens serão realizadas a cada 28 dias (animais no pasto) ou diariamente por meio de balanças acopladas a sensores (animais confinados). Amostras de sangue serão coletadas para avaliação de parâmetros metabólicos, comportamentais e para avaliação de marcadores que caracterizam desempenho. Serão realizadas mensurações e coletas de amostras para avaliações da qualidade da carne similares aos experimentos I e II. O Experimento IV (Ano 4; duração: até atingirem o peso de abate determinado nos experimentos I e II) será semelhante ao ano anterior (Experimento III), bem como, terão as mesmas coletas de dados a fim de aumentar a confiabilidade dos resultados. Os dados serão analisados com os procedimentos REG, MIXED e CORR do SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), submetidos à análise de variância e à comparação de médias pelo teste de Student de Newman Keuls ao nível de 5% de probabilidade.

#### Publicações recentes

GUERRERO, A.; RIVAROLI, D. C.; SAÑUDO, C.; CAMPO, M. M.; VALERO, M. V.; **JORGE, A. M.**; PRADO, I. N. Consumer acceptability of beef from two sexes supplemented with essential oil mix. *Animal Production Science*, v. 1, p. 1-8, 2017. <http://dx.doi.org/10.1071/AN15306> .

RIVAROLI, D. C.; PRADO, R. M.; ORNAGHI, M. G.; MOTTIN, C.; RAMOS, T. R.; GUERRERO, A. B.; **ANDRÉ MENDES JORGE**; PRADO, I. N. Essential Oils in the Diet of Crossbred (1/2 Angus vs. 1/2 Nellore) Bulls Finished in Feedlot on Animal Performance, Feed Efficiency and Carcass Characteristics. *Journal of Agricultural Science*, v. 9, n.10, p. 1-8, 2017.

RIVAROLI, DAYANE CRISTINA; GUERRERO, ANA; VELANDIA VALERO, MARIBEL; ZAWADZKI, FERNANDO; EIRAS, CARLOS EMANUEL; CAMPO, MARIA DEL MAR; SAÑUDO, CARLOS; **MENDES JORGE, ANDRÉ**; NUNES DO PRADO, IVANOR. Effect of essential oils on meat and fat qualities of crossbred young bulls finished in feedlots. *Meat Science*, v. 121, p. 278-284, 2016.

LIMA, V. L. F.; DUCATTI, CARLOS; MEIRELLES, PAULO ROBERTO LIMA; SERAPHIM, L. C.; FACTORI, M. A.; **ANDRÉ MENDES JORGE**; VILLAS BOAS, R. L.; SILVA, M. G. B. Isotopic of nitrogen and chemical analysis of deferred grazing marandu palisadegrass fertilized with urea and poultry litter. *Semina. Ciências Agrárias (Online)*, v. 37, p. 2609-2622, 2016.

**ANDRÉ MENDES JORGE**; LUZ, P. A. C.; ANDRIGHETTO, CRISTIANA; FRANCISCO, CAROLINE DE LIMA; ARANHA, H. S.; CASTILHOS, A. M.; SILVA, F. M.; SILVA, D. C. M. Impact of aging time on the quality meat from buffalo heifer. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, v. 11, p. 20-20, 2016.

**ANDRÉ MENDES JORGE**; LUZ, P. A. C.; ANDRIGHETTO, CRISTIANA; FRANCISCO, CAROLINE DE LIMA; ARANHA, H. S.; CORREA, H. L.; ARANHA, A. S. Sensory and Microbiological Characteristics of Buffalo Heifer Meat Subjected to Different Aging Times. *Ces Medicina Veterinaria y Zootecnia*, V. 11, P. 26-26, 2016.



SILVA, D. C. M.; **ANDRÉ MENDES JORGE**; MEIRELLES, PAULO ROBERTO LIMA; SILVA, F. M.; CORREA, H. L.; ARANHA, A. S.; LUZ, P. A. C.; CASTILHOS, A. M.; FRANCISCO, CAROLINE DE LIMA. Supplementation of growing buffaloes grazing xaréu-pasture (*Urochloa brizantha* Syn. *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés) during rainy season. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, v. 11, p. 27-27, 2016.

DANTAS, A.; OBA, EUNICE; VETTORATO, M. C.; MACHADO, V. M. V.; OLIVEIRA, R. A.; **ANDRÉ MENDES JORGE**; CHARLIER, M. G. S. Grayscale histogram use for mammary development assessment of crossbred Murrah heifers. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, v. 11, p. 34-34, 2016.

DANTAS, A.; OBA, EUNICE; SARTORI, M. M. P.; **ANDRÉ MENDES JORGE**; MEIRELLES, PAULO ROBERTO LIMA; SOUZA, M. I. L. Influence of external morphological characteristics of lactating buffaloes udder on the performance of calves in the first postpartum. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, v. 11, p. 38-38, 2016.

DANTAS, A.; OBA, EUNICE; SARTORI, M. M. P.; **ANDRÉ MENDES JORGE**; MEIRELLES, PAULO ROBERTO LIMA; ZORZETTO, M. F. Influence of body status of primipara buffaloes on offspring weight at birth. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, v. 11, p. 39-39, 2016.

DANTAS, A.; OBA, EUNICE; MACHADO, V. M. V.; OLIVEIRA, R. A.; **ANDRÉ MENDES JORGE**; CHARLIER, M. G. S.; ZORZETTO, M. F. Hemodynamic evaluation of mammary development and its relationship with body performance crossbred Murrah buffaloes during pregnancy. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, v. 11, p. 40-40, 2016.

CHACUR, M. G. M.; OBA, EUNICE; DANTAS, A.; RUEDIGER, F. R.; OLIVEIRA, R. A.; VOLPATO, M. S. A.; **ANDRÉ MENDES JORGE**. Termographic evaluation of breast development crossbred Murrah buffaloes during late pregnancy. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, v. 11, p. 61-61, 2016.

BOSCO, D. M. S.; ANDRIGHETTO, C.; LUZ, P. A. C.; POIATTI, M. L.; **JORGE, A. M.**; FRANCISCO, C. L.; ARANHA, H. S.; TRIVELIN, G. A.; VAZ, R. F.; SANTOS, J. M. F. Qualidade da carne bovina maturada e tenderizada comercializada na região de Dracena, Sp. *Boletim de Indústria Animal (Online)*, v. 73, p. 304-309, 2016.

PINHEIRO, R. S. B.; **JORGE, A. M.**; LAMA, G. C. M. L.; SOUZA, HIRASILVA BORBA ALVES DE. Manejo pré-abate de ovelhas de descarte: perdas de peso corporal, qualidade da carne e comportamento animal. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 67, p. 227-234, 2015.

MOREIRA, PAULO SERGIO ANDRADE; LOURENCO, F. J.; POLIZEL NETO, A; MARTINS, L. R.; **ANDRÉ MENDES JORGE**; MACHADO NETO, O. R. Productive performance and carcass traits of Nellore x Aberdeen Angus and Nellore x Red Angus heifers under tropical conditions. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, v. 28, p. 247-254, 2015.

RIBEIRO, F. G.; **JORGE, ANDRÉ MENDES**; FRANCISCO, CAROLINE DE LIMA; CASTILHOS, A. M.; PARIZ, C. M.; SILVA, MAURÍCIA BRANDÃO DA. Simbióticos e monensina sódica no desempenho e na qualidade da carne de novilhas mestiças Angus confinadas. Pesquisa Agropecuária Brasileira (Online), v. 50, p. 958-966, 2015.

COUTINHO, C. C.; MERCADANTE, M. E. Z.; **JORGE, ANDRÉ MENDES**; PAZ, C. C. P.; FARO, L. E.; MONTEIRO, F. M. Growth curves of carcass traits obtained by ultrasonography in three lines of Nellore cattle selected for body weight. Genetics and Molecular Research, v. 14, p. 14076-14087, 2015.

TAVARES, S. A.; SURGE, C. A.; **ANDRÉ MENDES JORGE**; GARCIA, CLEDSON AUGUSTO; ROÇA, ROBERTO DE OLIVEIRA; OLIVEIRA, F.; PADOVANI, C. A. Parâmetros Qualitativos de Carne de Cordeiros Terminados em Confinamento Alimentados com Três Diferentes Dietas. Revista de Ciências Agro-Ambientais (Online), v. 13, p. 61-67, 2015.

FRANCISCO, C. L.; RESENDE, F. D.; BENATTI, J. M. B.; CASTILHOS, A. M.; COOKE, R. F.; **JORGE, A. M.** Impacts of temperament on Nellore cattle: physiological responses, feedlot performance, and carcass characteristics. Journal of Animal Science, v. 93, p. 5419-5429, 2015.

## **MARCELO GEORGE MUNGAI CHACUR**

### Formação acadêmica/titulação

Graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP - FCAV (1992), Residência em Reprodução Animal e Obstetrícia - UNESP - FMVZ (1994). Mestrado em Medicina Veterinária UNESP - FMVZ (1996), Doutorado em Medicina Veterinária UNESP - FMVZ/Universidade de Nápolis (1999) e Pós-Doutorado pela FMVZ - UNESP (2002). Desde 1997 até a presente data, é Professor / Pesquisador da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE, nos Cursos de Graduação e "lato-sensu" em Medicina Veterinária; e desde 2006, é Professor Titular do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (Mestrado e Doutorado).

### Resumo da Palestra

#### **Andrologia comparada em touros bovinos e bubalinos**

O rebanho brasileiro possui aproximadamente 214 milhões de cabeças de bovinos e 1,2 milhão de cabeças de bubalinos. A reprodução dessas duas espécies animais, no Brasil, é realizada com predomínio da monta natural, devendo os machos apresentar aptidão reprodutiva, cuja presença é investigada e certificada pelo Médico Veterinário no exame andrológico e exames complementares. A palestra aborda alguns aspectos para auxiliar na escolha de machos bovinos e bubalinos para a reprodução. A atividade de reprodução se inicia na puberdade que nos bovinos ocorre entre 12 a 16 meses de idade e em bubalinos na faixa de 30 a 42 meses, marcada pela rápida elevação da testosterona e início da produção de espermatozoides. Na puberdade, ocorre acentuado ganho de peso corpóreo e aumento acelerado da circunferência escrotal (CE) e do volume testicular (VT) com correlações significativas, CE x VT (0,61 a 0,86) em Nelores e de 0,91 na raça Brahman. O peso corpóreo influencia na CE com correlação de 0,83 em Brahman na puberdade. No Brasil, o estresse térmico é a principal causa de queda na fertilidade de machos, e a boa qualidade do sêmen depende da termorregulação testicular que pode ser avaliada com termografia infravermelha; onde em Nelores a temperatura média da superfície do escroto de 34,7°C e em búfalos de 33,5°C estavam presentes em machos com boa qualidade do sêmen. A sanidade dos machos também deve ser analisada com exames específicos, dentre as doenças infecciosas merece destaque a brucelose que afeta diretamente a fertilidade do rebanho. No espermograma são analisadas as características quantitativas e qualitativas do sêmen; e exames complementares realizados no sêmen fresco ou congelado para obter mais informações de aspectos morfológicos e metabólicos dos espermatozoides como: integridade de membranas com teste hiposmótico e uso de sondas fluorescentes, cinética espermática com CASA e para avaliar funções espermáticas com citometria de fluxo. A composição de proteínas do plasma seminal também influencia na fertilidade do macho, sendo obtida com uso de eletroforese. Recomenda-se realizar exame andrológico antes do início da atividade reprodutiva, verificar a ausência de doenças infecciosas, mitigar o estresse térmico com sombreamento natural ou artificial, escolher machos com precocidade sexual.

### Publicações recentes

**CHACUR, M. G. M.**; SOUZA, M.G.R.; SOUZA, C. D.; CREMASCO, C.P. Influence of the Addition of Vitamin E in Extenders in the Quality of Fresh Semen Diluted, Refrigerated and Frozen Semen in Dogs of French Bulldog Breed. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 45, p. 142, 2017.

**CHACUR, M. G. M.**; SOUZA, M.G.R.; SOUZA, C. D.; CREMASCO, C.P. Effect of oral administration of selenium and vitamin E on the quality of fresh, refrigerated and frozen semen in French Bulldog breed dogs. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 45, p. 1442-1448, 2017.

**CHACUR, M. G. M.** Infrared thermography in buffalo reproduction. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 41, p. 180-187, 2017.

**CHACUR, M. G. M.**; ARIKAWA, A.; OBA, E.; SOUZA, C. D.; GABRIEL FILHO, L. R. A. Body and testicular development and serum testosterone concentrations in male Brahman. *Semina Agrárias*, v. 38, p. 2561-2580, 2017.

NARDI JÚNIOR, G.; MEGID, J.; MATHIAS, L.A.; PAULIN, L.; VICENTE, A.F.; CORTEZ, A.; LISTONI, F.J.P.; LARA, G.H.B.; MOTTA, R.G.; **CHACUR, M.G.M.**; MONTEIRO, F.M.; RIBEIRO, M.G. Performance of microbiological, serological, molecular, and modified seminal plasma methods in the diagnosis of *Brucella abortus* in semen and serum of bovine bulls. *Biologicals*, v. 47, 2017.

SOUZA, C. D.; **CHACUR, M.G.M.**; RUEDIGER, F.R.; ANDRADE, I.B.; BASTOS, G.P.; GIUFFRIDA, ROGÉRIO. Temperatura por infravermelho do escroto e quadro seminal em touros adultos jovens e adultos maduros da raça nelore. *Colloquium Agrariae*, v. 13, 2017.

GABRIEL FILHO, L. R. A.; PUTTI, F. F.; CREMASCO, C. P.; BORDIN, D.; **GEORGE MUNGAI CHACUR, MARCELO**; GABRIEL, L. R. A. Software to assess beef cattle body mass through the fuzzy body mass index. *Engenharia Agrícola (Online)*, v. 36, p. 179-193, 2016.

RUEDIGER, F.R.; **CHACUR, M. G. M.**; ALVES, F.C.P.E.; OBA, EUNICE; RAMOS, A. A. Digital infrared thermography of the scrotum, semen quality, serum testosterone levels in Nelore bulls (*Bos taurus indicus*) and their correlation with climatic factors. *Semina-Ciências Agrárias*, v. 37, p. 221-232, 2016.

**CHACUR, M. G. M.**; BASTOS, G.P.; VIVIAN, D.S.; SILVA, L.; CHIARI, L.N.F.; ARAUJO, J.S.; SOUZA, C.D.; GABRIEL FILHO, L. R. A. Use of infrared thermography to evaluate the influence of the of Climatic Factors in the Reproduction and Lactation of Dairy Cattle. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 44, p. 1412-1421, 2016.

**CHACUR, M. G. M.**; SOUZA, C.D.; ANDRADE, I.B.; BASTOS, G.P.; DEAK, F.L.G.B.; SOUZA, M.G.R.; CORNACINI, G.F.; MARQUES JUNIOR, A.P. Aplicações da Termografia por Infravermelho na Reprodução e bem-estar de bovinos, equínos e ovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 40, p. 88-94, 2016.

**CHACUR, M. G. M.**; BASTOS, G. P.; VIVIAN, D. S.; SILVA, L.; CHIARI, L. N. F.; ARAUJO, J. S.; SOUZA, C. D.; GABRIEL FILHO, L. R. A. Utilização da termografia

de infravermelho para avaliação de fatores climáticos e sua influência na reprodução e lactação em gado de leite. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 44, p. 1412, 2016.

**CHACUR, M. G. M.**; IBRAHIM, D.B.; ARREBOLA, T.A.H.; SANCHES, O.C.; GIUFFRIDA, ROGÉRIO; OBA, E.; RAMOS, A.A. Evaluation of AgNOR staining method in ovine testicle. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 67, p. 447-454, 2015.

**CHACUR, M. G. M.**; ARREBOLA, T.A.H.; IBRAHIM, D.B.; SANCHES, O.C.; GABRIEL FILHO, L.R.A.; CREMASCO, C.P.; PUTTI, F. F. Characterization and celular proliferation of ovarian structures of ewes by the technique of AgNOR: ovarian morfometry and correlations. *Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas*, v. 9, p. 209-220, 2015.

DE NARDI JÚNIOR, G.; MEGID, J.; VICENTE, A.F.; LISTONI, F.J.P.; MONTEIRO, F.M.; LARA, G.H.B.; MOTTA, R.G.; **CHACUR, M. G. M.**; RIBEIRO, M.G. Comparison of Brucella agar, CITA and Farrell media for selective isolation of *Brucella abortus* from semen of bovine bulls. *African Journal of Microbiology Research*, v. 9, p. 617-620, 2015.

MARTINS, E.A.F.; GABRIEL FILHO, L. R. A.; **CHACUR, M. G. M.** Morfometria corpórea e caracterização do sêmen em veado sambar (*cervus unicolor*) na estação reprodutiva. *Colloquium Agrariae*, v. 11, p. 88-95, 2015.

**CHACUR, M. G. M.**; VASCONCELOS, F. F.; DIAS, HUBERSON SANCHES; AURÉLIO, P.T.F.; GABRIEL FILHO, L. R.A.; CREMASCO, C.P. Pregnancy rates and body morphometry in Nellore cows submitted to progesterone and temporary weaning of calves. *Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas / Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, v. 9, p. 348-357, 2015.

DUTRA DE SOUZA, CAMILA; **GEORGE MUNGAI CHACUR, MARCELO**; RYDYGIER DE RUEDIGER, FELIPE; BATATA ANDRADE, ISAMARA; DE SOUZA CARTOCCI, JUNIA; PEPINO BASTOS, GUILHERME; OBA, EUNICE; DE AMORIM RAMOS, ALCIDES; ROBERTO A GABRIEL FILHO, LUIS; PIRES CREMASCO, CAMILA; FERRARI PUTTI, FERNANDO. Influência dos fatores climáticos no sêmen de touros nelore (*bos taurus indicus*). *Colloquium Agrariae*, v. 11, p. 81-87, 2015.

## **NELCIO ANTONIO TONIZZA DE CARVALHO**

### Formação acadêmica/titulação

Graduação em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária Octávio Bastos (1997), mestrado em Reprodução Animal pela Universidade de São Paulo (2001) e doutorado em Reprodução Animal - Departamento de Reprodução Animal da FMVZ-USP (2006). É Pesquisador Científico da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (desde 2005) e Chefe Seção Técnica da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Registro (desde 2006). Atualmente é PqC VI da APTA (desde 2015).

### Resumo da palestra:

#### **“Evolução e Perspectivas dos Programas de IATF no Brasil”**

A Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) é largamente utilizada em todo o mundo para melhorar a eficiência reprodutiva e aumentar o ganho genético nos rebanhos bubalinos. O controle da emergência da onda de crescimento folicular e a indução da ovulação em momento predeterminado, sem a necessidade de detecção de estro, tem facilitado o manejo e aumentado a eficiência dos programas de IA em búfalas durante as estações reprodutivas favoráveis e desfavoráveis no Brasil. A utilização desta biotecnologia em novilhas possibilita aumento na velocidade do ganho genético nas propriedades, visto que em um processo contínuo de seleção e melhoramento, as novilhas são consideradas os exponenciais do rebanho. Atualmente, a indução da ovulação e a IATF pode ser realizada em búfalas (nulíparas, primíparas e múltiparas) utilizando GnRH e estradiol mais progesterona/progestágeno (dispositivos ou implantes de liberação lenta de P4) e prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ). Essa tecnologia permite associar o emprego da IA com a desestacionalização dos partos, tão importante para evitar a concentração fisiológica dos partos e da produção de leite, contribuindo para o abastecimento da demanda contínua de leite da indústria láctea de búfalos. Apesar do uso dos protocolos de IATF terem contribuído para a disseminação da IA aos rebanhos bubalinos, o que permitiu um ganho genético e, conseqüentemente, o aumento nas produções de leite e carne nesta espécie, faz-se necessário expandir ainda mais a utilização desta tecnologia, visto que apenas 1,2% das búfalas em idade reprodutiva são inseminadas no Brasil.

### Publicações recentes

**DE CARVALHO, NELCIO ANTONIO TONIZZA; SOARES, JULIA GLEYCI; BARUSELLI, Pietro Sampaio.** Strategies to overcome seasonal anestrus in water buffalo. *Theriogenology*, v. 86, p. 200-206, 2016.

**CARVALHO, N. A. T.; SOARES, J.G.; SOUZA, D.C.; MAIO, J.R.G.; SALES, J.N.S.; MARTINS JÚNIOR, B.; MACARI, R.C.; D’OCCHIO, M.J.; BARUSELLI, P. S.** Ovulation synchronization with estradiol benzoate or GnRH in a timed artificial insemination protocol in buffalo cows and heifers during the nonbreeding season. *Theriogenology*, v. 87, p. 333-338, 2016.

MONTEIRO, BRUNO MOURA; DE SOUZA, DIEGO CAVALCANTE; VASCONCELLOS, GUILHERME SOUZA FLORIANO MACHADO; CORRÊA, THALITA BUENO; VECCHIO, Domenico; DE SÁ FILHO, MANOEL FRANCISCO; **DE CARVALHO, NELCIO ANTONIO TONIZZA**; BARUSELLI, PIETRO SAMPAIO. Ovarian responses of dairy buffalo cows to timed artificial insemination protocol, using new or used progesterone devices, during the breeding season (autumn-winter). *Animal Science Journal*, v. 87, p. 13-20, 2016.

**CARVALHO, N.A.T.**; SOARES, J.G.; SOUZA, D.C.; VANNUCCI, F.S.; AMARAL, R.; MAIO, J.R.G.; SALES, J.N.S.; SÁ FILHO, M.F.; BARUSELLI, P.S. Different circulating progesterone concentrations during synchronization of ovulation protocol did not affect ovarian follicular and pregnancy responses in seasonal anestrous buffalo cows. *Theriogenology*, v. 81, p. 490-495, 2014.

**CARVALHO, N.A.T.**; SOARES, J.G.; PORTO FILHO, R.M.; GIMENES, L.U.; SOUZA, D.C.; NICHI, M.; SALES, J.S.; BARUSELLI, P.S. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a timed artificial insemination protocol in buffalo during the nonbreeding season. *Theriogenology*, v. 79, p. 423-428, 2013.

## **NATALIA GUARINO SOUZA BARBOSA**

### Formação acadêmica/titulação

Possui graduação em Agronomia pela Universidade Federal Rural da Amazônia (1998), mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (2000) e doutorado em Zootecnia pela Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (2010). Atualmente é professora de Bubalinocultura de Corte e Leite, de Zootecnia de Ruminantes e de Pecuária Sustentável da Universidade Federal Rural da Amazônia, campus Belém. Foi vencedora do prêmio Octávio Domingues de melhor tese de doutorado de 2010, concedido pela Sociedade Brasileira de Zootecnia. Atuou como coordenadora de programa de extensão entre 2013 e 2016, trabalhando com empreendedorismo social. Atualmente, coordena o grupo de pesquisa Grupo de Estudo em Pecuária Sustentável na Amazônia, GEPSAM, que possui 10 professores de diferentes áreas correlatas ao tema.

### Resumo da Palestra

#### **Diferenças nutricionais entre bubalinos e bovinos**

O búfalo desenvolveu, ao longo dos anos, adaptações anatômicas, fisiológicas e microbiológicas que o permitiu assimilar alguns nutrientes com mais eficiência do que o bovino. Comumente criado em pastos de baixa qualidade, essas adequações foram necessárias e atualmente continuam presentes, mesmo quando o animal é criado em regime alimentar de melhor qualidade. As diferenças entre bovinos e bubalinos podem ser observadas na língua, nos dentes, no tamanho de alguns órgãos do trato gastrointestinal, na taxa de passagem dos alimentos, na microbiota ruminal, nas papilas ruminais e conseqüentemente na produção de produtos finais da fermentação, que resultam em exigências nutricionais menores do bubalino em relação ao bovino. De modo geral, o bubalino é mais eficiente do que o bovino na digestibilidade de alimentos fibrosos, fato observável, *exempli gratia*, através da digestibilidade da matéria seca em dietas contendo níveis crescentes de fibra em detergente neutro; em bovinos, essa digestibilidade reduz de forma célere enquanto em bubalinos é mantida praticamente invariável; um dos fatores que permite essa invariabilidade é o maior número de fungos por mL do ambiente ruminal bubalino, haja vista que esses microrganismos são responsáveis pela digestão de componentes estruturais do alimento, e que após sua ação, as bactérias conseguem acessar seus respectivos substratos, seu número mais elevado contribui, portanto, com a maximização da digestão de alimentos fibrosos pelos búfalos. Há relatos de população de fungos duas vezes maior em ambiente ruminal bubalino em relação ao bovino. Outro microrganismo de interesse é a bactéria *Ruminococcus albus*, presente de duas a três vezes a mais na microbiota ruminal bubalina. Esse microrganismo possui interesse especial na produção animal, pois utiliza o hidrogênio excedente para a produção de etanol ao invés do metano. Além do relatado, a absorção dos produtos finais da fermentação ruminal é também mais eficiente em bubalinos; segundo estudos, há nos búfalos papilas ruminais mais desenvolvidas, que permitem maior área de absorção. Dessa forma, conclui-se que as inúmeras adaptações anatômicas, fisiológicas e microbiológicas do trato gastrointestinal bubalino permitem que haja maior e melhor digestibilidade e absorção dos nutrientes presentes nos alimentos por parte dos bubalinos, que resultam em um animal com eficiência



nutricional diferenciada em relação ao bovino, particularmente em condições de altos teores de fibra.

Publicações recentes

MONGER, S. G. B.; PEREIRA, W. L. A.; PITUCO, E. M.; NOGUEIRA, A. H. C.; LIMA, M. S.; VIANA, R. B.; **BARBOSA, N. G. S.** Linfossarcoma em uma búfala - Relato de Caso. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v. 38, p. 19, 2016.

**BARBOSA, N. G. S.**; RODRÍGUEZ, Norberto Mario; FERNANDES, P. C. C.; GARCIA, A. R.; NAHUM, B.; SALIBA, E. S.; BORGES, I.; AVILA, S. C.; MENEZES, B.P.; RIBEIRO, O. A. V.; QUINZEIRO NETO, T. Intake and Digestibility of River Buffalo Steers (*Bubalus bubalis*) Fed Different Levels of Palm Kernel Cake: Effect of Diet Neutral Detergent Fiber, Digestible Energy, Crude Protein and Extract Ether. Revista Veterinaria, v. 21, p. 146-150, 2010.

**BARBOSA, N. G. S.**; RODRÍGUEZ, Norberto Mario; FERNANDES, P. C. C.; GARCIA, A. R.; NAHUM, B. Nutritional value of palm kernel cake for ruminants. Advances in Animal Biosciences, v. 1, p. 10.1017/S204047, 2010.

## **CARLA MARIS MACHADO BITTAR**

### Formação acadêmica/titulação

Formou-se em 1994 em Eng. Agrônoma pela ESALQ/USP, obteve seu Master of Science pela University of Arizona em 1997 e concluiu o doutorado em Ciência Animal e Pastagens (Esalq) pela Universidade de São Paulo em 2002. Trabalhou durante 2 anos como Pesquisadora na Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, sendo responsável pelo manejo do rebanho de gado de leite e gado de corte da Fazenda Canchim e atuando na área de pesquisa em manejo e nutrição de gado de leite. Foi responsável pelo Laboratório de Bromatologia da ESALQ/USP, adequando e aprimorando métodos de análise de alimentos para animais. Atualmente, é professora de nutrição de ruminantes e metabolismo animal no Departamento de Zootecnia da Esalq, USP.

### Resumo da palestra

#### **Novidades no manejo alimentar de bezerras leiteiras**

O manejo alimentar de bezerras é determinante das taxas de crescimento e saúde dos animais, sendo central para que a produção de fêmeas de reposição seja economicamente viável e tecnicamente adequada.

O principal aspecto do manejo alimentar de novilhas é a colostragem. Protocolos de colostragem adequados resultam em animais aptos a responderem aos diferentes manejos alimentares. Recentemente os protocolos de colostragem foram melhorados, com recomendações de aumento de volume e redução no tempo após o nascimento para fornecimento de colostro de alta qualidade (GODDEN, 2008). Métodos de avaliação a qualidade de colostro também foram melhorados, com a possibilidade de utilização de diferentes colostrômetros e do refratômetro de brix (QUIGLEY et al., 2013). Além disso, nos últimos anos estabeleceu-se formas de avaliação da transferência de imunidade passiva nas propriedades através da avaliação da concentração de proteína total ou de % de brix no soro de bezerros até por volta de 48h de vida (DEELEN et al., 2014). Estes métodos permitem ajustes não só nos programas de colostragem como também no treinamento de colaboradores, peça chave no sucesso do processo.

Recentemente também foram introduzidos no mercado nacional os suplementos e os substitutos de colostro. Segundo Quigley et al. (2002), os suplementos de colostro são produtos com o objetivo de fornecer <100g de IgG/dose, não sendo recomendados para substituir o colostro; por outro lado, os substitutos de colostro contêm >100 g IgG/dose e fornecem outros nutrientes exigidos pelo neonato. As fontes de IgG nos suplementos e substitutos são basicamente secreções lácteas (colostro e leite), sangue (proibido no Brasil) e ovos, no entanto o uso de IgG proveniente de colostro e de sangue tem maior especificidade e são mais adequados para a produção de produtos comerciais (QUIGLEY et al., 2005).

A avaliação da vitalidade e vigor dos recém-nascidos também ganhou importância nos últimos anos, considerando seus efeitos na transferência de imunidade passiva. Uma das ferramentas que podem ser utilizadas na avaliação da condição do recém-nascido é a escala Apgar. Em 1981 Born fez adaptações da escala Apgar para possibilitar a sua utilização na avaliação de vitalidade de bezerros neonatos. O escore Apgar considera o tipo de parto do qual o recém-nascido é oriundo, de forma que animais nascidos de partos eutócicos apresentam um escore Apgar mais elevado em comparação com aqueles que nasceram de partos distócicos (SILVA et al., 2008). Muitas tabelas para

avaliação do vigor de bovinos podem ser encontradas, mas a tabela de escore desenvolvida pela Universidade de Guelph tem sido bastante utilizada por produtores (Tabela 1).

Tabela 1: Escore de vitalidade do bezerro.

	Aparência do animal			
1. Coloração do mecônio	Normal: sem manchas	Razoável: em torno da área anal e caudal	Moderado: estendendo-se pelo corpo	Severo: completamente coberto
	0	1	2	3
2. Língua/cabeça	Língua para dentro, sem inchaço	Língua para fora, sem inchaço	Língua para fora e inchada	Cabeça e língua inchada; língua pl/ fora
	0	1	2	3
	Início de movimentos			
3. Movimentos do bezerro	0-30 min: se levantar, caminhar	30min-1h: tentativas para se levantar	1,5-3h: decúbito externo	>3h: de lado, sem esforço para se levantar
	0	1	2	3
	Respostas gerais			
4. Resposta ao estímulo da cavidade nasal	Balança a cabeça com força	Desvia a cabeça	Contraí ou recua	Sem resposta
	0	1	2	3
5. Resposta ao beliscar a língua	Tira a língua rápido	Demora para tirar a língua	Contraí a língua	Sem resposta
	0	1	2	3
6. Resposta ao tocar globo ocular	Pisca e fecha cílios rapidamente	Demora para piscar	Sem resposta	
	0	1	2	3
	Oxigenação			
7. Coloração da mucosa	Rosa vivo	Rosa claro	Vermelho/bordô	Branco/azul
	0	1	2	3
8. Comprimento da língua*	<50mm	50-61mm	>32mm	
	2	0	1	
	Frequências			
9. Frequência cardíaca**	<60 bpm	60-100 bpm	>100bpm	
	2	0	1	
10. Frequência respiratória	Lenta (24 rpm)	Normal (24-36 rpm)	Rápida (>36 rpm)	
	1	0	2	

\*Comprimento da língua: medir a partir do lábio. Realizar essa medida apenas com 5 minutos do parto.

A partir da obtenção de animais com adequada transferência de imunidade passiva pode-se discutir diferentes manejos alimentares. São muitas as discussões sobre diferentes sistemas de aleitamento, tendo em vista resultados da última década que mostram aumento no potencial de produção de leite quando animais tem maior ganho de peso durante a fase de aleitamento. Embora fornecer maiores volumes de dieta líquida resulte em aumento no custo de produção, aparentemente este investimento resulta em retorno com aumento na produção de leite destes animais já na primeira lactação (SOBERON et al., 2012). O sistema de aleitamento convencional se baseia no fornecimento de volumes restritos de dieta líquida (normalmente 4L/d), de forma a estimular o consumo de concentrado em idades mais jovens, permitindo o desaleitamento precoce. Este sistema é o que apresenta o menor custo, e embora resulte em animais mais leves ao desaleitamento, é bastante adequado para diversos sistemas de produção. Além disso, por estimular o consumo, resulta em desenvolvimento ruminal também mais precoce, reduzindo problemas com perda de peso por ocasião do

desaleitamento. Já os sistemas intensivos se baseiam no fornecimento de maiores volumes de dieta líquida, de forma a acelerar o crescimento do animal e aumentar o seu potencial de produção de leite futuro (Tabela 2). Nestes sistemas são fornecidos volumes de dieta líquida correspondentes a 15 até 20% do peso ao nascer dos animais (6 a 8 L/d), mas em algumas situações volumes ainda superiores (10 a 12L/d). O sistema intensivo pode ser subdividido em intensivo propriamente dito, a vontade, ou ainda programado. No sistema programa, também chamado de step-up/step-down, os volumes fornecidos variam de acordo com a idade do animal e tem como objetivo estimular o consumo de concentrado no período que antecede o desaleitamento. Uma vez que o consumo de dieta sólida é inversamente correlacionado ao consumo de dieta líquida, quando os animais são aleitados com grandes volumes o consumo de concentrado é prejudicado. Por este fato os animais têm o desenvolvimento do rúmen atrasado e, quando são desaleitados sem considerar o consumo de concentrado como critério, perdem peso. Assim, o sistema de aleitamento programado auxilia no desaleitamento dos animais, com uma fase de transição que não prejudica o desempenho e coloca em risco o investimento realizado em dieta líquida.

Tabela 2. Diferentes sistemas de aleitamento de bezerras leiteiras

	Convencional	Intensivo		
		Intensivo	À vontade	Programado
<b>Volume fornecido</b>				
<b>% peso ao nascer</b>	10% PN	15-20% PN	> 20% PN	10% - 20% - 10%
<b>Litros/d (aproximado)</b>	4 L	6-8L	> 8L	4L – 8L – 4L
<b>Período de aleitamento</b>	60 dias ou menos	60-90 dias	60-90 dias	60-90 dias
<b>Objetivo</b>	Estimular consumo de dieta sólida, permitindo desaleitamento precoce	Maior ganho de peso e aumento no potencial de produção de leite futuro	Maior ganho de peso, reproduzindo hábito natural de mamada, e aumento no potencial de produção de leite futuro	Maior ganho de peso no período intermediário e estimular consumo de dieta sólida no período anterior ao desaleitamento. Aumento no potencial de produção de leite futuro.
<b>Dieta líquida</b>	Leite ou sucedâneo	Leite ou sucedâneo com % de sólidos variável	Leite ou sucedâneo, ambos acidificados	Leite ou sucedâneo com teor de sólidos variáveis
<b>Sucedâneo Lácteo, quando adotado</b>				
<b>% Proteína</b>	20-22%	>24%	>24%	>24%
<b>% Gordura</b>	15-20%	15-20%	15-20%	15-20%
<b>% Sólidos</b>	12,5%	12,5 - 16%	12,5 - 16%	12,5 - 16%
<b>Ganho aproximado, g/d</b>	400-500 g/d	680-1.000 g/d	680-1.200 g/d	680-1.000 g/d

Nos últimos anos também houveram alterações nas opções de dietas líquidas, com possibilidade de fornecimento de leite descartado pasteurizado, colostro fermentado e uma infinidade de formulações de sucedâneos comerciais. Atualmente existem sucedâneos de alta qualidade disponíveis no mercado nacional, a custos competitivos com o leite. A constância na composição em nutrientes, a possibilidade de manipular o teor de sólidos totais, através de diferentes taxas de diluição, além da independência dos horários de ordenha, são algumas das vantagens da adoção de sucedâneos. Por outro lado, problemas com produtos com alta inclusão de proteínas e carboidratos de origem vegetal tem sido responsáveis por baixos desempenhos e alta ocorrência de diarreias. Alguns produtos têm sido também utilizados para corrigir o aumentar o teor de sólidos do leite, sendo este monitoramento também realizado através de leituras em refratômetro de brix (FLOREN et al., 2016).

Com a maior consciência sobre o bem-estar animal, muito foi alterado também em relação ao alojamento destes animais. Enquanto o alojamento individual tem como maior vantagem a redução na disseminação de doenças; o alojamento coletivo permite maior sociabilidade e adaptação a novas situações (VIEIRA et al., 2012). Em sistemas onde os animais são alojados individualmente, preocupações com área para locomoção e acesso a sombra foram aumentadas. Por outro lado, em sistemas coletivos houve aumento no investimento para permitir controle individual de consumo, por exemplo com aleitadores automáticos.

Não menos importante que a dieta líquida, a pesquisa se debruçou também no entendimento da importância da dieta sólida não só para o melhor desenvolvimento ruminal (KHAN et al., 2016), mas também para otimização das taxas de ganho de peso. O fornecimento ou não de volumoso para bezerros leiteiros ainda é bastante discutido. Embora seja evidente o efeito negativo dos volumosos no desenvolvimento ruminal, seu papel no controle do pH é indiscutível e de grande importância para animais que ainda estão com o rúmen em desenvolvimento (Tabela 3). Assim, alguns pesquisadores têm sugerido que os teores de fibra dos concentrados sejam um pouco superiores, mas com a inclusão de fontes de fibra de alta qualidade como a polpa cítrica e a casquinha de soja.

Tabela 3. Efeito do fornecimento de concentrado e forragem em diversos parâmetros relacionados ao desenvolvimento ruminal.

<b>Parâmetro</b>	<b>Concentrado</b>	<b>Forragem</b>
<b>Peso do rúmen</b>	+	++
<b>Volume do rúmen</b>	+	++
<b>Diferenciação/crescimento de papilas</b>	++	+
<b>Cetogênese/Concentração de BHBA</b>	+	+
<b>Motilidade ruminal / taxa de passagem</b>	+	++
<b>Microrganismos ruminais</b>		
<b>Bactérias</b>	<b>Amilolíticos</b>	<b>Celulolíticos</b>
<b>Protozoários</b>	-	+
<b>Ácidos orgânicos (lactato, C2, C3, C4)</b>	++	+
<b>Acetato:propionato</b>	-	+
<b>Butirato (C4)</b>	++	+
<b>Lactato</b>	+	-
<b>pH ruminal</b>	-	+
<b>Capacidade tampão/ruminação</b>	-	+
<b>Saúde ruminal/paraqueratose</b>	-	+

Adaptado de Khan et al., 2016

O adequado gerenciamento da atividade assim como programas de treinamento de tratadores são de extrema importância para o sucesso da atividade. O gerenciamento permitirá ajustes e tomadas de decisão quanto ao manejo alimentar, garantindo a obtenção de fêmeas de alto potencial de produção associado ao menor custo possível. Já a importância do treinamento reside não só no fato de que é este colaborador que vai executar todas as atividades com os animais, mas também por que o mesmo vai anotar

dados importantes para o monitoramento da atividade. Os responsáveis, (técnicos e tratadores) devem ter clareza sobre que índices são importantes, como e com que frequência devem ser anotados, e finalmente, como serão utilizados para ajustes de manejo da criação de bezerros.

#### Referências

GODDEN, S. 2008. Colostrum management for dairy calves. *Veterinary Clinics Food Animal Practice*, 24: 19-39.

QUIGLEY III, J.D.; LAGO, A.; CHAPMAN, C.; ERICKSON, P.; POLO, J. 2013. Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *Journal of Dairy Science*, 84: 2059-2065.

QUIGLEY III, J.D.; KOST, C.J.; WOLFE, T.M. 2002. Absorption of protein and IgG in calves fed a colostrum supplement or replacer. *Journal of Dairy Science*, 85: 1243-1248.

QUIGLEY III, J.D.; HAMMER, C.J.; RUSSELL, L.E.; POLO, J. 2005. Nutrient sources for liquid feeding of calves. In: GARNSWORTHY, P.C. *Passive immunity in newborn calves*. Nottingham: Nottingham University Press, 2005. chap. 8, p. 135-157.

SOBERON, F.; RAFFRENATO, E.; EVERETT, R.W.; Van AMBURGH, M.E. 2012. Preweaning milk replacer intake and effects on long-term productivity of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 95: 783-793.

KHAN, M.A., BACH, A., WEARY, D.M., VON KEYSERLINGK, M.A.G., 2016. Invited review: Transitioning from milk to solid feed in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 99: 885-902.

FLOREN, H.K.; SISCHO, W.M.; CRUDO, C.; MOORE, D.A. 2016. Use of a digital and an optical Brix refractometer to estimate total solids in milk replacer solutions for calves. *Journal of Dairy Science*, 99:7517-7522.

#### Publicações recentes

SANTOS, G.; SILVA, J. T.; SANTOS, F. H. R.; **BITTAR, C.M.M.** Nutritional and microbiological quality of bovine colostrum samples in Brazil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 46, p. 72-79, 2017.

OLTRAMARI, C. E.; NÁPOLES, G.G.O.; PAULA, M. R.; SILVA, J. T.; GALLO, M. P. C.; SOARES, M.C.; **BITTAR, C.M.M.** Performance and metabolism of dairy calves fed starter containing citrus pulp as a replacement for corn. *Animal Production Science (Print)*, v. 1, p. 1, 2017.

MIQUEO, E.; TORREZAN, T. M.; ROCHA, N. B.; PAULA, M. R.; SILVA, F. L. M.; MAZZA, PAULO HENRIQUE; **BITTAR, C.M.M.** Increase in Crude Protein Content of Milk Replacers with Vegetable Protein: Effect on Health and Dairy Calves? Performance. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, v. 12, p. 1, 2017.

PAULA, M. R.; OLTRAMARI, C. E.; SILVA, J. T.; GALLO, M. P. C.; MOURÃO, G. B.; **BITTAR, C.M.M.** Intensive liquid feeding of dairy calves with a medium crude protein milk replacer: Effects on performance, rumen, and blood parameters. *Journal of Dairy Science*, p. 4448-4456, 2017.

SALLES, M. S. V.; SILVA, S.; ROMA JR., L.C.; FARO, L. E.; **BITTAR, C.M.M.**; OLIVEIRA, C. E.; SALLES, F. Detection of heat produced during roughage digestion in ruminants using infrared thermography. *Animal Production Science*, v. 57, p. 1-9, 2017.

OLTRAMARI, C. E.; Nápoles, G.G.O.; PAULA, M. R.; SILVA, J. T.; GALLO, M. P. C.; **BITTAR, C.M.M.** Performance and metabolism of calves fed starter feed containing sugarcane molasses or glucose syrup as a replacement for corn. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences (Print)*, v. 29, p. ajas-15-0550.pd, 2016.

**BITTAR, C. M. M.** Instalações para Bezerras Leiteiras. *Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia (UFMG)*, v. 81, p. 26-44, 2016.

**BITTAR, C. M. M.**; FERREIRA, Lucas Silveira; SILVA, J. T. Sucedâneos lácteos para bezerras leiteiras. *Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia (UFMG)*, v. 81, p. 56-74, 2016.

SOARES, M.C.; OLTRAMARI, C. E.; PAULA, M. R.; MONTEIRO, C. C. F.; MOURAO, G. B.; **BITTAR, C.M.M.** Inclusion of Molasses or Glucose Syrup in Starter Concentrate for Dairy Calves: Effects on Diarrheic Calves. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, v. 11, p. 25-32, 2016.

**BITTAR, C. M. M.**; SILVA, F. L. M.; PAULA, M. R.; SILVA, J. T.; GALLO, M. P. C.; OLTRAMARI, C. E.; NÁPOLES, G.G.O.; SOARES, M.C. Desempenho e parâmetros sanguíneos de bezerros em sistema de desaleitamento precoce suplementados com probiótico de bactérias ruminais. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 17, p. 249, 2016.

SOUZA, V. L.; DRACKLEY, J. K.; ALMEIDA, R.; **BITTAR, C.M.M.**; ALBERTINI, T. Z.; MORRISON, S.; LANNA, D.P.D. Evaluation of nutrition models to estimate performance of young dairy calves: a meta-analytical study under tropical conditions. *Animal (Cambridge. Print)*, v. 6, p. 1-10, 2016.

PAULA, M. R.; **BITTAR, C.M.M.**; PINHEIRO, E. S. C.; FREITAS, F. Z.; DALOSSI, T. Saúde e desempenho de bezerras leiteiras com consumo adicional de imunoglobulinas através do fornecimento de suplemento de colostro associado a colostro materno de alta qualidade. *ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE PRODUCCIÓN ANIMAL*, v. 24, p. 203-215, 2016.

**BITTAR, CARLA MARIS MACHADO**; N'POLES, G. G. O.; OLTRAMARI, C. E.; Silva, J. T.; DE PAULA, M. R.; SANTOS, F. H. R.; GALLO, M. P. C.; MOURÃO, G. B. Crude glycerin as a replacement for corn in starter feed: performance and metabolism of pre-weaned dairy calves. *Animal Production Science (Print)*, v. 1, p. 1, 2016.

TORREZAN, T. M.; SILVA, J. T.; MIQUEO, E.; ROCHA, N. B.; SILVA, F. L. M.; BALDASSIN, S.; **BITTAR, C.M.M.** Desempenho de bezerros leiteiros recebendo probiótico contendo *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, v. 17, p. 508-519, 2016.

SANTOS, F. H. R.; DE PAULA, M. R.; LEZIER, D.; SILVA, J. T.; SANTOS, G.; **BITTAR, C. M. M.** Essential oils for dairy calves: effects on performance, scours, rumen fermentation and intestinal fauna. Animal (Cambridge. Online), v. 9, p. 958-965, 2015.

DE OLIVEIRA, K.; FACHIOLLI, D.F.; WATANABE, M.J.; TSUZUKIBASHI, D.; **BITTAR, C.M.M.**; COSTA, C.; POIATTI, M.L.; DE L. MEIRELLES, P.R. Dimethylglycine supplementation in horses performing incremental treadmill exercise. Comparative Exercise Physiology (Print), v. 11, p. 167-172, 2015.

SANTOS, G.; **BITTAR, CARLA MARIS MACHADO.** A survey of dairy calf management practices in some producing regions in Brazil. Revista Brasileira de Zootecnia (Online), v. 44, p. 361-370, 2015.



## **SERGIO SORIANO**

### Formação acadêmica/titulação

Possui graduação em Medicina Veterinária pelo Centro Regional Universitário de Espírito Santo do Pinhal e especialização em Reprodução Bovina e Pós-Graduação em Administração pela Fundação Getúlio Vargas. Há 13 anos ocupa o cargo de Gestor de Pecuária de Leite da Fazenda Colorado.

### Resumo da palestra

#### **Gestão com as pessoas: o mais novo caminho para o sucesso de seu negócio**

Estamos dando de fato a importância que as pessoas possuem em nossos negócios? Com uma abordagem simples e atual, podemos trazer uma resposta a essa pergunta a qual demonstra ser de grande importância para todas as propriedades ou empresas que conseguiram se diferenciar valorizando de forma muito coerente as pessoas envolvidas no negócio. Sendo esses de caráter familiar ou com colaboradores contratados, pois às vezes esquecemos de imensurável valor que os colaboradores possuem por executar as atividades rotineiras.

Vale ressaltar, que as pessoas que nos rodeiam e nos ajudam são, de fato, uma imensa riqueza a qual quando encontram alguém que as valorizem, treina-as, desenvolva-as, produzem aquilo, que eu chamo, de o grande diferencial competitivo. Os colaboradores fazem as diferenças acontecerem dentro de seu negócio, seja ele grande ou pequeno, agrícola ou de centros empresariais, pois assim como são responsáveis pelo “acontecer” são, também, que impedem que as transformações ocorram dentro do ambiente de trabalho.

É necessário então saber de forma simples, no entanto organizada, liderar nossa equipe para atingir alto desempenho, tonando-nos agora uma equipe de vencedores. Para tanto, vamos precisar entender de pessoas e processos, caminhando através das informações as quais são bases de tomadas de decisões assertivas. Ademais, necessitamos exercer a liderança servidora, na qual o foco é dar condições para que a nossa equipe realize seu trabalho de forma completa e eficiente, atingindo as metas sem perder a essência nas pessoas.

Os recursos humanos são o que nos diferenciam dos concorrentes, tornando-se o grande diferencial sustentável a fim de obtermos os resultados necessários para o sucesso. O mundo globalizado trouxe enormes benefícios, porém nos exige mais agilidade nas tomadas de decisões. Portanto, é necessário que consigamos motivar nossa equipe para as mudanças, pois o mundo mudou, exigindo do Brasil transformações nas formas de tratar e cuidar das pessoas. Sendo assim, as empresas tiveram que se adaptarem rapidamente aos novos tempos, os quais exigem modificações nos trabalhadores. Esses, por sua vez, devem estar abertos às mudanças. Atualmente, necessitamos não mais de mão-de-obra, precisamos do trabalho de conhecimento, com uma alteração qualitativa, direcionada para um trabalhador qualificado, portador de uma visão, basicamente, intelectual. O trabalhador “pesante” sobre os desafios, capacitado em tomar atitudes, com o poder de resolver os problemas pequenos é o buscado no mercado de trabalho. Para tanto, as empresas precisam investir, cada vez mais, em seus treinamentos e desenvolvimentos com o propósito de “construir” o colaborador eficaz.

Na busca do colaborador para os novos tempos, a liderança tem uma enorme importância, pois o líder deve saber vender seus sonhos e suas ideias e tudo isto esta

vinculado à empatia (compreender as outras pessoas). Sendo assim, o grande líder é voltado para as pessoas, pois são elas o recurso mais importante em uma organização, independente do seu tamanho.

Sem uma liderança eficaz, a empresa se resume a uma série de recursos desarticulados, sendo eles materiais, humanos ou financeiros.

O novo trabalhador é amigo das mudanças, adaptando-se ao mundo moderno, dinâmico e do conhecimento, evoluindo cada vez mais. Uma modificação importante pode ser feita quando fazemos nossas escolhas e acredito que tudo melhora no momento em que somos gratos, porque não são as pessoas felizes que são gratas, as pessoas gratas que são felizes.

#### Publicações recentes

Administração de somatotropina bovina no período pré-parto sobre parâmetros produtivos, sanitários e reprodutivos da primeira lactação de vacas holandesas, *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 2002.

Avaliação de ferramentas utilizadas no balanceamento de dietas completas para vacas em lactação”, *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 2004.

Fatores de risco associadas a falhas de concepção ao primeiro serviço em vacas leiteiras de alta produção”, *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 2009.

Laryngeal abscess caused by *Arcanobacterium pyrogenes* in São Paulo - Brazil In: XXVI World Buiatrics Congress, Santiago, 2010. WBC 2010 - Congress Abstracts, 2010.

Effects of postbreeding gonadotropin treatments on conception rates of lactating dairy cows subjected to timed artificial insemination or embryo transfer in a tropical environment, *American Dairy Science Association*, 2011.

Factors affecting immunoglobulin concentration in colostrum of healthy Holstein cows immediately after delivery, *Pesquisa Veterinária Brasileira (Impresso)*, 2011.

Release of hydrogen peroxide by phagocytes from bovine colostrum in the peripartum period, *Acta Veterinaria Brno (Print)*, 2014.

Interface between maternal antibodies and natural challenge for BVDV in dairy heifers In: World Buiatrics Congress, Dublin, 2016. Proceedings of the World Buiatrics Congress 2016.

Daily lying behavior of lactating Holstein cows during an estrus synchronization protocol and its associations with fertility”, *Journal of Dairy Science*, 2017.

Association between ambient temperature and humidity, vaginal temperature and automatic activity monitoring on induced estrus in lactating cows”, *Journal of Dairy Science*, 2017.

## **LUIS SOUZA LIMA DE SOUZA REIS**

### Formação acadêmica/titulação

Graduado em medicina veterinária pela Universidade do Oeste Paulista. Pós-Doutor pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia UNESP/FMVZ - Campus de Botucatu. Doutor em medicina veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia UNESP/FMVZ - Campus de Botucatu. Mestre em ciência animal pela Universidade do Oeste Paulista. Especialista em produção de ruminantes pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-USP/Piracicaba. Especialista em bovinocultura de corte intensivo pela Universidade do Oeste Paulista. Especialista em metodologia do ensino pela Faculdade de Educação de Assis. Especialista em reprodução animal pela Universidade do Oeste Paulista. Áreas de atuação: extensão rural e docente da graduação em medicina veterinária e no programa de pós-graduação em ciência animal (mestrado e doutorado), na linha de pesquisa agressão tecidual e celular, imunidade e nutrição na Universidade do Oeste Paulista.

### Resumo da palestra

#### **Microminerais para bovinos em pastejo**

As pastagens brasileiras apresentam concentrações que não atendem as exigências nutricionais dos bovinos e, quando não suplementados com misturas minerais, podem causar deficiência mineral nos bovinos. Mas, estes elementos minerais também podem estar em excesso na dieta dos bovinos e, intoxica-los. No entanto, para os bovinos manifestarem os sintomas clínicos de deficiência ou intoxicação por um determinado elemento mineral pode levar meses. Entretanto, até o aparecimento da manifestação clínica da deficiência ou intoxicação por minerais, há o comprometimento na saúde, na reprodução, na produção e no bem-estar, gerando grandes perdas econômicas devido ao baixo desempenho e produção dos bovinos. Há vários elementos minerais que compõem os suplementos minerais, uns em maior concentração conhecidos como macrominerais (como exemplo: cálcio, fósforo, enxofre, sódio, magnésio, potássio, cloro) e outros em menor concentração que são os microminerais (cobalto, cobre, ferro, iodo, manganês, selênio zinco, cromo) que interagem antagonicamente ou sinergicamente entre eles. Fato que dificulta a pesquisa e produção dos suplementos minerais. Dentre os microminerais podemos citar o iodo que é parte integrante dos hormônios produzidos pela glândula tireóide, triiodotironina (T3) e a tiroxina (T4) que estão envolvidos no metabolismo e homeostase do organismo e, quando deficiente pode causar na fêmea nascimento de bezerras fracas, atraso na puberdade, intervalos irregulares entre estro, anestro, mortalidade embrionária e no macho redução no crescimento testicular, na espermatogênese, na qualidade do sêmen e libido. O iodo em excesso na dieta dos bovinos leva à redução do apetite e ganho de peso. O manganês atua ou se integra às metaloenzimas que participam do metabolismo de proteínas, carboidratos, lipídeos e protege as células contra danos causados pelos radicais livres e promove o ganho de peso, quando deficiente na dieta, os bovinos poderá apresentar diminuição do volume do ejaculado, da motilidade dos espermatozoides, elevar a porcentagem de patologias espermáticas em animais jovens, depressão ou retardamento do cio e baixa taxa de concepção e quando em excesso pode lesar as membranas dos espermatozoides com redução na motilidade e vigor dos espermatozoides. O selênio é parte integrante de várias selenoproteínas, entre elas, a glutathione peroxidase (GSH-Px)

que, associado à vitamina E, protege as células contra os danos causados pelos radicais e promove o ganho de peso e os bovinos quando deficientes apresentam sêmen de baixa qualidade com redução na concentração e motilidade espermática, aumenta a incidência de retenção de placenta, metrite, cistos ovarianos e doença do músculo branco. O zinco é elemento mineral essencial por ser parte integrante ou ativador de centenas de metaloenzimas dentre elas a superperóxido dismutase, sorbitol desidrogenase, lactato desidrogenase que protegem as membranas celulares contra a ação dos radicais livres, estabilização do DNA e RNA, eleva a resposta imunológica e favorece o crescimento dos microrganismos ruminais. Os bovinos deficientes em zinco poderão haver redução no apetite e crescimento, paraqueratose, alterações na espermatogênese e diminuição da libido. A suplementação dos bovinos poderá ser feita com suplemento mineral da linha ou proteinado considerando a espécie animal, a idade, reprodução, estação de seca ou água entre outros. Deve-se atentar para o comprimento e altura do cocho de sal para categoria animal e que todos os bovinos do lote terão acesso ao cocho e a distância ideal entre cocho de sal e aguada para garantir ingestão diária do suplemento, que juntamente com os minerais contidos nas pastagens, água e demais alimentos suprem as exigências nutricionais dos bovinos para maximização da saúde, produção e bem-estar dos bovinos criados à pasto.

#### Publicações recentes

**REIS, L. S. L. S.;** RAMOS, A. A.; CAMARGOS, A. S.; OBA, E. Integrity of the plasma membrane, the acrosomal membrane, and the mitochondrial membrane potential of sperm in Nelore bulls from puberty to sexual maturity. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Online)*, v. 68, p. 620-628, 2016.

**REIS, L. S. L. S.;** PARDO, P. E.; OBA, E.; KRONKA, S. N.; RODRIGUES, G.; BEZERRA, R. C. EFFECT OF MATRICARIA CHAMOMILLA CH12 WEANING STRESS IN PIGS. *Colloquium Agrariae (UNOESTE)*, v. 11, p. 06-11, 2015.

**REIS, L.S.L.S.;** RAMOS, A.A.; CAMARGOS, A.S.; OBA, E. Effect of manganese supplementation on the membrane integrity and the mitochondrial potential of the sperm of grazing Nelore bulls. *Animal Reproduction Science (Print)*, v. 150, p. 1-6, 2014.

CAMARGOS, A.C.; GIOSO, M. M.; **REIS, L. S. L. S.;** COSTA, I. F.; FERRAZ, M. C.; OBA, E. Ocorrência de distúrbios da gestação, parto e puerpério em vacas leiteiras. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, v. 12, p. 1, 2013.

**REIS, L. S. L. S.;** PARDO, P. E.; FRAZATTI-GALLINA, N.M.; PAOLI, R. L.; OBA, E.; KRONKA, S. N.; CAMARGOS, A.C. Effects of primovaccination and booster vaccination on serum cortisol and humoral immune response in cattle. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, v. 04, p. 607-611, 2013.

## **EDUARDO BASTIANETTO**

### Formação acadêmica/titulação

Médico Veterinário, graduado na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (2002) e Mestre em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Minas Gerais (2006). Concluiu o Curso de Doutorado em Ciência Animal da Escola de Veterinária da UFMG (2010). Nos anos de 2004 e 2005 fez estágio na Universidade de Nápoles (Itália), quando realizou estudos nas áreas de reprodução, nutrição e tecnologia de laticínios em rebanhos bubalinos e laticínios na Itália. Exerce atividades de pesquisa desde junho de 2010 como membro do INCT Pecuária e desde abril de 2015 ocupa o cargo de professor Adjunto junto ao Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG.

### Resumo da palestra

#### **Planejamento do sistema produtivo com ênfase na sanidade animal, aumento da produtividade e da qualidade do alimento produzido**

A palestra irá tratar do planejamento a ser realizado na organização da estrutura produtiva de rebanhos bovinos e bubalinos, com ênfase nas ações técnicas de maior importância em cada categoria animal, de modo a reduzir a ocorrência de doenças, limitar o uso de medicamentos e favorecer o aumento da saúde do rebanho. As ações que serão apresentadas têm como objetivo final o aumento da produtividade dos rebanhos e da qualidade do produto final, leite, carne, couro, vísceras e demais subprodutos utilizados na indústria de alimento sob inspeção Médico Veterinária.

### Publicações recentes

STOTZER, E. S.; LOPES, L. B.; ECKSTEIN, C.; MORAES, M. C. M. M.; RODRIGUES, D. S.; **BASTIANETTO, E.** Impacto econômico das doenças parasitárias na pecuária. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v. 08, p. 198-221, 2014.

VENEZIANO, VINCENZO; NEGLIA, GIANLUCA; CIMMINO, ROBERTA; BALESTRIERI, ANNA; RUFRANO, DOMENICO; **BASTIANETTO, EDUARDO**; SANTORO, MARIO; GOKBULUT, CENGIZ. The efficacy and safety of alphacypermethrin as a pour-on treatment for water buffalo (*Bubalus bubalis*) infested with *Haematopinus tuberculatus* (Phthiraptera: Haematopinidae). Parasitology Research (1987. Print), v. 112, p. 2907-2912, 2013.

DE OLIVEIRA, C.H.S.; BARBOSA, J. D.; BARBOSA, J.D.; OLIVEIRA, C.M.C.; **BASTIANETTO, E.**; MELO, M.M.; HARAGUCHI, M.; FREITAS, L.G.L.; SILVA, M.X.; Leite, R.C. Hepatic photosensitization in buffaloes intoxicated by *Brachiaria decumbens* in Minas Gerais state, Brazil. Toxicon (Oxford), v. 73, p. 121-129, 2013.

NUNES, Ronaldo Luiz; SANTOS, L. L.; **BASTIANETTO, E.**; OLIVEIRA, D. A. A.; OLIVEIRA, D.A.A.; Brasil, B.S.A.F. Frequency of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* populations isolated from buffalo, goat and sheep herds. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária (Online), v. 22, p. 1-6, 2013.

**BASTIANETTO, E.**; ANDRADE, L. G.; BRASIL, B. S. A. F.; Nunes, Ronaldo L.; DRUMMOND, M. G.; BRITO, M.; Oliveira, Denise A.A.; LEITE, R. C. Doramectin resistance in helminths from buffaloes. *Buffalo Bulletin*, v. 32, p. 1063-1065, 2013.

HENRY, M. R. J. M.; BRITO, M. F.; LOAIZA-ECHEVERRI, A. M.; OLIVEIRA, C. H. S.; GIBSON, A. F. B.; NEVES, B. P.; ANDRADE, G. O.; MELO, I. O.; **BASTIANETTO, E.** Scrotal Circumference Growth Curves of Buffalo Bulls of Different Breeds Raised in Brazil. *Buffalo Bulletin*, v. 32, p. 439-442, 2013.

**BASTIANETTO, E.**; BRITO, M. F.; OLIVEIRA, DENISE A.A.; VENEZIANO, VINCENZO; Leite, Romário C. Efficacy Analysis of Parasitic Integrated Control in Buffaloes. *Buffalo Bulletin*, v. 32, p. 1033-1034, 2013.

**BASTIANETTO, EDUARDO**; BRITO, M. F.; OLIVEIRA, DENISE A.A.; LEITE, R. C. Economical and Social Importance of Buffalo in a Small Milk Production System. *Buffalo Bulletin*, v. 32, p. 1197-1199, 2013.

SALIBA, W. P.; GIMENES, L. U.; DRUMOND, R. M.; BAYAO, H. X. S.; ALVIM, M. T. T.; BARUSELLI, P. S.; **BASTIANETTO, EDUARDO**; LEITE, R. C.; GASPARRINI, B. Efficiency of OPU-IVEP-ET of Fresh and Vitrified Embryos in Buffaloes. *Buffalo Bulletin*, v. 32, p. 385-388, 2013.

SALIBA, W. P.; GIMENES, L. U.; DRUMOND, R. M.; BAYAO, H. X. S.; ALVIM, M. T. T.; BARUSELLI, P. S.; **BASTIANETTO, EDUARDO**; LEITE, R. C.; GASPARRINI, B. Pregnancy Monitoring of In Vitro Produced Embryos in Buffaloes. *Buffalo Bulletin*, v. 32, p. 389, 2013.

## **LÚCIA MARIA ZEOULA**

### Formação acadêmica/titulação

Possui graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1980), mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (1983), doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (1990) e Pós-Doutorado em Zootecnia pelo Institut National Agronomique Paris - Grignon (INRA) (1995). Professora titular na área de nutrição e alimentação de ruminantes do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá. Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1B

### Resumo da palestra

Os nutrientes exigidos pelas búfalas leiteiras têm relação com a raça, estado fisiológico, manejo nutricional, nível de produção e condições climáticas onde estão inseridas. Embora na literatura haja registro por vários autores (do subcontinente indiano e da Europa) sobre padrões de alimentação para búfalas leiteiras, a presente publicação resumiu as informações contidas em dois sistemas de nutrição, o indiano, como foi chamado aquele publicado por Paul & Lal (2010) e o sistema italiano, publicado por Zicarelli (2001). Deste modo, foram apresentadas as exigências de energia, proteína e minerais para manutenção e produção de leite de búfalas em lactação, como também, as estimativas do consumo de matéria seca, comparando os dois sistemas de nutrição. A partir das equações fornecidas por estes sistemas, observaram-se diferenças nas aferições sobre o consumo e nas necessidades diárias de energia e proteína para búfalas de alta produção (por exemplo, 15 kg leite com 8,3% de gordura) em relação às de menor produção (6 kg de leite com 7,0% de gordura) cujos valores de requerimentos diários foram próximos entre os sistemas. As divergências entre os sistemas de nutrição, indiano e o italiano, estão provavelmente associadas aos modelos e métodos usados na determinação dos nutrientes exigidos, condições ambientais (clima tropical e temperado), grupos genéticos (búfalos indianos e italianos) e manejo nutricional (volumoso ofertado), entre outros. Ainda nesta revisão, destacaram-se as tecnologias usadas para melhorar o perfil lipídico do leite, a composição química e a produção de leite de búfalas por meio da introdução de aditivos alimentares nas dietas, como a suplementação de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), antioxidantes e ionóforos. A adição de AGPI nas dietas de búfalas em lactação mostrou alterações no perfil lipídico do leite com maior concentração dos ácidos graxos poli-insaturados da série n-6 e n-3, que podem ser benéficos à saúde do consumidor reduzindo fatores determinantes de aterosclerose e trombose. Porém, ao modificar o perfil lipídico do leite com aumentos dos AGPI e diminuição dos ácidos graxos saturados (AGS), observou-se elevação da lipoperoxidação, pois estes ácidos graxos são mais suscetíveis a oxidação e deterioração em relação aos AGS predominantes no leite convencional. A incorporação de antioxidantes ao leite de maneira natural via alimentação das búfalas evita a necessidade de sua adição na indústria mitigando a elevação de custos, além de auxiliar na manutenção da saúde dos animais em produção. Outro modo de beneficiar o metabolismo dos animais, a partir de uma dieta balanceada, é a adição de ionóforos, como a monensina sódica, que pode favorecer o balanço energético dos animais durante o início da lactação e melhorar a qualidade do leite. Exceção aos benefícios da suplementação dos AGPI com alterações positivas na qualidade da gordura do leite,

infere-se que ainda são poucos os estudos sobre o uso de aditivos alimentares fornecidos nas dietas de búfalas em lactação e os reais benefícios da sua utilização.

#### Publicações recentes

SANTOS, NADINE W.; YOSHIMURA, EMERSON H.; MAREZE-COSTA, CECÍLIA E.; MACHADO, ERICA; AGUSTINHO, BRUNA C.; PEREIRA, LUCÉLIA M.; BRITO, MÁRCIA N.; BRITO, NILTON A.; **ZEOULA, LUCIA M.** Supplementation of cow milk naturally enriched in polyunsaturated fatty acids and polyphenols to growing rats. Plos One, v. 12, p. e0172909, 2017.

SANTOS, F.S.; **ZEOULA, L.M.**; DOS SANTOS, G.T.; LIMA, L.S.; DIAS, A.L.G.; RUFINO, M.O.A.; SCHOGOR, A.L.B.; DE MARCHI, F.E.; PETIT, H.V. Intake, digestibility and milk production and composition of dairy cows fed different levels of Yerba Mate in the diet. Animal Feed Science and Technology, v. 230, p. 70-76, 2017.

PAULA, E.M.; SAMENSARI, R. B.; PEREIRA, L. M.; MAIA, Fábio José; FRANZOLIN, R.; FACIOLA, A. P.; **ZEOULA, L. M.** Effect s of phenolic compounds on ruminal protozoa population, ruminal fermentation, and digestion in water buffaloes. Livestock Science (Print), v. 185, p. 136-141, 2016.

SOUZA, MOACIR ROGÉRIO DE; SANTOS, GERALDO TADEU DOS; LIMA, LUCIANO SOARES DE; MAZUCHELI, JOSMAR; **ZEOULA, LÚCIA MARIA,** RIGOLON, LUIZ PAULO; CAVALIERI, FÁBIO LUIZ BIM. Oocyte production in Nellore cows supplemented with long-chain fatty acid soaps. Revista Brasileira de Zootecnia (Online), v. 45, p. 138-143, 2016.

SANTOS, NADINE WORUBY; **ZEOULA, LUCIA MARIA;** YOSHIMURA, EMERSON HENRI; MACHADO, ERICA; MACHEBOEUF, DIDIER; CORNU, AGNÈS. Brazilian propolis extract used as an additive to decrease methane emissions from the rumen microbial population in vitro. Tropical Animal Health and Production, v. 48, p. 3-8, 2016.

SANTOS, NADINE WORUBY; YOSHIMURA, EMERSON H.; MACHADO, ERICA; MATUMOTO-PINTRO, PAULA T.; MONTANHER, PAULA F.; VISENTAINER, JESUÍ V.; DOS SANTOS, GERALDO T.; **ZEOULA, LUCIA M.** Antioxidant effects of a propolis extract and vitamin E in blood and milk of dairy cows fed diet containing flaxseed oil. Livestock Science (Print), v. 191, p. 132-138, 2016.

CORTES, C.; KAZAMA, R; KAZAMA, D.C. S.; SANTOS, G. T.; **ZEOULA, L. M.** PETIT, H. V. Composition of flaxseed recovered from the faeces of dairy cows fed different proportions of whole flaxseed in the diet. Animal Feed Science and Technology (Print), v. 204, p. 9-17, 2015.

VALERO, M.V.; **ZEOULA, L. M.**; MOURA, LUCIMAR PONTERA PERES DE; COSTA JR. J.B.G; SESTARI, B.B.; PRADO, I. N. Propolis extract in the diet of crossbred (½ Angus vs. ½ Nellore) bulls finished in feedlot: animal performance, feed efficiency and carcass characteristics. Semina. Ciências Agrárias (Impresso), v. 36, p. 557-570, 2015.



SILVA, ANDERSON; SILVA, ROBÉRIO; CARVALHO, GLEIDSON; SILVA, FABIANO; LINS, TÚLIO; **ZEOULA, LÚCIA**; FRANCO, SELMA; SILVA, ANA; CARVALHO, VENÍCIO; ABREU, GEORGE. Correlation between Ingestive Behavior and Digestibility Coefficients of Supplemented Grazing Steers, with or without Addition of Propolis Extract (LLOS®). *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, v. 4, p. 1-12, 2015.

GERON, LUIZ JULIANO VALÉRIO; COSTA, FABIANA GOMES DA; SANTOS, RUTH HELERENE ESPINOSA; GARCIA, JOCILAINE; TRARUTMANN-MACHADO, RAQUEL JOANA; SILVA, MARIA ISABEL LEITE DA; **ZEOULA, LÚCIA MARIA**; SILVA, DILMA ALVES. Balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com rações contendo diferentes teores de concentrado. *Semina. Ciências Agrárias (Impresso)*, v. 36, p. 1609, 2015.

MACHADO, ERICA; YOSHIMURA, EMERSON HENRI; SANTOS, NADINE WORUBY; AGUSTINHO, BRUNA CALVO; PEREIRA, LUCELIA DE MOURA; SAMENSARI, RAFAEL BARREIROS; DE AGUIAR, SILVIA CRISTINA; **ZEOULA, LUCIA MARIA**. Nitrogen metabolism, digestive parameters, and protein requirements for the maintenance of buffalo growth. *Tropical Animal Health and Production*, v. 45, p. 1-6, 2015.

ELOISE DE MARCHI, FRANCILAINE; ROMERO, JAKELINE VIEIRA; DAMASCENO, JULIO CESAR; GRANDE, PAULA ADRIANA; **ZEOULA, LÚCIA MARIA**; TADEU DOS SANTOS, GERALDO. Pelleting in Associated with Sodium Monensin Increases the Conjugated Linoleic Acids Concentration in the Milk of Dairy Cows Fed Canola Seeds. *Asian-Australians Journal of Animal Science*, v. 28, p. 1095-1104, 2015.

GERON, LUIZ JULIANO VALÉRIO; GARCIA, JOCILAINE; COSTA, FABIANA GOMES; AGUIAR, SÍLVIA CRISTINA DE; OLIVEIRA, EDIMAR BARBOSA; SILVA, MARIA ISABEL LEITE DA; CABRAL, LUCIANO DA SILVA; PIERANGELI, MARIA APARECIDA PEREIRA; **ZEOULA, LÚCIA MARIA**; MEXIA, ALEXANDRE AGOSTINHO. Ruminant parameters and nitrogen balance in sheep fed diets containing residue from the extraction of tamarind pulp. *Semina. Ciências Agrárias (Impresso)*, v. 36, p. 3411, 2015.

GERON, LUIZ JULIANO VALÉRIO; COSTA, F. G.; AGUIAR, SILVIA CRISTINA DE; GARCIA, JOCILAINE; RIBEIRO, M. G.; **ZEOULA, L. M.**; SILVA, A. P.; PEREIRA, S. R.; SILVEIRA, R. M. In vitro and in vivo nutrient digestibility in sheep of rations with and without residue from the extraction of tamarind pulp. *Semina. Ciências Agrárias (Online)*, v. 36, p. 4507-4518, 2015.

**RESUMOS**

## **AValiação DA IDADE À Maturidade SEXUAL DE BOVINOS DA RAÇA BRAHMAN, NELORE E GUZERÁ**

Isabela de Paula Silva<sup>1</sup>

João Vitor Fernandes<sup>1</sup>

Larissa Graciano Braga<sup>1</sup>

Arthur dos Santos Mascioli<sup>2</sup>

Adriana Santana do Carmo<sup>2</sup>

A seleção de touros que apresentam maior perímetro escrotal à idade adulta resulta na redução da idade à maturidade sexual. O ejaculado produzido por animais sexualmente maduros apresentam menor frequência de anormalidades patológicas nos espermatozoides e maior volume, concentração e motilidade espermática em relação a animais mais jovens. Animais que se tornam maduros sexualmente mais cedo impactam positivamente a eficiência e a lucratividade dos rebanhos, já que podem ser utilizados de modo otimizado na estação de monta, cobrindo um número maior de fêmeas, além de possibilitar uma maior produção do número de doses de sêmen nas Centrais de Inseminação Artificial (CIA). Rebanhos cujos animais apresentam maturidade sexual precoce possuem maior disponibilidade de animais para venda e seleção, possibilitando maior intensidade seletiva e, conseqüentemente, progressos genéticos mais elevados e maior lucratividade. O presente estudo objetiva avaliar a idade à maturidade sexual de touros das raças Guzerá, Brahman e Nelore. Para tanto foram avaliados 187 touros das raças Guzerá (n= 23), Nelore (n= 148) e Brahman (n= 16) que se encontravam em regime de coleta de sêmen na Central Alta Genetics entre os anos 2000 a 2005. Os ejaculados foram avaliados seguindo o procedimento preconizado pelo Manual do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Foi considerada maturidade sexual como a idade em que os animais apresentaram as seguintes características seminais: concentração espermática de no mínimo  $500 \times 10^6$  espermatozoides, 50% de motilidade espermática progressiva e menos de 30% de defeitos espermáticos em pelo menos três coletas de sêmen consecutivas. A análise estatística foi realizada pela análise da variância (ANOVA) e pelo teste estatístico de Tukey. Os touros Brahman apresentaram menor idade à maturidade sexual (43,25 meses) do que os touros Nelore (59,75 meses) e Guzerá (66,78 meses) ( $P < 0,05$ ). As médias de idade à maturidade encontradas são maiores do que as encontradas na literatura. Isso pode ter ocorrido devido às diferentes definições de maturidade sexual empregadas nos estudos. Muitos dos touros que tem sêmen coletado em CIA não são selecionados para a precocidade da maturidade sexual, apenas para puberdade, o que pode ter ocasionado o aumento das médias de idade à maturidade encontradas. Os resultados encontrados demonstram que existe diferença na idade a maturidade sexual de diferentes raças e que a utilização de critérios de seleção para precocidade da maturidade sexual é importante para aumentar a eficiência reprodutiva dos rebanhos.

**Palavras-chave:** reprodução, seleção, genética, ejaculado, maturidade sexual.

---

<sup>1</sup>Graduação em Medicina Veterinária na EVZ/UFG. E-mail autor correspondente: isadepaulavet@gmail.com.

<sup>2</sup>Professor(a) Adjunto(a) do Departamento de Zootecnia da EVZ/UFG.

## COMPARAÇÃO DO CONSUMO DE BOVINOS INDUZIDOS EXPERIMENTALMENTE À ACIDOSE RUMINAL POR ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS COM DIETA CONTENDO ADITIVOS

Natalia Sato Minami<sup>1\*</sup>  
Rejane dos Santos Sousa<sup>1</sup>  
Francisco Leonardo Costa de Oliveira<sup>1</sup>  
Mailson Rennan Borges Dias<sup>1</sup>  
Débora Aparecida Cassiano<sup>2</sup>  
Juliana Aparecida Bombardelli<sup>1</sup>  
Enrico Lippi Ortolani<sup>1</sup>

Visando o melhor rendimento da produção de carne os produtores recorrem aos alimentos mais energéticos na dieta, porém o consumo de forma abrupta ou sem uma adaptação previa dessas dietas, têm aumentado os casos de acidose ruminal por ácidos graxos voláteis (ARAGV). Uma alternativa na prevenção desses casos é o uso de aditivos como a monensina e a virginiamicina. O objetivo desse estudo foi comparar o consumo alimentar de animais que receberam aditivos alimentares e foram submetidos a indução de ARAGV. Para tal, foram empregadas 24 novilhas Nelore, canuladas, com cerca de 400 kg de peso corporal. Durante 30 dias os animais receberam uma dieta contendo 75% de feno de capim *coast-cross* e 25% de ração concentrada balanceada, oferecida diariamente na base de 2,5% do peso vivo. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais, sendo adicionado na dieta total, nos 14d antes da indução, os seguintes aditivos: virginiamicina (V) 187,5 mg/animal/dia, monensina (M) 300 mg/animal/d, V + M nas mesmas doses citadas e um grupo controle (C). A acidose foi induzida com administração súbita de polpa cítrica peletizada na cânula ruminal segundo o cálculo  $Y (g) = \text{Peso Vivo}^{0,75} \times 54,7$ . O pH ruminal foi acompanhado por 24h por meio de pHmetro de medição contínua (DASCOR<sup>®</sup>), alojado no saco ventral anterior com aferição a cada cinco minutos. O diagnóstico definitivo de ARAGV foi confirmado com o pH entre 5,6 a 5,1 por tempo mínimo de 3h. O consumo foi registrado durante os 30d de adaptação da dieta balanceada, assim como nas 24, 48 e 72h após a indução da acidose ruminal. A mediana do tempo em que o pH ruminal esteve entre 5,6 e 5,1 foi idêntico nos grupos C (240 min) e M (312 min) (P= 0,93). Apenas um animal do grupo V (55min) e outro V+M (60 min) apresentaram pH ruminal temporariamente inferior a 5,6. Houve redução do consumo em todos os grupos nas primeiras 24h, porém os animais que receberam V na dieta apresentaram maior consumo nas 24h (V:5,78 ± 2,21) e 48h (8,70 ± 1,44) após indução quando comparado aos outros grupos (24h - C: 4,11 ± 1,0; M: 3,25 ± 0,8; V+M: 3,83 ± 1,33 / 48h - C: 8,10 ± 3,1; M: 4,26 ± 2,38; V+M: 7,02 ± 2,13). Nas 72h todos os animais retornaram ao consumo basal (C: 9,67 ± 1,94; V: 9,53 ± 0,79; M: 7,85 ± 1,11; V+M: 8,38 ± 1,56). Podemos concluir que a utilização de virginiamicina foi mais eficiente na recuperação do consumo alimentar de animais submetidos ARAGV.

**Palavras-chave:** ácidos graxos de cadeia curta, virginiamicina, monensina.

---

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ- USP – São Paulo.

<sup>2</sup> Faculdade Max Planck – Campinas

\*E-mail: minaminatalia@usp.br

## CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIS EM OVÁRIOS DE BÚFALAS MURRAH PROVENIENTES DE ABATEDOURO

Nayara Fernanda Silva Marques<sup>1</sup>

Ana Carolina Pedrosa<sup>1</sup>

Alana Belucci Manfrin<sup>1</sup>

Monike Faria Flores<sup>1</sup>

Kenya Costa Peres<sup>1</sup>

Camila Bizarro da Silva<sup>2</sup>

Suellen Miguez González<sup>3\*</sup>

Halim Atique Netto<sup>4</sup>

O estudo da contagem de folículos antrais (CFA) é difundido na espécie bovina com intuito de obter este como parâmetro para identificação de fêmeas com melhor eficiência reprodutiva. Assim, de acordo com a CFA da fêmea, essa é classificada conforme o número de folículos presentes no par de ovários, resultando em grupos de alta, média ou baixa CFA. Os parâmetros relacionados à CFA para búfalas ainda são desconhecidos. Portanto, o objetivo do presente estudo foi determinar um parâmetro de classificação da CFA para os pares de ovários da espécie bubalina provenientes de abatedouro. Os pares de ovários bubalinos (n= 26) foram coletados no abatedouro de São José do Rio Preto e transportados em recipiente térmico a temperatura de 36° C com solução fisiológica 0,9%. Esses foram identificados (esquerdo/direito) e mantidos no banho maria até a contagem folicular conforme visualização macroscópica. Logo, mensurou-se o diâmetro do maior folículo antral presente no ovário, com auxílio da régua Trident<sup>®</sup>. Folículos antrais  $\geq 1$  mm (visíveis a olho nu) presentes nos ovários foram contados para obtenção dos grupos de alta contagem (G-Alta), média (G-Média) e baixa (G-Baixa). A análise estatística para comparação entre a CFA de alta, média e baixa foi realizada utilizando o teste de Fisher, com nível de 5% de significância através do programa estatístico Action 3.1 versão do R 3.0.2 (Campinas, SP, Brasil). Para comparação entre a CFA dos ovários direito e esquerdo utilizou-se o teste T através do mesmo programa estatístico supracitado. Os parâmetros obtidos para CFA do G- Alta foi  $\geq 19$ , assim como para G- Média foi  $9 \leq 18$  e o G- Baixa resultou em  $\leq 8$  folículos, segue respectivamente a quantidade de animais classificados nos grupos: n= 7; n= 11 e n= 8. Na comparação entre as búfalas com CFA alta, média e baixa não houve diferença significativa (p>0,05). Em relação a comparação entre a CFA dos ovários direito e esquerdo entre G-alta e G-média não houve diferença significativa. Porém, houve diferença significativa na comparação entre ovário direito e esquerdo para animais de G-baixa (p<0,05). Portanto, constatamos que as búfalas Murrah apresentaram poucos folículos antrais nos ovários, repercutindo em parâmetros menores para CFA alta, média e baixa. Além disso, as búfalas com CFA baixa demonstraram distinção na quantidade folicular entre os ovários, sugerindo que haja um ovário com maior recrutamento folicular e possível funcionalidade.

**Palavras-chave:** contagem folicular, bubalino, CFA.

---

<sup>1</sup>Graduanda de Medicina Veterinária no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP);

<sup>2</sup>Doutoranda da Universidade Estadual de Londrina (UEL);

<sup>3</sup>Professora Mestre em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP);

<sup>4</sup>Professor Doutor em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP).

\*email do autor correspondente: suellenmgonzalez@gmail.com

## CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIS EM OVÁRIOS DE NOVILHAS NELORE, F1 ANGUS E MESTIÇAS PROVENIENTES DE ABATEDOURO

Ana Luisa Callegari Silva<sup>1</sup>  
Patricia Baltagim Zacheo<sup>1</sup>  
Eduardo dos Santos Rossi<sup>1</sup>  
Camila Bizarro da Silva<sup>2</sup>  
Suellen Miguez González<sup>3</sup>  
Halim Atique Netto<sup>4</sup>

A contagem de folículos antrais (CFA) proporciona a seleção precoce de fêmeas bovinas com melhor eficiência reprodutiva. Essas são classificadas através de um parâmetro estabelecido a partir do número de folículos antrais presentes nos ovários, conforme a CFA, em alta (G-alta), média (G-média) e baixa (G-baixa). Deste modo, o presente estudo tem como objetivo estabelecer um parâmetro único para classificação da CFA de ovários provenientes de abatedouro e comparar diferentes raças bovinas: Nelore, F1 Angus e Mestiças. Os pares de ovários de novilhas Nelore (n= 62), F1 Angus (n = 62) e mestiças (n= 62) foram obtidos de abatedouros localizados em São José do Rio Preto e Barretos-SP. Em recipiente térmico à 36°C transportou-se os ovários com solução fisiológica 0,9%, devidamente identificados em direito e esquerdo. Logo, foi realizada a contagem macroscópica dos folículos antrais ( $\geq 1$ mm) e mensurado o diâmetro do maior e menor folículo antral com auxílio da régua Trident<sup>®</sup>. A análise estatística para comparação entre a CFA das novilhas Nelore, Mestiças e F1 Angus foi realizada utilizando o teste de Fisher, com nível de 5% de significância através do programa estatístico Action 3.1 versão do R 3.0.2 (Campinas, SP, Brasil). O parâmetro obtido para classificação das fêmeas quanto à CFA de ambos os ovários foi de: alta ( $\geq 70$ ) folículos, média ( $\geq 31 \leq 69$ ) e baixa ( $\leq 30$ ) folículos. Deste modo, a quantidade das novilhas F1 Angus agrupadas conforme a classificação proposta foi G-alta (n= 12), G-média (n= 33) e G-baixa (n= 17). Já para as novilhas Nelore obtivemos animais de CFA alta (n= 11), média (n= 29) e baixa (n= 22). E quanto as novilhas Mestiças constatamos a CFA de alta (n= 4), média (n= 32) e baixa (n= 26) fêmeas. Para CFA G-baixa a comparação entre novilhas Nelore e Mestiça resultou em  $p= 0,549$ , Nelore e Angus em  $p= 0,789$  e Mestiça e Angus no  $p= 0,387$ . Enquanto que para CFA G-alta, as comparações entre novilhas Nelore e Mestiça foi de  $p = 0,534$ , Nelore e Angus com  $p= 0,466$  e Mestiça e Angus em  $p= 0,914$ . Deste modo, na comparação entre novilhas Nelore, F1 Angus e Mestiça com CFA baixa e alta não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ). O método *in vitro* de contagem de folículos antrais de acordo com o parâmetro estabelecido demonstrou equivalência entre a classificação (alta, média e baixa) para as novilhas das raças estudadas. Tais resultados podem auxiliar na obtenção de parâmetros para CFA *in vivo* e assim dispor de um novo método de seleção das fêmeas com melhores índices reprodutivos.

**Palavras-chave:** bovinos, folículos ovarianos, CFA.

---

<sup>1</sup>Graduando de Medicina Veterinária no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP);

<sup>2</sup>Doutoranda da Universidade Estadual de Londrina (UEL);

<sup>3</sup>Professora Mestre em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP);

<sup>4</sup>Professor Doutor em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP).

\*email do autor correspondente: suellenmgonzalez@gmail.com

## CORRELAÇÃO ENTRE O NÚMERO DE FOLÍCULOS ANTRAIS DE OVÁRIOS DE ABATEDOURO COM A PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES DE NOVILHAS F1 ANGUS E NELORE

Eduardo dos Santos Rossi<sup>1</sup>  
Ana Luisa Callegari Silva<sup>1</sup>  
Patricia Baltagim Zacheo<sup>1</sup>  
Camila Bizarro da Silva<sup>2</sup>  
Suellen Miguez González<sup>3</sup>  
Halim Atique Netto<sup>4</sup>

O objetivo do presente estudo foi correlacionar a contagem de folículos antrais (CFA) dos pares de ovários provenientes de abatedouro com as taxas de clivagem e blastocisto das raças Nelore e F1 Angus. Os pares de ovários de novilhas F1 Angus (n= 33) e nelore (n= 53) foram coletados no abatedouro de Barretos-SP e transportados em recipiente térmico à 36°C com solução fisiológica 0,9%. Esses foram identificados (esquerdo/direito) e mantidos no banho maria até a contagem folicular conforme visualização macroscópica. Folículos antrais  $\geq 1$  mm presentes nos ovários foram contados para obtenção dos grupos de alta contagem (G-Alta), média (G-Média) e baixa (G-Baixa). Todos os folículos presentes nos ovários foram aspirados para recuperação oocitária, nos quais foram classificados conforme a quantidade de células do *cumulus oophorus*. Os oócitos aspirados dos grupos de alta, média e baixa CFA foram submetidos a fertilização e cultivo *in vitro* para análise da taxa de clivagem. A análise estatística para comparação entre CFA das novilhas F1 Angus e Nelore foi realizada utilizando o teste T student, com nível de 5% de significância através do programa estatístico Action 3.1 versão do R 3.0.2 (Campinas, SP, Brasil). Os parâmetros obtidos para CFA do G- Alta foi  $\geq 70$ , assim como para G- Média foi de  $\geq 31 \leq 69$  e o G- Baixa resultou em  $\leq 30$  folículos. Em relação a classificação da CFA das novilhas F1 Angus de alta (n= 3), média (n=20) e baixa (n=10) não houve diferença significativa entre a CFA das novilhas Nelore de alta (n=9), média (n=28) e baixa (n=16). As taxas de clivagem e blastocisto de novilhas F1 Angus foram: G-Alta (26% e 32%), G-Média (26% e 46%) e G-Baixa (23% e 27%; respectivamente). Já para as novilhas Nelore obtivemos: G-Alta (24% e 28%), G-Média (25% e 23%) e G-Baixa (24% e 13%; taxa clivagem e blastocisto). Nas taxas de clivagem de ambas as raças, não houve diferença percentual entre os grupos de CFA. Porém, em relação as taxas de blastocisto para a raça F1 Angus o grupo com CFA média apresentou melhor resultado. E, para a raça Nelore a melhor percentagem foi do grupo de alta CFA. Portanto, o parâmetro sugerido para CFA alta ( $\geq 70$ ), média ( $\geq 31 \leq 69$ ) e baixa ( $\leq 30$  folículos) foram compatíveis para ambas às raças de novilhas. Além disso, as fêmeas F1 Angus apresentaram melhores resultados na produção *in vitro* de embriões.

**Palavras-chave:** PIV, contagem folicular, bovino.

---

<sup>1</sup>Graduando de Medicina Veterinária no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP);

<sup>2</sup>Doutoranda da Universidade Estadual de Londrina (UEL);

<sup>3</sup>Professora Mestre em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP);

<sup>4</sup>Professor Doutor em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP).

\*email do autor correspondente: suellenmgonzalez@gmail.com

## DOSAGEM SÉRICA DE TESTOSTERONA E CORTISOL DE CARNEIROS DAS RAÇAS SANTA INÊS E TEXEL DURANTE 48 HORAS

Josiane Adelaide Camargo Lourenção<sup>1</sup>

Nathália Genú Nakazato<sup>1</sup>

Gabriela Amorim Campos<sup>1</sup>

Victor Filgueiras Cruz Garcia<sup>1</sup>

Ariane Dantas<sup>3</sup>

Rogério Antônio de Oliveira<sup>2</sup>

Nereu Carlos Prestes<sup>1</sup>

Eunice Oba<sup>1</sup>

Os ovinos são animais poliéstricos de dias curtos e seu ciclo período reprodutivo inicia-se na época em que há um decréscimo na luminosidade. Na ausência de luz a glândula pineal, responsável por sintetizar e secretar melatonina, regula a atividade fisiológica do animal e o seu ciclo reprodutivo. Entretanto, em ovinos ainda não há relatos sobre a influência do cortisol e testosterona na eficiência reprodutiva em ciclos circadianos no período de transição (inverno/primavera). Foram utilizados 12 carneiros, separados por raças, sendo seis Santa Inês e seis Texel, todos criados na região de Botucatu - São Paulo. Colheu-se sangue por venopunção da jugular a cada duas horas durante 48 horas. As amostras foram centrifugadas a 44,8 G para obtenção do soro. As concentrações do cortisol e da testosterona foram mensuradas por radioimunoensaio com uso de kit comercial. Foi realizado o acompanhamento da temperatura ambiente, que variaram entre 18°C durante o dia e 10°C ao entardecer e no período noturno. Para análise estatística utilizou-se Teste de Tukey-Kramer considerando diferença estatística ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença entre raças, momentos de coleta, bem como interação significativa na concentração sérica de testosterona ( $P > 0,05$ ). Já a concentração de cortisol diferiu apenas entre os momentos de coleta ( $P < 0,0001$ ) nas primeiras 24 horas. Conclui-se que apesar do período de realização do estudo coincidir com a época de aumento da temperatura e luminosidade ambiental, as alterações nos níveis de testosterona em carneiros criados na região, ainda não são fisiologicamente perceptíveis. Com relação a concentração de cortisol acredita-se que as diferenças observadas entre os momentos da coleta estejam relacionadas a constante manipulação dos animais durante a realização das punções. Contudo, as alterações não se mantiveram após as primeiras 24 horas, acredita-se que houve uma adaptação dos animais aos procedimentos no decorrer do estudo.

**Palavras-Chave:** ovinos, reprodução, ciclo cicardiano, sazonalidade reprodutiva.

---

<sup>1</sup>Departamento de Radiologia Veterinária e Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Unesp/Campus Botucatu.

Correspondência: josianebiologiabtu@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências - Unesp/Campus Botucatu.

<sup>3</sup>Escola Técnica Estadual - Etec Dona Sebastiana de Barros, São Manuel.



## INFLUÊNCIA DA LACTAÇÃO EM PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS EM BÚFALOS DA RAÇA MURRAH

Roberto Rodrigues da Rosa Filho<sup>1</sup>  
Nelcio Antonio Tonizza de Carvalho<sup>2</sup>  
Jose Ison Silva Menezes Junior<sup>3</sup>  
Flavio César Viani<sup>1</sup>  
Paula Nunes Rosato<sup>1</sup>

Os parâmetros da hematologia são ferramentas de grande valor para a medicina veterinária, já que auxilia no diagnóstico, prognóstico e monitoramento da eficácia do tratamento, mas há uma falta de estudo avaliação hematológica em búfalos. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da lactação na contagem dos elementos figurados do sangue e da proteína plasmática em fêmeas bubalinas da raça Murrah e para tal, foram utilizadas 47 fêmeas de bubalinos da referida raça, sendo 25 não lactantes e 22 lactantes. As amostras de sangue foram coletadas por punção venosa caudal, sendo armazenadas em tubo de plástico contendo anticoagulante EDTA. Após a coleta, o sangue foi submetido à avaliação hematimétrica pelo método de impedância (BC-2800VetMindray®, Shenzhen, China, 2005-2007) para determinar o número total de hemácias, hemoglobina, leucócitos e plaquetas. Os valores de hematócrito foram obtidos por centrifugação em tubo de microhematócrito, a concentração de proteína plasmática através de refratometria. Para obtenção dos valores, relativo e absoluto dos tipos de leucócitos foram confeccionadas lâminas de esfregaço e os mesmos submetidos à avaliação microscópica para contagem diferencial em 100 células. Foram calculados médias e desvio padrão das médias obtidas para cada uma das análises avaliadas, e estas avaliadas pelo teste de ANOVA e as diferenças estatísticas verificadas pelo teste T com  $p < 0,05$ . Houve diminuição estatisticamente significativa dos valores médios de hemácias nas fêmeas lactantes quando comparados com as não lactantes ( $5,90 \times 10^6/\mu\text{L} \pm 0,29$ ;  $6,69 \times 10^6/\mu\text{L} \pm 0,21$ ), hemoglobina ( $12,27 \text{ g/dL} \pm 0,46$ ;  $14,52 \text{ g/dL} \pm 0,37$ ), hematócrito ( $30,00\% \pm 1,36$ ,  $37,28\% \pm 1,23$ ), leucócitos totais ( $10.063,64 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 661,65$ ;  $12.200.00 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 819,91$ ), neutrófilos segmentados ( $5.591.86 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 490,93$ ;  $6.564 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 415,55$ ) e proteína plasmática ( $8,08 \text{ Mg/dL} \pm 0,17$ ;  $8,39 \text{ mg/dL} \pm 0,16$ ), respectivamente. No entanto, os valores médios obtidos para as contagens de plaquetas, eosinófilos, monócitos e linfócitos não apresentaram diferença estatística entre os grupos. Concluímos que a lactação afeta alguns dos parâmetros hematológicos das búfalas, indicando que ocorrem mudanças no sistema hematopoietico durante este período e, portanto, para a correta interpretação de achados hematológicos devem ser considerados diferentes valores de referência a depender da presença ou ausência da fase de lactação.

**Palavras-chave:** búfalas, hematologia, lactação, Murrah.

---

<sup>1</sup>Centro Universitário Monte Serrat, UNIMONTE, Rua: Comendador Martins, 52, 11015-530, Santos, Brasil, betorrf@gmail.com

<sup>2</sup>Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Registro, Polo Regional do D.S.A do Vale do Ribeira/APTA, 11900000, Registro, Brasil

<sup>3</sup>Anclivet Laboratório Veterinário, Rua Goiás, 118, 11050-100, Santos, Brasil

## LAMINITE AGUDA DECORRENTE DE ACIDOSE RUMINAL POR OLIGOFRUTOSE EM BOVINOS NELORE

Rejane dos Santos Sousa<sup>1</sup>  
Francisco Leonardo Costa de Oliveira<sup>1</sup>  
Mailson Rennan Borges Dias<sup>1</sup>  
Natalia Sato Minami<sup>1</sup>  
Leonardo do Amaral<sup>2</sup>  
Juliana Aparecida Alves dos Santos<sup>3</sup>  
Paulo Giovane Limberger Pacheco<sup>4</sup>  
Enrico Lippi Ortolani<sup>1</sup>

Estudos de manejo de bovinos confinados constataram que a acidose ruminal é a segunda enfermidade mais comum nos confinamentos brasileiros, seguido da laminite. Evidenciando que erros de manejo vem predispondo o surgimento de transtornos digestivos e locomotores, devido ao emprego de quantidades exageradas de concentrados energéticos na dieta. O presente trabalho objetivou avaliar o aparecimento de laminite aguda em bovinos Nelore em decorrência da indução de acidose ruminal devido a administração de oligofruose. Foram utilizados 29 bovinos Nelore cânulados, com três anos de idade, pesando  $474,51 \pm 58,49$  kg, negativos para o teste de sensibilidade pelo pinçamento das úngulas dos membros anteriores e sem claudicação aparente. Os bovinos receberam dieta basal calculada em 2,3% do peso vivo, composta de 60% da matéria seca de feno de capim *Coast-cross* e 40% de ração concentrada com 14% de proteína bruta, a qual foi fornecida uma vez ao dia. Os bovinos foram suplementados com 60 gramas de suplemento mineral comercial por dia contendo macro e microelementos e tiveram livre acesso à água. A indução da acidose láctica ruminal foi realizada pela administração intraruminal de 0,765g/kg de oligofruose duas vezes ao dia por três dias consecutivos na fase de adaptação, seguida de dose única de 10,71g/kg de oligofruose administrada 72 horas após o início da adaptação para a indução da acidose ruminal. Durante o período de adaptação os animais foram submetidos ao teste de sensibilidade pelo pinçamento das úngulas dos membros anteriores diariamente e após a dose maior foram avaliados a cada seis horas durante as 24 horas iniciais e posteriormente a cada 12 horas até 72 horas. Nesses momentos também foram avaliados o escore de locomoção dos animais, atribuindo valores de 1 a 5: 1 ausência de claudicação, 2 claudicação branda, 3 claudicação moderada, 4 claudicação propriamente dita e 5 claudicação grave. Dos 29 animais utilizados no estudo, 27,58% (n= 8) apresentaram sensibilidade na 24<sup>a</sup> h, 10,35% (n= 3) na 36<sup>a</sup> h, 17,25% (n= 5) na 48<sup>a</sup> h, 20,68% (n= 6) na 72<sup>a</sup> h, 17,25% (n= 5) na 60<sup>a</sup> h e 6,89% (n= 2) não apresentaram sensibilidade. Dos 27 bovinos que apresentaram sensibilidade ao pinçamento, 23 (85,18%) apresentaram escore de locomoção 2; três (11,11%) escore 3 e um animal (3,70%) escore 4. A indução de acidose por oligofruose foi eficiente em provocar quadros agudos de laminite em bovinos Nelore, evidenciados tanto pela presença de sensibilidade nos membros como pela claudicação.

**Palavras-chave:** acidose, rúmen, claudicação, confinamento.

---

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ- USP – São Paulo. <sup>2</sup>Centro Educacional Anhanguera - Leme. <sup>3</sup>Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, FZEA –USP- Pirassununga <sup>4</sup>Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz –ESALQ- USP- Piracicaba

## PESQUISA DE AGLUTININAS ANTI-LEPTOSPÍRICAS EM BUBALINOS NO MUNICÍPIO DE BOFETE-SP

Leonardo Sauer<sup>1</sup>  
Karine Bott Mantovan<sup>1</sup>  
Mariana Aimee Ramos Xavier da Silva<sup>1</sup>  
Mariana Zanchetta e Gava<sup>1</sup>  
Dália Monique Ribeiro Machado<sup>2</sup>  
Paula Ferraz de Camargo Zanotto<sup>2</sup>  
Leandro Temer Jamas<sup>3</sup>  
Hélio Langoni<sup>4</sup>

A Leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial e incidência variável de acordo com a região e época do ano. Acomete mamíferos por contato direto, ou indireto com urina contaminada. É causada por diferentes sorovares de *Leptospira* spp. No Brasil a bubalinocultura é uma prática rentável, além de estar em plena expansão. Na epidemiologia dessa enfermidade os búfalos podem atuar como reservatório do agente. Os sorovares predominantes para espécie são o *Hardjo*, *Wolffi*, *Pomona*, *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola* e *Gryppotyphosa*. O diagnóstico sorológico pode ser realizado pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM). O objetivo do presente estudo foi avaliar a presença de aglutininas antileptospíricas em bubalinos no município de Bofete-SP. Realizou-se a SAM em 57 amostras de soro de búfalos procedentes de Bofete-SP, no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses da UNESP, Botucatu. Foram testados dezessete sorovares de leptospira: *Bratislava*, *Castellonis*, *Canicola*, *Djasiman*, *Gryppotyphosa*, *Copenhageni*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Pyrogenes*, *Wolffi*, *Tarassovi*, *Hardjo prajitino*, *Mini*, *CTG*, *Hardjo bovis*, *Guaricura*. Em microplaca, foram pipetados os soros diluídos a 1:50, apresentando positividade quando 50% ou mais de leptospiros estavam aglutinadas em relação aos respectivos controles. Considerou-se como ponto de corte 1:100. Os soros reagentes na prova de triagem foram submetidos à prova de titulação. Das 57 amostras, 4 (7,01%) foram reagentes a pelo menos um sorovar e 53 (92,99%) não foram reagentes. Os sorovares reagentes foram: *Hardjoprajitino* (n= 3), *bovis* (n= 1), *CTG* (n= 1). Em um dos casos ocorreu reação cruzada para mais de um sorovar. Casos de coaglutinação podem ocorrer, indicando reações cruzadas entre os sorovares. No presente trabalho, os bubalinos não apresentavam sintomatologia sugestiva para leptospirose. Em estudos realizados com bubalinos os sorovares mais frequentemente encontrados são: *Hardjo*, *Pomona*, *Wolffi*. Os resultados apresentados sugerem a participação dos búfalos na cadeia epidemiológica da doença, podendo ser, inclusive, portadores renais do agente. Conclui-se pela positividade em quarto (7,01%) animais e coaglutinação em um deles, que os bubalinos podem atuar como reservatórios de leptospiros, eliminando-as no ambiente, servindo como fonte de infecção a outros animais, bem como para as pessoas que os manejam.

**Palavras-chave:** búfalo, bactéria, leptospirose, zoonose.

---

<sup>1</sup>Residência em Medicina Veterinária Programa de Aprimoramento profissional - FMVZ UNESP, Botucatu. E-mail: leosauer11@hotmail.com

<sup>2</sup>Residência em Área Profissional da Saúde em Medicina Veterinária - FMVZ UNESP Botucatu;

<sup>3</sup>Doutorando do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública - FMVZ UNESP Botucatu;

<sup>4</sup>Professor Titular do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública - FMVZ UNESP Botucatu.

## **PREVALÊNCIA DE ALTERAÇÕES NAS AMPOLAS E PRÓSTATA DE TOUROS DE RODEIO ATRAVÉS DE EXAME ULTRASSONOGRÁFICO**

Daniele Camargos Arantes<sup>1</sup>  
Thayná Cristine Motta Arruda<sup>1</sup>  
Valter Rocha Polini<sup>1</sup>  
Silvio Luiz Nascimento Meneghetti<sup>1</sup>  
Camila Bizarro da Silva<sup>2</sup>  
Suellen Miguez González<sup>3\*</sup>  
Halim Atique Netto<sup>4</sup>

No exame andrológico de touros a palpação das glândulas anexas é realizada com intuito de obter parâmetros de higidez ou alterações patológicas que repercutam na eficiência reprodutiva desse. O exame ultrassonográfico das glândulas anexas de bovinos pouco é empregado na rotina do exame andrológico. Assim, poucos trabalhos relatam a mensuração ultrassonográfica e ainda sugere-se que o diagnóstico das afecções de tais glândulas seja subestimado. O objetivo do presente estudo é descrever as mensurações ultrassonográficas da próstata e ampolas e relatar a prevalência das alterações dessas glândulas em touros de rodeio. Touros mestiços (n = 50) de 3-8 anos de idade, pertencentes à propriedade localizada em Icém-SP, foram avaliados através da palpação e ultrassonografia transretal. A condição corporal média dos animais foi de 2,5 a 3,5 (escala 1-5). Esses animais de rodeio permaneceram em piquetes em lotes formados conforme a idade e desempenho atlético. As glândulas anexas (próstata e ampolas) foram palpadas e delimitadas quanto ao tamanho e higidez. Além disso, avaliou-se a sensibilidade quanto a dor dessas. Após, tais glândulas foram escaneadas e mensuradas de ponta a ponta com ultrassom (Sonoscape, China), probe linear, modo-B, com frequência de 7,5 Hz, por via transretal. A análise estatística para comparação das mensurações entre ampolas direita e esquerda foi realizada através do teste de análise de variância (ANOVA), com nível de 5% de significância através do programa estatístico Action 3.1 versão do R 3.0.2 (Campinas, SP, Brasil). A prevalência de alterações das ampolas direita e esquerda foi de 16% (8/50), no quais incluem fibrose e assimetria discreta dessas. No entanto, não houve diferença estatística na comparação entre as mensurações das ampolas ( $p > 0,05$ ). Em relação a próstata, houve diminuição ou ausência de sensibilidade à palpação dessa em 28% (14/50) dos touros avaliados. Portanto, consideramos relevante a prevalência de alterações da próstata e ampolas nos touros de rodeio. Tais resultados obtidos com o exame ultrassonográfico podem auxiliar em melhor acuidade no exame dessas glândulas, com intuito de selecionar touros com melhor eficiência reprodutiva.

**Palavras-chave:** glândulas anexas, bovino, ultrassom.

---

<sup>1</sup>Graduando de Medicina Veterinária no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP);

<sup>2</sup>Doutoranda da Universidade Estadual de Londrina (UEL);

<sup>3</sup>Professora Mestre em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP);

<sup>4</sup>Professor Doutor em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP).

\*email do autor correspondente: suellenmgonzalez@gmail.com

## **PREVALÊNCIA DE ALTERAÇÕES NAS VESÍCULAS SEMINAIS EM TOUROS DE RODEIO ATRAVÉS DE EXAME ULTRASSONOGRÁFICO**

Thayná Cristine Motta Arruda<sup>1</sup>  
Daniele Camargos Arantes<sup>1</sup>  
Valter Rocha Polini<sup>1</sup>  
Silvio Luiz Nascimento Meneghetti<sup>1</sup>  
Camila Bizarro da Silva<sup>2</sup>  
Suellen Miguez González<sup>3</sup>  
Halim Atique Netto<sup>4</sup>

A avaliação quanto a higidez das glândulas anexas de touros é realizada através da palpação transretal e poucos profissionais dispõem do exame ultrassonográfico para escanear e mensurar essas. Assim, há poucos trabalhos sobre tais dados e que relatam a prevalência de alterações das glândulas anexas em touros de rodeio no Brasil. O objetivo do presente estudo é descrever as mensurações ultrassonográficas das vesículas seminais e relatar a prevalência das alterações dessas glândulas em touros de rodeio. Touros mestiços (n= 50) de 3-8 anos de idade, pertencentes à propriedade localizada em Icém-SP, foram avaliados através da palpação e ultrassonografia transretal. A condição corporal média dos animais foi de 2,5 a 3,5 (escala 1-5). Esses animais de rodeio permaneceram em piquetes com lotes formados conforme a idade e desempenho atlético. As glândulas anexas (vesículas seminais) foram palpadas e delimitadas quanto ao tamanho e higidez. Além disso, avaliou-se a sensibilidade quanto a dor das vesículas seminais. Após, vesículas seminais foram escaneadas e mensuradas de ponta a ponta com ultrassom (Sonoscape, China), probe linear, modo-B, com frequência de 7,5 Hz, por via transretal. A análise estatística para comparação das mensurações entre as vesículas seminais direita e esquerda foi realizada através o teste de análise de variância (ANOVA), com nível de 5% de significância através do programa estatístico Action 3.1 versão do R 3.0.2 (Campinas, SP, Brasil). A prevalência de alterações das vesículas seminais direita e esquerda foi de 30% (15/50), no quais incluem fibrose e assimetria dessas. Assim, houve diferença estatística na comparação entre as mensurações das vesículas seminais direita e esquerda dos touros de rodeio ( $p < 0,05$ ). Desde modo, os resultados do presente estudo demonstraram que a prevalência de alterações nas vesículas seminais em touros de rodeio é alta. Sugere-se que o comportamento de sodomia entre os touros de rodeio possa predispor as afecções encontradas nas vesículas seminais. Além disso, sugerimos que o exame ultrassonográfico poderá auxiliar na avaliação das vesículas seminais, repercutindo na seleção fidedigna de touros para reprodução.

**Palavras-chave:** glândulas anexas, ultrassom, bovino.

---

<sup>1</sup>Graduando de Medicina Veterinária no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP);

<sup>2</sup>Doutoranda da Universidade Estadual de Londrina (UEL);

<sup>3</sup>Professora Mestre em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP);

<sup>4</sup>Professor Doutor em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP).

\*email do autor correspondente: suellenmgonzalez@gmail.com

## RELAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE ESTRUTURAS OVARIANAS COM A PRESENÇA DE PROCESSOS INFECCIOSOS UTERINOS EM FÊMEAS BOVINAS REPETIDORAS DE CIO

Ana Beatriz Marques de Almeida<sup>1</sup>

Mateus Anastacio da Silva<sup>2</sup>

Denis Vinicius Bonato<sup>2</sup>

Camila Bizarro da Silva<sup>2</sup>

Werner Okano<sup>1</sup>

No Brasil, cerca de 30% das vacas são descartadas anualmente por apresentarem problemas reprodutivos, como a repetição de cio. A repetição de estros é considerada um distúrbio, com causas multifatoriais não esclarecidas totalmente, podendo estar relacionada a vários segmentos do trato reprodutivo da fêmea. Nesse contexto o presente estudo tem por objetivo relacionar a contagem de estruturas ovarianas (folículos pré-antrais, antrais e corpos lúteos) com infecções uterinas que podem prejudicar a ovulação e a eficiência reprodutiva. Foram coletados tratos reprodutivos de 51 fêmeas bovinas mestiças de corte com histórico de repetição de cio, abatidas em frigorífico no município de Iguaraçu - PR. A partir de fragmentos do córtex ovariano destas vacas foram confeccionadas lâminas histológicas coradas com Hematoxilina e Eosina. Por meio de leitura das lâminas procedeu-se a quantificação de folículos pré-antrais, antrais e corpos lúteos, sendo consideradas apenas as estruturas encontradas dentro de uma área delimitada em 1 cm<sup>2</sup> de cada fragmento ovariano. Do total de 51 tratos reprodutivos coletados, 26 foram escolhidos aleatoriamente, nos quais foi realizado *swab* uterino nas peças ainda frescas, para proceder a cultura bacteriana e evidenciar algum tipo de infecção uterina. Os dados passaram por análise estatística prévia de média e variância no Microsoft Excel; para os testes T, correlação de Spearman e teste qui-quadrado foi utilizado o software Bioestat<sup>®</sup> 5.0. Não houve diferenças entre ovário direito (OD) e esquerdo (OE) para populações de folículos antrais (OD= 181 e OE= 181) e pré-antrais (OD= 875 e OE= 808), porém houve divergência de número de corpos lúteos (OD= 193 e OE= 160) entre ovários direitos e esquerdos (p= 0,0052). Notou-se uma correlação positiva entre populações de folículos pré-antrais e antrais (rs= 0,56). Das vacas submetidas à cultura microbiológica detectou-se que 92% possuíam bactérias intrauterinas. Não houve associação entre contaminação uterina e presença de corpos lúteos no ovário (p= 0,92). De acordo com os dados obtidos referentes à histologia ovariana, identificou-se que a atividade cíclica dos ovários se apresentou histologicamente normal, em razão das grandes populações de folículos antrais, pré-antrais e corpos lúteos. Embora a maioria das fêmeas bovinas tenha apresentado crescimento bacteriano na cultura microbiológica, tais infecções não exerceram influência negativa sobre os ovários, demonstrando que a causa da repetição não foi relacionada com alterações na população folicular e presença de corpos lúteos.

**Palavras-chave:** folículos ovarianos, corpos lúteos, problemas reprodutivos, contaminação uterina.

---

<sup>1</sup>Universidade Norte do Paraná. UNOPAR. Arapongas, Paraná, Brasil. Correspondência: biamarquesvet30@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Estadual de Londrina. UEL. Londrina, Paraná, Brasil.

## REPETIBILIDADE DA CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIS EM NOVILHAS F1 SANTA GERTRUDIS

Patricia Baltagim Zacheo<sup>1</sup>  
Ana Luisa Callegari Silva<sup>1</sup>  
Eduardo dos Santos Rossi<sup>1</sup>  
Edmar Eduardo Bassan Mendes<sup>2</sup>  
Fernando Zanovello<sup>2</sup>  
Camila Bizarro da Silva<sup>3</sup>  
Suellen Miguez González<sup>4</sup>  
Halim Atique Netto<sup>5</sup>

A população de folículos antrais da fêmea bovina possui uma grande variabilidade individual, possibilitando a classificação do animal pela contagem de folículos antrais (CFA) através de um único exame ultrassonográfico dos ovários. Portanto, o objetivo do presente estudo visa avaliar a repetibilidade do número de folículos antrais de novilhas F1 Santa Gertrudis e comparar a CFA entre os ovários direito e esquerdo. O trabalho utilizou fêmeas bovinas F1 Santa Gertrudis (n= 32), com idade de 12 a 16 meses, pertencentes a uma propriedade localizada em São José do Rio Preto-SP. Todas as novilhas foram avaliadas cuidadosamente de acordo com a condição corporal e parâmetros de saúde antes do exame ultrassonográfico. Os pares de ovários foram escaneados de ponta a ponta com ultrassom (Sonoscape, China), probe linear, modo-B, frequência de 7,5 Hz, por via transretal, uma vez por semana, totalizando 5 avaliações. Todos os folículos antrais  $\geq 3$  mm presentes nos ovários foram contados. Após a avaliação com ultrassom, as fêmeas foram designadas para três grupos de acordo com o número de folículos antrais em fêmeas em alta (G-alta), média (G-média) e baixa (G-baixa). A análise estatística para obtenção da repetibilidade das novilhas F1 Santa Gertrudis foi realizada através Gage R&R Study-ANOVA, com nível de 5% de significância através do programa estatístico Minitab. Para comparação entre a CFA dos ovários direito e esquerdo utilizou-se o teste estatístico de análise de variância (ANOVA) através do programa estatístico Action 3.1 versão do R 3.0.2 (Campinas, SP, Brasil). Os parâmetros obtidos para determinação da CFA para o G-alta foi  $\geq 36$  folículos presentes em ambos os ovários, assim como para G-média foi de  $\leq 26 \geq 35$  e G-baixa resultou em  $\leq 25$  folículos. A quantidade de animais classificados em cada grupo, respectivamente foram n = 11; n = 16 e n = 5. A repetibilidade dos dados no decorrer das diferentes semanas foi de 57,22%. Em relação a comparação entre a CFA dos ovários direito e esquerdo entre G-alta, G-média e G-baixa não houve diferença significativa. Desta forma, concluímos que a repetibilidade da CFA de novilhas F1 Santa Gertrudis mostrou-se de moderada à alta. Além disso, sugerimos que o exame ultrassonográfico demonstrou-se eficiente para avaliação da CFA.

**Palavras-chave:** folículos ovarianos, bovino, repetição, ultrassom.

---

<sup>1</sup>Graduando de Medicina Veterinária no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP);

<sup>2</sup>Pesquisador Científico do APTA Regional Centro Norte – UPD São José do Rio Preto;

<sup>3</sup>Doutoranda em Ciência Animal na Universidade Estadual de Londrina (UEL);

<sup>4</sup>Professora Mestre em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP);

<sup>5</sup>Professor Doutor em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP).

\*email do autor correspondente: suellenmgonzalez@gmail.com

## REPETIBILIDADE DA CONTAGEM DE FOLÍCULOS ANTRAIOS EM VACAS MESTIÇAS

Lais Botós Brambati<sup>1</sup>  
Caroline Felipe de Oliveira<sup>1</sup>  
Karina de Souza Mendes<sup>1</sup>  
Flávio Antonio Barca Junior<sup>2</sup>  
Camila Bizarro da Silva<sup>3</sup>  
Suellen Miguez González<sup>4</sup>  
Halim Atique Netto<sup>5</sup>

A população de folículos antrais da fêmea bovina possui uma grande variabilidade individual, possibilitando a classificação do animal pela contagem de folículos antrais (CFA) com um único exame ultrassonográfico dos ovários. Portanto, o objetivo do presente estudo visa avaliar a repetibilidade do número de folículos antrais de vacas mestiças e comparar a CFA entre os ovários direito e esquerdo. Vacas mestiças (n=17), com idade de 3 a 5 anos, pertencentes a uma propriedade localizada em São José do Rio Preto - SP. Todas as vacas foram avaliadas cuidadosamente de acordo com a condição corporal e parâmetros de saúde antes do exame. Os pares de ovários foram escaneados de ponta a ponta com ultrassom (Sonoscape, China), probe linear, modo-B, frequência de 7,5 Hz, por via transretal, uma vez por semana, totalizando 2 avaliações. Todos os folículos antrais  $\geq 3$  mm presentes nos ovários foram contados. Após a avaliação com ultrassom, as fêmeas foram designadas para três grupos de acordo com o número de folículos antrais em fêmeas com alta (G-alta), média (G-média) e baixa (G-baixa). A análise estatística para obtenção da repetibilidade das vacas foi realizada através Study-ANOVA, com nível de 5% de significância através do programa estatístico Minitab. Para comparação entre a CFA dos ovários direito e esquerdo utilizou-se o teste T através do programa estatístico Action 3.1 versão do R 3.0.2 (Campinas, SP, Brasil). Os parâmetros obtidos para CFA de G-alta foi  $\geq 31$ , assim como para G-média foi de  $\leq 16 \geq 30$  e G-baixa resultou em  $\leq 15$  folículos, segue respectivamente a quantidade de animais classificados nos grupos: n = 4; n = 9 e n = 4. A repetibilidade dos dados no decorrer das diferentes semanas foi de 43,05%. Em relação a comparação entre a CFA dos ovários direito e esquerdo entre G-alta e G-média não houve diferença significativa. Porém, houve diferença significativa na comparação entre ovário direito e esquerdo para animais do G-baixa ( $p < 0,05$ ). Portanto, concluímos que a repetibilidade da CFA de vacas mestiças mostrou-se de baixa a moderada e que fêmeas com menor quantidade de folículos apresentaram maior discrepância desses entre os ovários em relação aos demais grupos. Sugerimos que a discrepância da CFA nos ovários direito e esquerdo possa estar relacionado com o maior diâmetro dos folículos antrais ou mesmo com a quantidade distinta de folículos pré-antrais entre os ovários.

**Palavras-chave:** contagem folicular, bovino, repetição.

---

<sup>1</sup>Graduanda de Medicina Veterinária no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP)

<sup>2</sup>Doutor em Ciência Animal pela Universidade Estadual de Londrina (UEL)

<sup>3</sup>Doutoranda da Universidade Estadual de Londrina (UEL)

<sup>4</sup>Professora Mestre em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP).

<sup>5</sup>Professor Doutor em Reprodução e Obstetrícia Animal no Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP).

\*email do autor correspondente: suellenmgonzalez@gmail.com



## USO DA MONENSINA E VIRGINAMICINA NA PREVENÇÃO E CONTROLE DA ACIDOSE LÁCTICA RUMINAL EM BOVINOS DE CORTE

Francisco Leonardo Costa de Oliveira<sup>1</sup>  
Rejane dos Santos Sousa<sup>1</sup>  
Carolina Akiko Sato Cabral de Araújo<sup>2</sup>  
Juliana Aparecida Alves dos Santos<sup>3</sup>  
Natalia Sato Minami<sup>1</sup>  
Mailson Rennan Borges Dias<sup>1</sup>  
Luis Felipe Prada e Silva<sup>1</sup>  
Enrico Lippi Ortolani<sup>1</sup>

O confinamento de terminação é uma das principais estratégias para o aumento da produtividade da bovinocultura de corte nacional. Isso ocorre devido ao incremento na taxa de desfrute dos rebanhos, redução da idade ao abate e melhora na qualidade da carne produzida. A adoção de dietas ricas em energia predispõe o surgimento de quadros de acidose ruminal, sendo as medidas preventivas baseadas no manejo nutricional adequado e no uso de aditivos antimicrobianos que interferem no crescimento bacteriano ruminal. Entre os aditivos destaca-se a virginiamicina (VM) e a monensina (M). O presente estudo avaliou a ação da virginiamicina e da monensina sódica na prevenção e controle da acidose láctica ruminal (ALR) em bovinos. Para tal, foram utilizadas 18 fêmeas bovinas, da raça Nelore, providos de cânula ruminal, com cerca de 300 kg de peso corporal (PC) que recebiam antes da indução, dieta calculada em 2,7% do PC composta de 75% da matéria seca de feno de *coast-cross* e de 25% de concentrado. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em função do peso em 3 grupos com seis animais cada: controle (C), monensina 30 ppm (M) e monensina 30 ppm e virginiamicina 25 ppm (M + VM). Os aditivos foram administrados em conjunto com fubá de milho por um período de 30 dias antes da indução de ALR. Essa indução foi feita por meio da administração de sacarose no rúmen, de acordo com protocolo clássico. Foram realizadas coletas de amostras de fluido ruminal nos seguintes momentos: zero (basal) e após três, seis, 12 e 18 h da indução. As seguintes variáveis ruminiais foram avaliadas: pH e lactato L. Foi realizada análise de variância de medidas repetidas no tempo de duas vias considerando os fatores grupo e momento, seguido de teste de comparação de média de Bonferroni. Os dados obtidos no pico da ALR (18<sup>a</sup> h) no grupo C (pH 4,04; 71 mM de lactato-L), M (pH 4,24; 67,17 mM de lactato L) e M+VM (pH 4,35; 61,04 mM de lactato L) indicaram que ocorreu uma acidose de grau intenso, causado principalmente por excesso de lactato. Os grupos M e M + VM apresentaram maior pH ruminal em relação ao grupo C, porém o grupo associação se sobressaiu aos demais grupos pois apresentou menores teores de lactato se comparado aos outros dois grupos. Conclui-se que a adição de monensina mais virginiamicina mitiga quadros de ALR intensa em bovinos de corte.

**Palavras chave:** confinamento, aditivos, rúmen, prevenção.

---

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ- USP – São Paulo.

<sup>2</sup>Universidade Federal Rural do Pernambuco, UFRPE- Recife

<sup>3</sup>Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ- Piracicaba

\*E-mail: oliveiraflc@usp.br

**ARTIGOS DE REVISÃO DE LITERATURA**

**ASPECTOS DA INFLUÊNCIA DE FATORES CLIMÁTICOS NO  
ESPERMOGRAMA, PROTEÍNA DO PLASMA SEMINAL,  
TERMORREGULAÇÃO TESTICULAR, HORMÔNIO E BIOQUÍMICA DO  
SÊMEN E SANGUE EM TOUROS BOVINOS**

Ellyn Amanda Fonseca Martins<sup>1</sup>  
Camila Dutra Souza<sup>1</sup>  
Maurilio Frattini Palacio<sup>2</sup>  
Gabriela Figueredo Cornacini<sup>2</sup>  
Talita Cavichioli Sebastião<sup>2</sup>  
Luciana M. Guaberto<sup>3</sup>  
Eunice Oba<sup>4</sup>  
Marcelo George Mungai Chacur<sup>3</sup>

**RESUMO**

A presente revisão de literatura aborda alguns aspectos da influência de fatores climáticos no espermograma, proteínas do plasma seminal, termorregulação testicular e bioquímica do sêmen e sangue em touros bovinos. No clima tropical, os fatores climáticos afetam de forma negativa a gametogênese e causam uma baixa eficiência reprodutiva, pois interferem na síntese de testosterona que é essencial à função reprodutiva nos machos, atua estimulando a espermatogênese. O plasma seminal possui uma gama de proteínas que colaboram com a fertilidade de machos; e os teores de minerais no sêmen e sangue refletem o equilíbrio metabólico do organismo animal que sofrem influência do clima. Os desafios e metas indicam na direção de estudos que colaborem na seleção de touros mais adaptados aos fatores climáticos no clima tropical para a melhoria da fertilidade.

**Palavras-chave:** termografia, eletroforese, sêmen, testosterona, touro Nelore.

**ASPECTS OF THE INFLUENCE OF THE CLIMATIC FACTORS ON THE  
SPERMOGRAM, SEMINAL PLASMA PROTEINS, TESTICULAR,  
TERMOREGULATION, HORMONES AND SEMEN BIOCHEMISTRY AND  
BLOOD IN BULLS**

**ABSTRACT**

The present literature review addresses some aspects of the influence of climatic factors on spermogram, seminal plasma proteins, testicular thermoregulation and biochemistry of semen and blood in bovine bulls. In the tropical climate, climatic factors adversely affect gametogenesis and cause a low reproductive efficiency, because they interfere in the synthesis of testosterone that is essential to the reproductive function in males, it acts stimulating spermatogenesis. Seminal plasma has a range of proteins that

---

<sup>1</sup>Alunas de Doutorado em Ciência Animal UNOESTE/Presidente Prudente, SP

<sup>2</sup>Iniciação Científica, Medicina Veterinária UNOESTE/Presidente Prudente, SP.

<sup>3</sup>Professor, Reprodução Animal UNOESTE/ Presidente Prudente, SP  
mrchacur@uol.com.br ou chacur@unoeste.br

<sup>4</sup>Professora, Reprodução Animal FMVZ/UNESP, Botucatu, SP.

collaborate with male fertility; And the mineral contents in the semen and blood reflect the metabolic balance of the animal organism that undergo climate influence. The challenges and goals indicate in the direction of studies that collaborate in the selection of bulls more adapted to the climatic factors in the tropical climate for the improvement of the fertility.

**Key words:** thermography, electrophoresis, semen, testosterone, bull Nelore.

## **ASPECTOS DE LA INFLUENCIA DE FACTORES CLIMÁTICOS EM EL ESPERMOGRAMA, TERMORREGULACIÓN TESTICULAR, HORMONAS Y BIOQUÍMICA DEL SEMEN Y SANGRE EM TOROS BOVINOS**

### **RESUMEN**

La presente revisión de literatura aborda algunos aspectos de la influencia de factores climáticos en el espermograma, proteínas del plasma seminal, termorregulación testicular y bioquímica del semen y sangre en toros bovinos. En el clima tropical, los factores climáticos afectan de forma negativa a la gametogénesis y causan una baja eficiencia reproductiva, pues interfieren en la síntesis de testosterona que es esencial para la función reproductiva en los machos, actúa estimulando la espermatogénesis. El plasma seminal posee una gama de proteínas que colaboran con la fertilidad de los machos; Y los contenidos de minerales en el semen y la sangre reflejan el equilibrio metabólico del organismo animal que sufren la influencia del clima. Los desafíos y metas indican en la dirección de estudios que colaboren en la selección de toros más adaptados a los factores climáticos en el clima tropical para la mejora de la fertilidad.

**Palabras clave:** termografía, electroforesis, semen, testosterona, toro Nelore.

### **INTRODUÇÃO**

O touro é considerado essencial para a produção animal, pois além de representar um potencial reprodutivo para multiplicação de suas características fenotípicas e seus descendentes. As condições climáticas podem afetar as funções fisiológicas reprodutivas, hormonal e como o aumento da degeneração testicular. Para obter o sucesso na reprodução dos bovinos é necessária a disponibilidade de recursos alimentares e condições climáticas favoráveis. O objetivo é avaliação espermática juntamente com a nova técnica de avaliação, como termograma escrotal e técnica molecular, como a eletroforese para detecção de possíveis proteínas do plasma seminal, sendo parte da seleção de reprodutores superiores.

### **ASPECTOS DA BOVINOCULTURA NA REPRODUÇÃO**

O rebanho bovino brasileiro é constituído por uma grande variedade de raças e, em importância, as raças originárias da Índia tem papel de destaque na pecuária brasileira (1). É constituído de 167,5 milhões de cabeças, sendo 132,3 milhões desse total são representadas pela bovinocultura de corte. O Brasil é um país de grande dimensão territorial, ampla variedade climática, dispondo predominantemente do rebanho bovino brasileiro zebuino, *Bos taurus indicus*, tendo como característica mais importante à pele pigmentada e solta, pelos curtos e a presença de giba ou cupim (2).

A raça Nelore multiplicou-se em grande velocidade, sendo essa grande aceitação devido ao índice reprodutivo e produtivo de grande competitividade em climas tropicais. São apresentadas algumas de suas características funcionais: rusticidade (o bezerro nasce, cresce e reproduz sem a necessidade do homem); alta fertilidade e prolificidade; maior eficiência reprodutiva nos machos, devido porte alto e prepúcio reduzido; coloração da pelagem que protegem contra a radiação ultravioleta; excelentes produtores de carnes nos trópicos e em condições adversas. Os touros criados em condições tropicais, como no Brasil, podem apresentar características quantitativas e qualitativas do sêmen, promovidas entre outras causas, pelo estresse calórico, práticas de manejo e pela oferta e qualidade das pastagens. O fato da maior parte da produção brasileira ser baseada no modo extensivo, demandando grandes áreas de pastagens, é umas das causas de baixa produtividade no rebanho nacional. Nesse contexto, a eficiência reprodutiva é um dos fatores determinantes para melhorar o índice zootécnico na pecuária de corte, métodos de avaliação reprodutiva e práticas de manejo adequadas têm sido progressivamente requisitados, principalmente quando se considera seu desafio diante da concorrência com países desenvolvidos (3).

Quando os animais são criados em sistemas extensivos, os grupos se organizam em uma ordem hierárquica, estabelecida por encontros agonísticos (brigas). Cada animal irá determinar sua posição como dominante ou submisso em relação aos demais. Esta posição definirá a prioridade de acesso aos recursos de interesse, tais como o alimento, sombra, água e o acesso às fêmeas em estro (4).

A compreensão do comportamento sexual, dos mecanismos que regulam sua expressão, seu significado adaptativo e como este se desenvolve, permite aperfeiçoar as ferramentas de manejo, melhorar o bem estar animal e, principalmente, aperfeiçoar a reprodução. O comportamento sexual expresso por touros pode ser definido como o conjunto de eventos associados com a detecção e fertilização de fêmeas receptivas (5). Os principais componentes do comportamento sexual de touros são a “libido” e a “capacidade de serviço”. A “libido”, ou desejo sexual, pode ser definido como a disposição ou avidez do macho em montar a fêmea e realizar o serviço completo. Já a habilidade do touro em realizar a monta com sucesso é chamada de “habilidade de monta”. Assim, a “capacidade de serviço” é uma medida do número de serviços alcançados pelo touro sob determinadas condições e, com isso, inclui a libido e a habilidade de monta. O tempo transcorrido entre a detecção de um estímulo apropriado, como a presença de uma fêmea em estro, até a realização da monta completa é chamado de “tempo de reação” (6).

O comportamento sexual dos bovinos, assim como a corte que o precede, é caracterizado por uma grande diversidade de eventos, que garantem que a cópula ocorrerá com o parceiro ideal no momento e local mais apropriados. Tais comportamentos visam garantir a transmissão gênica dos indivíduos para a próxima geração. A manifestação ocorre através da interação sócio sexual de uma série de fatores que conjugam aspectos ambientais, genéticos, nutricionais, hormonais, de receptividade, acuidade sensorial, idade, experiência prévia e ordem de dominância social (7,8).

O primeiro evento é a corte que caracteriza um período de intensa excitação sexual e pode ser mais bem evidenciado à campo do que em condições restritas. Ainda neste período, aproximadamente dois a três dias antes do estro, o touro detecta as fêmeas no proestro e permanece próximo a elas realizando várias tentativas de monta, com ereção e protusão parcial e gotejamento de líquido das glândulas acessórias. Com a manifestação do estro, os machos promovem o ato de lambar e cheirar a vulva da fêmea. A manifestação da pressão do queixo está associada à tentativa do touro de testar

o momento de aceitação da cópula, se posiciona atrás da fêmea e levanta a cabeça para que as regiões do colo e do maxilar inferior entrem em contato com o posterior dela (6). Durante a cópula propriamente dita, o touro realiza o serviço ou monta completa, sendo a intromissão realizada de forma rápida e o arranque final feito com grande vigor (9; 10).

Os touros utilizam o olfato e a visão para detectar fêmeas sexualmente receptivas. Contudo, o principal sentido utilizado é a visão, sendo o olfato considerado como estímulo secundário (9,11).

O estresse pode ser definido como uma reação do organismo a uma condição adversa do ambiente, onde ocorre uma tentativa de realizar a termorregulação e manter a homeostasia (12).

Calor e umidade elevada podem resultar em estresse crônico, especialmente se acompanhado por uma ampla flutuação da temperatura, resultando em diminuição na ingestão de alimento e interferência na espermatogênese (13).

Para um funcionamento eficiente, os testículos dos mamíferos devem ser mantidos em uma temperatura entre 2 e 6°C abaixo que a temperatura corporal (14). Características anatômicas dos testículos e do escroto permitem a regulação da temperatura testicular. Receptores de temperatura localizados na pele escrotal podem provocar respostas para diminuir a temperatura do corpo todo e provocar aumento da frequência respiratória e transpiração. A pele do escroto é dotada de grande quantidade de glândulas sudoríparas adrenérgicas, e seu componente muscular, a túnica dartos, permite alterar a espessura e a área da superfície do escroto e modificar a proximidade de contato do testículo em relação ao corpo (15).

Uma moderada elevação da temperatura testicular em touros submetidos à insulação escrotal reduz de forma drástica a produção espermática, a motilidade progressiva, a quantidade de espermatozoides vivos por ejaculado e aumenta a porcentagem de espermatozoides morfológicamente anormais (16). Mudanças climáticas que afetam a gametogênese podem levar a baixa eficiência reprodutiva e o mecanismo pelo qual a temperatura ambiente afeta a função testicular, alterando seus parâmetros normais, ainda é desconhecida. As altas temperaturas afetam o metabolismo dos espermatozoides e conforme isto parece ser causado pela hipóxia que acomete o testículo quando este é exposto a altas temperaturas (17).

A termografia infravermelha vem assumindo, em nível clínico e experimental, papel cada vez mais relevante por se tratar de um método seguro, não invasivo e capaz de analisar o estado de perfusão dos tecidos orgânicos, em várias e distintas situações, por determinações precisas de temperatura (18). Também tem sido utilizada para avaliar a termorregulação escrotal e testicular, fornecendo uma imagem pictórica das emissões de infravermelho (energia do calor irradiado), com uma precisão de 0.10° C. Para validar a termografia infravermelha como uma ferramenta de pesquisa ou clínica, é essencial determinar os fatores que podem influenciar a medição da temperatura da superfície escrotal (19).

A imagem térmica infravermelha é uma técnica diagnóstica não invasiva que demonstra simetria e assimetria da superfície. A temperatura da pele se mantém a 5°C abaixo do núcleo do corpo, como o calor é dissipado através da frequência da pele por evaporação e de outros meios para equilibrar a temperatura externa e interna (20).

Uma moderada elevação da temperatura testicular em touros submetidos à insulação escrotal reduz de forma drástica a produção espermática, a motilidade progressiva, a quantidade de espermatozoides vivos por ejaculado e aumenta a porcentagem de espermatozoides morfológicamente anormais. Os efeitos deletérios da

insulação escrotal na qualidade do sêmen dependem da duração da insulação, por isso a importância da termorregulação (16).

As medições podem ser realizadas a qualquer hora do dia, a bolsa escrotal deve estar seca, e se estiver molhada ou úmida devem ser limpas. Embora a temperatura da superfície escrotal possa ser mensurada ao longo de uma ampla gama de temperaturas ambientes, o ideal seria em temperaturas de moderadas a baixa (15°C/5°C). Mudanças bruscas de temperatura devem ser evitadas, pois podem alterar o termograma resultando em uma sobre compensação. A temperatura ambiente tem maior efeito na temperatura inferior da superfície do escroto e menor na temperatura superior. A técnica parece ser suficientemente válida para avaliações feitas em condições de campo, especialmente se os animais não estiverem recentemente alimentados ou deitados, e se não existir mudanças drásticas na temperatura ambiente, por exemplo, grandes diferenças entre a área de exploração e a área de realização do exame (19).

A avaliação da termorregulação do escroto e dos testículos pela termografia infravermelha, para fins clínicos ou de investigação, deve ser realizada antes da coleta de sêmen, pois existe um aumento da temperatura da superfície do escroto, principalmente na parte inferior – área da cauda do epidídimo - logo após a ejaculação espontânea ou eletroejaculação, devido às contrações da cauda do epidídimo durante a ejaculação (21).

Dados preliminares de avaliações de touros exibiram qualidade de sêmen comprometida indicando que touros com termograma escrotal anormal produzem sêmen com motilidade reduzida e aumento de defeitos espermáticos (22). As médias para temperatura da superfície do escroto em diferentes temperaturas ambientes foram relatadas e nas porções dorsal e medial dos testículos houve uma elevação desta temperatura com a elevação da temperatura ambiente (23). Desta forma, relações entre o termograma infravermelho escrotal e os vários aspectos da qualidade e fertilidade do sêmen merecem maior investigação em touros de corte.

A presente revisão de literatura aborda alguns aspectos da influência de fatores climáticos no espermograma, proteínas do plasma seminal, termorregulação testicular e bioquímica do sêmen e sangue em touros bovinos.

## **APARELHO REPRODUTOR E IDADE A PUBERDADE EM MACHOS**

Muito embora no embrião os testículos se desenvolvam a partir das gônadas indiferenciadas, situadas no abdômen, eles migram a fim de se localizar durante a vida extra-uterina, no escroto. O aparelho genital é constituído pelo pênis, epidídimo, órgãos acessórios (ducto deferente, vesícula seminais, próstata, glândulas bulbouretrais e uretra) e testículo (24).

De modo geral, tem por finalidade como função primária a produção de espermatozoide e hormônio sexual, sendo este último, responsável pelas características sexuais masculinas. Tais secreções são dependentes de secreções neuroendócrinas reguladas pelo hipotálamo, que envolvem aspectos anatômicos e eventos celulares que determinam funções específicas como a espermatogênica (25,15).

De um ponto de vista prático, um animal macho ou fêmea atinge a puberdade quando se torna capaz de liberar gametas e de se manifestar sequenciais de comportamento sexual completo. Para os machos, a idade à puberdade tem sido considerada com aquela em que aparecem os primeiros espermatozoides no ejaculado. A idade à puberdade é caracterizada como fator corporal, circunferência escrotal, concentração hormonal, agressividade sexual e produção de sêmen. Em adição à puberdade, alterações das características testiculares devem ser consideradas (26).

## CÉLULAS DE SERTOLI

É importante para o controle do desenvolvimento das células germinativas tanto quanto a respeito da função nutritiva quanto reguladora. São grandes e têm nucléolos evidentes e estão situadas basalmente dentro dos túbulos. Estas células têm grande processo que controlam os espermatócitos e espermatídes e provém uma estreita relação com as células germinais durante todo o processo de desenvolvimento. É no interior desses túbulos que ocorre a espermatogênese na qual se trata do processo sincrônico e regular de diferenciação celular a qual a espermatogônia é gradativamente diferenciada numa célula haploide altamente especializada, o espermatozoide. Essa diferenciação envolve três classes de células germinativas: as espermatogônias, os espermatócitos primários iniciais. Na camada adluminal observam-se as gerações de espermatócitos mais desenvolvidos, espermatócitos secundários e as espermatídes (27). Determinaram que a espermatogênese fosse semelhante à espermatogênese do suíno (em média 9 dias). As espermatogônias podem ser classificadas em duas categorias básicas, espermatogônias diferenciadas e indiferenciadas. As espermatogônias isoladas ( $A_{is}$ ), pareadas ( $A_{pr}$ ), alinhadas ( $A_{al}$ ) pertencem à primeira categoria.

As espermatogônias usualmente sofrem divisões mitóticas incompletas, ou seja, as células originárias de uma divisão permanecem interligadas àquela que deu origem por pontes citoplasmáticas (28). Com base na morfologia, no diâmetro e no volume do núcleo, no número de nucléolos por núcleo, na posição topográfica em relação a outras células e à lâmina basal e na disposição dos cromossomos durante a divisão, podem se identificar basicamente três tipos de espermatogônias nos mamíferos: tipo A, a intermediária (In) e a tipo B que pertence à segunda categoria e estão relacionadas com a formação de espermatozoides. As espermatogônias podem ser identificadas com base na morfologia, dinâmica e volume do núcleo, número de nucléolos, posição topográfica em relação a outras células e à lâmina basal, e a disposição do cromossomo durante a divisão. Esta série de divisões celulares, incluindo a proliferação das espermatogônias e das divisões meióticas, é conhecida por espermatocitogênese, na qual, durante o desenvolvimento embrionário, células germinativas primordiais especiais migram da região do saco vitelínico do embrião para as gônadas indiferenciadas (15). A meiose compreende em duas divisões: células de primeira divisão que são os espermatócitos primários (I) e os de segunda divisão, que são os espermatócitos secundários (II). Os espermatócitos (I) são as maiores células da linhagem espermatogênica e caracterizam-se pela presença de cromossomos em diferentes fases de condensação. Os espermatócitos (II) ficam mais próximos da luz dos túbulos seminíferos, sendo difícil observá-los em corte histológico, pois entram logo na segunda divisão meiótica (29). As células haploides resultantes deste processo são chamadas de espermatídes. As espermatídes, então, sofrem uma série progressiva de modificações estruturais e de desenvolvimento, dando origem aos espermatozoides. Estas modificações metamórficas são conhecidas por espermiogênese, as modificações incluem condensação da cromatina nuclear, formação da cauda do espermatozoide ou aparelho flagelar e desenvolvimento do capuchão acrossomático (15). No entanto, fica bastante evidente a necessidade da interação das células germinativas com os componentes somáticos dos testículos, principalmente as células de Sertoli, as células de Leydig e as células mióides, para que o processo espermatogênico transcorra de maneira normal e eficiente (30,31).

Os espermatozoides deixam o testículo pelos ductos eferentes e vão em direção ao ducto espiralado do epidídimo, que continua com o ducto deferente. As glândulas



accessórias eliminam seus conteúdos no ducto deferente ou na porção pélvica da uretra (15).

A espermatogênese é um processo cíclico no qual os gonócitos, primeiras células germinativas a habitarem os túbulos seminíferos, multiplicam-se e diferenciam-se em espermatogônias. A última geração destas células, formada pelas espermatogônias B, sofre meiose, formando os espermatócitos primários e as espermatídes arredondadas, que se diferenciam em espermatozoides (32).

O desenvolvimento da espermatogênese depende do suporte funcional das células de Sertoli, dos níveis adequados de esteroides, gonadotrofinas e de fatores de crescimento. A organização geral da espermatogênese é basicamente a mesma para todos os mamíferos. A espermatogênese é um processo sincrônico, no qual a espermatogônia (célula diploide) se diferencia gradativamente em uma célula haploide altamente especializada, o espermatozoide. Esse processo pode ser dividido em três fases, de acordo com as diferentes características funcionais: (01) fase proliferativa, na qual as espermatogônias sofrem rápidas e sucessivas divisões mitóticas; (02) fase meiótica (espermatócitos), na qual o material genético é recombinado e segregado; (03) fase de diferenciação ou espermiogênica, onde cada espermatíde arredondada passa por mudanças estruturais e bioquímicas e diferenciam-se em espermatozoide, um tipo celular estruturalmente especializado para alcançar e fertilizar o ovócito (27,33).

## **CÉLULAS DE LEYDIG**

Encontra-se em íntimo contato com sistema de capilares apresenta formato triangular ou poliédrico, possuem núcleo grande e arredondado, aspecto vesiculoso em função da eliminação de gotículas lipídicas pelo processo histopatológico (4). Sua principal função é a produção de testosterona, que é importante para o desenvolvimento e a manutenção da espermatogênese e das características masculinas (34). A produção de testosterona pelas células de Leydig é controlada pelo LH (hormônio luteinizante). Aumentos na secreção de LH são seguidos, dentro de 30 (trinta) e 60 (sessenta) minutos, por níveis aumentados de testosterona que duram de uma até várias horas. O LH liga-se especialmente a membrana das células de Leydig e ativa a adenosina-monofosfato cíclica (35). Este processo dá início à ativação das proteínas cinases que catalisam a fosforilação das proteínas intracelulares e mobilização de precursores dos esteroides, principalmente através da conversão do colesterol até pregnenolona. O LH também tem efeito trófico sobre as células de Leydig, visto que a remoção do mesmo cessa a produção de testosterona e leva a grande redução no tamanho nas células de Leydig (36). Altas concentrações são necessárias para a espermatogênese e especialmente para o processo de meiose. A ação dos andrógenos na espermatogênese acontece via células de Sertoli, já que as células germinativas não possuem receptores para andrógenos (37).

Inúmeros fatores podem influenciar na quantidade de células de Leydig por animal, dentre os quais podem ser destacados a quantidade de LH disponível, o número de receptores de LH por célula, a quantidade de testosterona que a célula de Leydig é capaz de secretar por unidade de tempo, a velocidade pela qual a testosterona deixa o testículo via vasos sanguíneos e fluidos seminais, o volume sanguíneo do animal e a taxa de metabolismo da testosterona. A capacidade de produção de testosterona pelas células de Leydig está relacionada à quantidade de retículo endoplasmático liso dessas células (4).

## **TESTOSTERONA NA REPRODUÇÃO DO MACHO**

A secreção de testosterona pelas células de Leydig está sob o controle do LH. A secreção do LH, por sua vez, é controlada pela liberação episódica do hormônio liberador de gonadotrofina GnRH (24).

Embora grande parte da testosterona secretada para dentro dos túbulos seminíferos seja convertida em diidrotestosterona (DHT) pela enzima  $5\alpha$ -esteróide redutase, certa quantidade é convertida em estrógeno pela enzima aromatase. Um nível relativamente alto de testosterona é necessário para a maturação das espermátides e manutenção da espermatogênese (15).

A proteína ligadora de andrógeno (ABP) tem uma grande afinidade pela testosterona e diidrotestosterona e promove uma concentração de andrógenos intratesticular impedindo além do limite de sua solubilidade. A testosterona faz com que os testículos cresçam, devendo estar presente, também, junto com o FSH, antes que a espermatogênese se complete. Depois que um feto começa a se desenvolver no útero materno, seus testículos começam a secretar testosterona, quando tem poucas semanas de vida apenas. Essa testosterona, então, auxilia o feto a desenvolver órgãos sexuais masculinos e características secundárias masculinas. Isto é, acelera a formação do pênis, da bolsa escrotal, da próstata, das vesículas seminais, dos ductos deferentes e dos outros órgãos sexuais masculinos. Além disso, a testosterona faz com que os testículos desçam da cavidade abdominal para a bolsa escrotal; se a produção de testosterona pelo feto é insuficiente, os testículos não conseguem descer; permanecem na cavidade abdominal. A secreção da testosterona pelos testículos fetais é estimulada por um hormônio chamado gonadotrofina coriônica, formado na placenta durante a gestação. Em consequência, as características sexuais interrompem seu desenvolvimento, desde o nascimento até a puberdade. Na puberdade, o reaparecimento da secreção de testosterona induz os órgãos sexuais masculinos a retomar o crescimento. Os testículos, a bolsa escrotal e o pênis crescem, então, aproximadamente mais de 10 vezes (38).

A testosterona é essencial à função reprodutiva nos machos, atua estimulando os estágios finais da espermatogênese; prolonga a vida útil dos espermatozoides no epidídimo e estimula o crescimento, o desenvolvimento e a atividade secretora dos órgãos sexuais do macho, exteriorizando as características sexuais secundárias (15). Sendo necessária para a manutenção da capacidade de serviço. Correlações significativas têm sido demonstradas entre a concentração sanguínea de testosterona, a fertilidade e a motilidade espermática (39).

## **CORTISOL NA REPRODUÇÃO DO MACHO**

Para os autores (40) que utilizaram touros bubalinos para avaliar o estresse térmico em câmaras bioclimáticas por 54 dias e não foram observadas diferenças estáticas entre as concentrações.

Machos bovinos (1/2 Gir x 1/2 Holândes) foram analisados com idade de 14 a 16 meses no período do inverno (16 a 71,9% de unidade) e verão de 23,3% a 69,8% de unidade) em câmara bioclimática, constataram um aumento na concentração de cortisol no verão de 3,87  $\mu\text{l/dL}$  (microlitros/decilitros) (manhã) e 3,04  $\mu\text{l/dL}$  (tarde) enquanto comparado à estação do inverno relatara valores de 2,42  $\mu\text{l/dL}$  (manhã) e 4,13  $\mu\text{l/dL}$  (tarde), informando valores estes dentro dos padrões normais para bovinos que são de 2 a 6  $\mu\text{l/dL}$  (41).

## BIOQUÍMICA SÉRICA E DO SÊMEN

A composição bioquímica do plasma sanguíneo reflete a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a poder indicar lesões teciduais, transtornos no funcionamento dos órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional. A interpretação do perfil bioquímico é complexa tanto aplicada a rebanhos quanto a indivíduos, devido a mecanismos que controlam o nível sanguíneo de vários metabólitos e devido, também, a grande variação desses níveis em função de fatores como raça, idade, estresse, dieta, manejo, clima e estado fisiológico (42).

Quanto à composição bioquímica do sêmen, são medidas para controlar possíveis alterações metabólicas e bioquímicas que comprometam a estrutura do espermatozoide e diminua a capacidade de fertilização. Para adquirir um potencial de fecundação, os espermatozoides de bovinos precisam passar por uma série de mudanças fisiológicas e bioquímicas no órgão genital feminino, denominada de capacidade espermática e reação acrossomal. A deficiência alimentar de sódio bem como o potássio, diminui a fertilidade. Está situação, no entanto, é pouco frequente, podendo ocorrer quando os animais não recebem nem sal comum nem forragem verde. Esses elementos, também são responsáveis pela motilidade dos espermatozoides. O status de sódio não é bem avaliado por meio de valores sanguíneos devido aos mecanismos homeostáticos desse mineral. Elevações nos níveis do mineral ocorrem por aumento da ingestão, perda excessiva de água e fluidos ou por ingestão inadequada de água (43). O valor referencial de sódio no sangue é a concentração de 132-152 mmol/L. Enquanto que a concentração do componente do plasma seminal é de 270 mg (miligrama)/100 mL (mililitro) (44).

O potássio é correlacionado com a concentração do sêmen e a porcentagem dos espermatozoides viáveis, e com o sódio que é essencial para manter a pressão osmótica. É terceiro mineral mais abundante no organismo e o principal cátion presente no líquido intracelular, encontrado em concentrações de 100-160 mmol/L, o que corresponde a aproximadamente 25 a 30 vezes a concentração de K (potássio) no sangue (45). No plasma seminal ocorre alta concentração de potássio, cerca de 170 mg/100mL, este é proveniente da vesícula seminal (46).

O cloro (Cl) e o principal ânion presente no fluido extracelular animal. Este mineral é necessário para a formação de ácido clorídrico no suco gástrico e para a ativação da amilase. Assim como o sódio, também estão envolvidos na manutenção da pressão osmótica, controle do balanço hídrico e regulação do equilíbrio ácido-base. As exigências de cloro para manutenção em bovinos de corte não são bem definidas (45). O valor referencial de cloro no sangue é a concentração de 97-111 mg/dL. A concentração do componente do plasma seminal é de 174 mg/100 mL (44).

O cálcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) está intimamente associado ao metabolismo. No plasma existem duas formas, a ionizável (cerca de 45%) e a forma orgânica, associada às moléculas, tais como as proteínas (albumina e ácido orgânico). O cálcio total, como é medido no sangue, tem a forma ionizada, que é biologicamente ativa, e não ionizada. Está em equilíbrio, uma queda na produção de albumina, ocorre a diminuição do valor do cálcio sanguíneo. Valor normal do cálcio no plasma sanguíneo é de 8-12 mg/dL (47). Em machos jovens a quantidade necessária de cálcio e fósforo e correta proporção, para garantir o desenvolvimento do seu esqueleto, principalmente dos membros, pois alteração da locomoção pode eliminar um animal da reprodução. Em reprodutores a necessidade é maior. O cálcio tem um papel fundamental na motilidade progressiva dos espermatozoides. Esta motilidade é controlada pelo cálcio intracelular ( $\text{Ca}^{++}$ ), que por

sua vez, é regulada pelo cálcio extracelular, equilíbrio este mantido pela próstata. A concentração do componente do plasma seminal é de 37 mg/100 mL (48).

Os espermatozoides bovinos apresentam a via metabólica baseado na rota aeróbica. Quando comparado a outros sistemas biológicos verifica-se que a rota metabólica apresenta três pontos de controle estabelecidos por enzimas, hexoquinase, fosfrutoquinase e pirovatoquinase. Os espermatozoides bovinos utilizam como substrato principal a frutose, visto que estas células não conseguem de forma eficiente produzir ATP (adenosina trifosfato) a partir da glicose posto que a quantidade destas enzimas seja reduzida inviabilizando a formação de frutose a partir de glicose, via glicolítica inicial. Em relação às altas concentrações de substrato como frutose ou glicose, os espermatozoides podem sofrer um efeito denominado de “Efeito Glicose”. Este pode estar relacionado a um aumento exagerado de glicose com posterior redução da concentração de O<sub>2</sub>, o que favorece o processo de fermentação, prejudicial às células espermáticas. O metabolismo espermático como todas as células biológicas apresenta o metabolismo exógeno, através de substratos (glicose e frutose), que são transportados para dentro das células e são direcionadas, unicamente, para a via Embden-Meyerhof. As células espermáticas, não apresentam enzimas para atuar na via das pentoses, nem para o metabolismo do glicogênio (49). A composição de glicose no plasma seminal apresenta variabilidade individual em touros e raças. Quanto os valores normais para a referência de glicose no sangue de bovinos são de 45-75 mg/dl. A glicose plasmática é o indicador menos expressivo do perfil metabólico para avaliar o status energético, devido à insensibilidade da glicemia a mudanças nutricionais e à sua sensibilidade ao estresse (50).

## **CARACTERÍSTICAS DO SÊMEN E PROTEÍNAS DO PLASMA SEMINAL**

Sabe-se que o ejaculado é composto de uma fração de espermatozoides e uma fração de plasma seminal que consiste de um fluido produzido pela rede testicular, epidídimo e glândula acessória, contendo proteínas, enzimas, íons e hormônios. O plasma seminal proporciona boas condições para a manutenção da motilidade, sobrevivência, além de servir como veículo para os espermatozoides ejaculados, consistindo em uma mistura de secreções dos testículos e glândulas sexuais acessórias, com função carreadora dos gametas masculinos até o trato genital feminino, viabilizando a fecundação (51).

Nos animais domésticos, esta taxa varia de 50 a 80 % e depende, quase que exclusivamente, da capacidade funcional do esperma avaliado pela qualidade do sêmen produzido. De ponto de vista econômico, o sêmen de qualidade significa o rápido retorno do capital investido na criação de um reprodutor, principalmente quando este sêmen se destina à inseminação artificial, e o reprodutor apresenta outras características de interesse que determinam o seu intenso uso nos rebanhos. Para avaliar a capacidade reprodutiva dos touros, têm sido propostos vários parâmetros envolvendo as medidas testiculares e a qualidade do sêmen. Entre os parâmetros propostos, o mais utilizado, principalmente em função da facilidade de medição, é a circunferência (perímetro) escrotal, cujo tamanho foi relacionado à quantidade em volume da área ocupada pelo tecido testicular responsável pela produção de andrógenos e espermatozoides. Isto indica o potencial da circunferência escrotal como um dos fatores de seleção de touros (52).

Por outro lado, a capacidade reprodutiva de touros é avaliada, com precisão pelo exame andrológico, que estabelece a concentração, motilidade e morfologia da população de espermatozoides ou ejaculado, e pelos testes funcionais constituídos da

reação acrossômica induzida e integridade do acrossôma e cromatina, que permitem identificar a funcionalidade dos testículos para produção qualitativa de sêmen (53). Atualmente, as análises rotineiras consideram o sêmen de qualidade aquele que apresenta dois importantes atributos: motilidade progressiva e baixa taxa de espermatozoides anormais. Se da motilidade depende o alcance da célula feminina para fecundação, da presença da normalidade espermática depende, além da fecundação propriamente dita, a qualidade do embrião, em função do qual se evitam as perdas embrionárias no início da gestação. Um fator agravante envolvendo as anormalidades espermáticas é que a maioria é de natureza genética, portanto os reprodutores que as apresentam as transmitem para seus descendentes (52).

Entretanto, estudos sobre as proteínas do plasma seminal e da membrana espermática ainda precisam definir os tipos de proteínas e os mecanismos de ação que afetam a viabilidade desses gametas. A composição molecular do plasma seminal possui características inerentes a cada espécie, podendo diferir entre os tipos e a atuação das proteínas espermáticas (54). Estudos recentes mostram a importância da presença das proteínas do plasma seminal, como marcadores biológicos de fertilidade. A estação do ano influencia na presença das proteínas do plasma seminal em bovinos criados extensivamente (40).

As diferenças na fertilidade observadas entre os animais, muitas vezes não são detectadas pelos testes rotineiros empregados na avaliação da qualidade do sêmen. Neste sentido, estudos desenvolvidos mostram que há evidência de associações significativas entre a expressão de proteínas seminais e a fertilidade dos machos. A eletroforese é uma técnica que vem sendo utilizada desde a década de 50 para mapear e identificar componentes proteicos solúveis de ejaculados, na busca de marcadores bioquímicos para diagnóstico de algumas patologias ou diferenciação de animais quanto ao grau de sua fertilidade. Frente a alterações de clima e manejo, associadas a patologias do trato reprodutivo masculino ou do espermatozoide. Já foi constatado que o conteúdo do plasma seminal pode influenciar na fertilidade dos machos (55). Estudos indicam que a habilidade do espermatozoide para se ligar à heparina e a outros glicosaminoglicanos está correlacionada com a qualidade do sêmen e fertilidade. As proteínas com sítio de ligação para heparina no plasma seminal influenciam na fertilidade. Estes sítios de ligação têm estrutura semelhante a proteínas (GAGS) do líquido folicular ovariano, que são responsáveis pela estimulação das reações acrossômicas no espermatozoide bovino, de coelho e porco, agindo provavelmente durante a capacitação do espermatozoide (56).

O plasma seminal de mamíferos contém um grupo de proteínas que se ligam aos espermatozoides. Estas proteínas no plasma seminal de bovino foram purificadas e estão bem caracterizadas bioquimicamente. Há quatro proteínas, que são chamadas BSP-A1, BSP-A2, BSP-A3, e BSP-30-kDa (kilodalton). Os três primeiros são de aproximadamente a mesma massa molecular (entre 13 e 16 kDa), enquanto que a massa molecular da proteína BSP-30-kDa, como o nome indica, é 30000 kDa (57). BSP-A1 e BSP-A2 têm a mesma estrutura primária e diferem apenas na extensão de glicosilação, e a sua mistura é também referida como PDC-109. A proteína de 13 kDa, conhecida como PDC-109 confere alta fertilidade em touros, agindo de forma direta no metabolismo dos espermatozoides (58).

Peptídeos de 12, 30, 55, 66, 80, 90 e 105 KDa, quando presentes no plasma seminal, contribuem positivamente com o quadro espermático (51). A albumina (66 KDa) foi identificada em 6,6% dos animais aptos para a reprodução; e em 33% dos parcialmente aptos. Ainda, auxilia na gametogênese e no metabolismo das células de Sertoli (55)

A banda proteica de 20 kDa do plasma seminal pode ser responsável pela recuperação da permeabilidade da membrana espermática, após a mesma ser submetida ao choque térmico pelo frio, no qual se rompe a membrana (59).

A presença de peptídeos de 10, 16 e 26KDa no plasma seminal interferem de forma negativa na aptidão reprodutiva (51).

A proteína de 26KDa é idêntica e, em 86% homóloga à do tipo lipocalin prostaglandina D Sintase (PGDS), uma das proteínas mais prevalentes em touros de alta fertilidade, e age tanto no desenvolvimento quanto na maturação dos espermatozoides (55).

As diferentes estações do ano podem influenciar a presença ou ausência de proteínas no plasma seminal. Foi observada nos géis, presença de cadeias polipeptídicas com pesos entre 6,5KDa a 205KDa, no inverno, e de 14,9KDa a 80kDaa, no verão, concluindo que as proteínas de 20, 55, 66 e 80KDa contribuíram de forma positiva para a qualidade do sêmen, sendo que a proteína de 20KDa esteve presente no inverno e no verão (60).

## CONCLUSÃO

Os fatores climáticos interferem de forma negativa na fertilidade de touros, e o uso de diversas metodologias de análises do sêmen e de seus constituintes, colaboram com a escolha de touros mais adaptados ao clima tropical, refletindo na melhoria da fertilidade.

## REFERÊNCIAS

1. Santiago AA. A raça nelore. In: Gado nelore: 100 anos de seleção. São Paulo. Ed. Dos Criadores; 1987.0:594.
2. Pacheco A. Efeitos da idade e de fazendo sobre as características seminais e perímetro escrotal em touros da raça Guzerá criados no norte e norte e nordeste do Rio de Janeiro/Brasil. Asociación Latinoamericana de Producción Animal. 2007;15:4:157-164.
3. Fonseca VO. Manejo reprodutivo em gado de corte. In: MARQUES, D. C. Criação de bovinos. 7 ed. Atual, ampl. Belo Horizonte: CVP; 2003. p.283-295.
4. Costa e Silva EV, Paranhos MJR. Aspectos básicos do comportamento social de bovinos. Rev Bras Reprod Anim. 2003;31:2:172-176.
5. Galiana CS, Calderon A, McCloskey M. Detection of signs of estrus in Charolais cow and its Brahman cross under continuous observation. Theriogenology. 2007;17:485-489.
6. Chenoweth PJ. Bull libido/Serving capacity. Vet Clin North American. (Food. Animal Practice). 1997;13:2:331-345.
7. Hull EM, Wood RI, McKenna KE. Neurobiology of Male Sexual Behavior. In: NEILL, J. D. (Ed) Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. 3. ed. Burlington: Elsevier Academic Press;2006. p.1729-1825.

8. Barbosa RT, Alencar MN, Barbosa P. Comportamento sexual de touros das raças Canchim e Nelore. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 1991;15:51-157.
9. Blockey MAB. Sexual behavior of bulls at pasture: a review. *Theriog.* 1976a;6:4:387-399.
10. Chenoweth PJ. Libido and mating behavior in bulls, boars and rams: A review. *Theriog.* 1981;16:2:155-177.
11. Keller M, Baum MJ, Brock O. The main and the accessory olfactory system in the control of mate recognition and sexual behavior. *Behav. Brain Res.* 2009;200:268-276.
12. Machado Filho LCP, Hotzel MJ. Bem estar dos suínos. *In: Seminário Internacional de Suinocultura, 5, São Paulo, SP. Anais...; 2000, Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves;2000.5, p.70-82.*
13. Kunavongkrit A, Suriyasomboon A, Lundeheim N, Heard, TW, Einarsson S. Management and sperm production of boars under differing environmental conditions. *Theriogenology.* 2005;63:657-667.
14. Kastelic JP, Cook RB, Coulter GH. Insulation the scrotal neck affects semen quality and scrotal/testicular temperatures in the bull. *Theriogenology.* 1995;45:935-941.
15. Hafez ESSE, Hafez B. Reprodução animal. 7. ed. São Paulo: Manole. 2004.P.3-12.
16. Kastelic L, Cook RB, Person RA, Coulter GH. Relationships among scrotal and testicular characteristics, sperm production, and seminal quality en 129 beef bulls. *Canadian Journal of Veterinary Research, Ottawa,* 2001;65:111-115.
17. Vale Filho VR. do. Subfertilidade em touros: Parâmetros para avaliação andrológica e conceituação geral. *Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia.* Belo Horizonte: F.E.P.M.V.Z. ago 2001;35:81-87.
18. Watson JC, Gorbach AM, Pluta RM, Rak R, Heiss JD, Oldfield EH. Real-time detection of vascular occlusion and reperfusion of the brain during surgery by using infrared imaging. *J. Neurisurg.* 2002;96:5:918-23.
19. Kastelic JP, Cook RB, Coulter GH, Wallins GL, Entz TZT. Environmental factors affecting measurement of bovine scrotal surface temperature with infrared thermography. *Animal Reproduction Science.* 1996a;41:153-159.
20. Adams T. Thermodynamic techniques for the quantifications of regional blood flow. *Americ Journ Physiol.* 1980;238:682-696.
21. Kastelic JP, Cook RB, Coulter GH, Saacke RG. Ejaculation increases scrotal surface temperature in bulls with intact epididymides. *Theriogenology,* 1996b;46:889-892.

22. Cook RB, Coulter GH, Kastelic JP. The testicular vascular cone, scrotal thermoregulation, and their relationship to sperm production and seminal quality in beef bulls. *Theriogenology*. 1994;41:653-671.
23. Barros CMQ. Efeito da temperatura ambiente sobre as temperaturas escrotal, intratesticular, intravascular e fluxo sanguíneo testicular de touros. *Vet. e Zootec*. 2009;16:2:354-362.
24. Dukes HH. Pcessos reprodutivos do macho. In: DUKES, H. H. *Fisiologia dos animais domésticos*. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A, 1993. p.603-614
25. Miles Filho A. *Reprodução dos animais*. 6. ed. Porto Alegre. Ed: Porto Alegre-RS, 1987.
26. Menegassi SRO, et al. Measurement of scrotal circumference in beef in bull in Rio Grande do Sul. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2011;63:1:87-93.
27. Russell LD. Mammalian spermatogenesis. In: Russell LD, Ettlín R A, Sinha Hikim AP.; CLEGG, E. D. *Histological and histopathological evaluation of the testis*. Bolesta: Cache River Press: cap. 1,1990. p.40
28. De Rooji DG. Stem cells in the testis. *Inst. J. Exp. Path.* 1998;79:67-80.
29. Kierszenbaum AL. *Histologia e Biologia Celular: Uma Introdução à Patologia*. 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier. 2008; p.677
30. Skinner M. Cell-cell interaction in the testis. *Endoc. Rev.* 1991;12:45-77.
31. França LR, Russell LD. The testis of domestic animals. In: REGADERA, J.; MARTINEZ-GARCIA. *Male Reproduction: A multidisciplinary overview*. Madrid: Churchill Livingstone, 2008. p.197-219
32. Griffin JE. Male reproductive function. In: Griffin JE, Ojeda SR. *Textbook of endocrine physiology*. New York: Oxford University Press, 1988.p.165-185
33. Sharpe RM. Regulation of spermatogenesis. In: Knobil E, Neill J. D. *The physiology of reproduction*. 2. ed. New York: Raven Press, 1994;1:1364-1434
34. O'donnel L. Estrogen and spermatogenesis. *Endocrinol. Ver.* 2001;22:289-318.
35. Huhtaniemi I, Toppari J. Endocrine, paracrine and autocrine regulation of testicular steroidogenesis. *Adv Exp Med Biol*. 1995;377:33-54.
36. Goodman H. M. Controle hormonal da reprodução masculina. In: Johnson LR. *Fundamentos de Fisiologia Médica*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000;cap.45.



37. Lyu PY, Handelsman DJ. The Present and Future State of Homonal Treatment for Male Infertility. Hum. Reprod. Updat, 2003;9:9-23.
38. Vilella ALM. Sistema Reprodutor Masculino, 2009. Disponível em: <<http://www.afh.bio.br/varios/analuisa.asp>>. Acesso em: 12 outubro. 2015.
39. Blockey MAB, Galloway DB. Hormonal control of serving capacity in bulls. Theriogenology, New York, 1978;9:2:143-151.
40. Chacur MMG, Oba E. Resumo de tese: Estresse térmico em touros bufalinos *Bubalus bubalus*, avaliação das características fisiológicas da reprodução. Vet Not. 2005;11:1:111-112.
41. Ferreira F. Parâmetros químicos, hematológicos, bioquímicos e hormonais de bovinos submetidos ao estresse calórico. Arq. Brasil. Med. Vet. Zootec. 2009;61:4:769-776.
42. Gonzalez FHD, Scheffer JFS. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 1, 2003, Porto Alegre. Anais... Porto alegre: UFRGS; 2003.p.73-89
43. Gonzalez FHD, Silva SC. Introdução à bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006. p. 357.
44. Kaeko JJ, Harvey JW, Bruss, ML. Clinical biochemistry of domestic animals. 5th ed. New York: Academic Press, 1997.
45. Underwood EJ, Suttle NF. The mineral nutrition of livestock. 3.ed. London, UK: CABI Publishing, 1999.p.614
46. Moreira FB. Níveis de suplementação de sal proteinado para bovinos nelore terminados a pasto no período do inverno. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia. Piracicaba. Anais...; 2001.p.923-924
47. Martin LCT. Nutrição mineral de bovinos de corte. Livraria Nobel. São Paulo, 1993.
48. Arver S. Studies on zinc and calcium in human seminal plasm. Acta Physiol. Scand. 1982;507:1-21.
49. Inskip PB, Hammerstedt RH. A colorimetric method to assess endogenous metabolism and its application to the study of bovine sperm. J Biochem Biophys Methods. 1983;7:199-210.
50. Contresas PA. Indicadores do metabolismo protéico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: Gonzalez FDF, Barcellos JO, Ospina H, Ribeiro LA. O. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: UFRGS; 2000.p.23-30

51. Chacur MGM, Martinez AIS, Machado Neto NB. Perfil em SDS-PAGE das proteínas do plasma seminal e sua relação com a qualidade do sêmen de touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*). Vet Not. 2006;12:1:87-93.
52. Silva AEDF, Dode MAN, Unanian MM. Capacidade reprodutiva do touro de corte: funções, anormalidades e outros fatores que a influenciam. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC; 1993.p.128
53. Unanian MM, Silva AEDF, McManus C, et al. Características biométricas testiculares para avaliação de touros zebuínos da raça Nelore. Rev Bras de Zoot. 2000;29:1:136-144.
54. Topfer-Petersen E. The role of stallion seminal proteins in fertilization. Animal Reproduction Science, 2004;89:1-4:159-170.
55. Killian GJ, Champan DA, Rogowski LA. Fertility-associated proteins in Holstein bull seminal plas. Biol of Reprod, Penns. 1993;49:1202-1207.
56. Miller DJ, Winer MA, AX RL. Heparin-binding proteins from seminal bind to bovine spermatozoa and modulate capacitation by heparin. Biol of Reprod. 1990;42:899-915.
57. Manjunath P. Purification and biochemical characterization of three major acidic proteins (BSP-A1, BSP-A2 and BSP-A3) from bovine seminal plasm. Europ Journ of Biochem. Berlin. 1987; 241:685-692.
58. Roncoletta M. Perfil em SDS-PAGE das proteínas do plasma seminal e sua relação com a congelabilidade do sêmen de touros doadores da aça Gir. Braz Journ of Vet Res in Anim Scienc. São Paulo. 1999;36:2:143-148.
59. Barrios B, Perez-Pe R, Gallego M. Seminal plasma proteins revert the cold-shock damage of ram sperm membrane. Biol of Reprod. New York, 2000;63:1531-1537.
60. Chacur MGM, Machado Neto NB. Influência da estação do ano sobre as proteínas do plasma seminal de touros Limousin. Vet Not, 2007;13:1.

## **ASPECTOS DA REPRODUÇÃO EM TOUROS BOVINOS COM USO DE CONGELAÇÃO DE SÊMEN E TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA**

Nildo Redivo Junior  
Milton Mendes Cattini  
Camila Dutra de Souza  
Evellyn Amanda Fonseca Martins  
Daniel de Oliveira Creste  
Gabriela Gasparin  
Gabriela Figueredo Cornacini  
Murilo Magro Ferreira  
Pamela Mara Celestino Soares  
Ruyter França Carvalho  
Marcelo George Mungai Chacur

### **RESUMO**

Esta revisão de literatura tem como objetivo colaborar com informações quanto à relação entre a temperatura do escroto em touros e a qualidade do sêmen fresco e congelado. A eficiência reprodutiva é um dos principais fatores determinantes para melhoramento dos padrões reprodutivos da pecuária de corte. Sendo assim, pesquisas e investigações relacionadas a novas metodologias de análise da capacidade reprodutivas de touros, têm sido alvo de investimento e procura pelo setor tecnológico agropecuário, sobretudo quando se consideram os altos investimentos e as qualidades superiores que são desenvolvidas pelo mercado.

**Palavras-chave:** bovino, andrologia, biotecnologia de sêmen, exame de imagem.

## **ASPECTS OF REPRODUCTION IN BULLS CONCERNING THE USE OF SEMEN FREEZING AND INFRARED THERMOGRAPHY**

### **ABSTRACT**

This literature review aims to provide data regarding the relation between the temperature of the scrotum in bulls and the quality of fresh and frozen semen. The reproductive efficiency is one of the main determining factors for the improvement of the beef cattle reproductive patterns. Therefore, research and investigations related to new methodologies for analyzing the reproductive capacity of bulls has been the subject of investment and demand by the technological agricultural sector, especially when considering the high investments and the superior qualities that are developed by the market.

**Keywords:** bovine, andrology, semen biotechnology, image examination.

---

Correspondente: nildodr@hotmail.com ou nildoredivojunior@gmail.com

## ASPECTOS DE LA REPRODUCCIÓN EN TOROS BOVINOS CON USO DE CONGELACIÓN DE SEMEN Y TERMOGRAFÍA INFRARROJA

### RESUMEN

Esta revisión de literatura tiene como objetivo colaborar con informaciones sobre la relación entre la temperatura del escroto en los toros y la calidad del semen fresco y congelado. La eficiencia reproductiva es uno de los principales factores determinantes para mejorar los patrones reproductivos de la ganadería de corte. Por lo tanto, investigaciones relacionadas con nuevas metodologías de análisis de la capacidad reproductiva de toros, han sido objeto de inversión y demanda por el sector tecnológico agropecuario, sobre todo cuando se consideran las altas inversiones y las cualidades superiores que son desarrolladas por el mercado.

**Palabras clave:** bovino, andrología, biotecnología de semen, examen de imagen.

### INTRODUÇÃO

O rebanho bovino do Brasil é constituído majoritariamente pelas raças indianas (*Bos taurus indicus*) e seus mestiços, com predomínio do grupo genético Nelore. O rebanho brasileiro segundo estimado pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) no ano de 2015, alcançou a marca recorde de 215,2 milhões de cabeças, um crescimento de 1,3% em relação a 2014, sendo que no Centro-Oeste possui o maior número de cabeças entre as grandes regiões, com 33,8% da participação nacional. Entretanto, em seu aspecto qualitativo, possui baixos padrões de desenvolvimento e reprodução, com baixa produtividade e cerca de 50% em relação à taxa de natalidade, resultando dessa forma, em uma capacidade reduzida de geração de excedente – taxa de desfrute (1).

A seleção de touros, através do exame andrológico que estabelece a concentração, a motilidade e a morfologia dos espermatozoides, é um determinante importante para a melhoria do rebanho bovino, sendo a influência da composição genética dos animais de grande utilidade para as centrais de inseminação, que buscam dessa forma, modernas formas de avaliação com o uso de sêmen com qualidade comprovada devido ao melhoramento genético. A contribuição do touro para a eficiência reprodutiva é de grande relevância, pois cada animal representa matematicamente, 50% da carga genética de suas progênes (2,3).

O agronegócio, com ênfase no segmento da pecuária bovina, possui uma relevância significativa em relação à economia nacional devido a sua importante taxa de crescimento e potencial elevado. A biotecnologia voltada para a melhora do sistema de produção impulsiona a produtividade nesse setor, demonstrando neste aspecto, que a inseminação artificial vem sendo um instrumento para contribuir positivamente para o avanço de modernas técnicas de produção animal (4).

Portanto, neste contexto, a eficiência reprodutiva é um dos principais fatores determinantes para melhoramento dos padrões reprodutivos da pecuária de corte. Sendo assim, pesquisas e investigações relacionadas a novas metodologias de análise da capacidade reprodutivas de touros, têm sido alvo de investimento e procura pelo setor tecnológico agropecuário, sobretudo quando se consideram os altos investimentos e as qualidades superiores que são desenvolvidas pelo mercado externo com forte concorrência – países de primeiro mundo (1).

Em sistemas extensivos de produção, a monta natural ocorre durante os meses mais quentes do ano, no qual os touros são submetidos a variações climáticas e ambientais, que interferem em sua fertilidade e na efetividade reprodutiva do rebanho (5,6).

As altas temperaturas podem comprometer os mecanismos de termorregulação corporal e de dissipação de calor, podendo dessa forma, resultar no estresse térmico (7). A termografia por infravermelho tem sido usada para avaliar a termorregulação escrotal e as respostas fisiológicas dos animais às altas temperaturas (8), técnica que desde os anos 80, tem sido utilizada em touros como método não invasivo para assim, determinar a temperatura superficial do escroto (9).

Existem diversas formas que são capazes de elevar o desempenho do sistema de produção em regiões de baixas latitudes, as quais utilizam técnicas de recombinação gênica com o objetivo de obter o melhoramento genético, como por exemplo a utilização de cruzamentos entre as raças zebuínas que exibem maior adaptação ao clima tropical. Em contrapartida, as raças europeias especializadas têm elevado potencial para a produção de leite, mas são menos adaptadas às condições climáticas (10). No Brasil, os animais mestiços; são provenientes de cruzamentos resultantes entre raças taurinas e zebuínas, principalmente. De fato, esses genótipos têm demonstrado ser altamente produtivos e bem adaptados às condições climáticas e de criação comumente praticadas neste país (11). Esta revisão de literatura tem como objetivo colaborar com informações quanto à relação entre a temperatura do escroto em touros e a qualidade do sêmen fresco e congelado.

## **CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS RELACIONADAS COM A TERMORREGULAÇÃO TESTICULAR**

O aparelho reprodutor do touro é composto por testículos, epidídimos, ductos deferentes, glândulas acessórias, pênis e prepúcio. Os testículos possuem localização específica de proteção dentro da chamada bolsa escrotal, com posição vertical e localização inguinal. Este órgão possui entre suas funções essenciais, a endócrina e espermatogênica, que ocorrem nos chamados túbulos seminíferos, possuindo aproximadamente 2 mil metros de comprimento em forma detalhadamente enovelada, com produção de 20 mil espermatozoides por segundo (12).

Sendo assim, tais túbulos estão constituídos por células espermatogênicas, entremeadas por células de suporte, conhecidas como células de Sertoli. Já os espaços entre os túbulos, contém tecido conjuntivo frouxo, com presença de numerosos vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, células de Leydig e células livres, sendo o tipo celular Leydig ou também chamado de intersticial, a mais comumente encontrada, envolvida dessa forma, principalmente na produção de andrógenos (13).

A temperatura escrotal deve ser mantida entre 2°C a 6°C abaixo da temperatura corporal, que nos bovinos varia entre 37,8°C e 39,2°C, para que sejam dessa forma produzidos espermatozoides viáveis. São necessários mecanismos fisiológicos para uma eficiente termorregulação testicular. Além disso, a elevação da temperatura nos testículos reduz a qualidade seminal, além de produzir consequente infertilidade em touros (12,14).

A termorregulação do testículo e do escroto possuem numerosos mecanismos locais de grande importância. A formação de veias chamada de cone vascular, composta por vasos do plexo pampiniforme, que por sua vez circundam a chamada artéria testicular, permitem a troca de calor, a regulação do fluxo sanguíneo e até mesmo a perda calórica por irradiação. O escroto, pela sua localização pendular em relação ao

restante do corpo do animal, aumenta à área de superfície, facilitando desse modo à exposição do cone ao meio ambiente. A pele da região é delgada com pouca deposição de tecido gorduroso e praticamente com ausência de folículo piloso, além de sistema linfático e sanguíneo bastante desenvolvido na região, facilitando, conseqüentemente, a perda térmica e sua manutenção (15). A estrutura do escroto é composta pela túnica de dardos, uma camada de musculatura lisa que contrai os testículos, diminuindo assim a circunferência do escroto e reduzindo a superfície para eventual perda de calor, mantendo a temperatura elevada. Ou ela pode aumentar a circunferência do escroto, pela expansão da pele do escroto, aumentando a superfície para perda de calor, diminuindo a temperatura local. Há também o músculo cremaster, que realiza o posicionamento dos testículos, contraindo ou relaxando, para aproximar ou afastar, respectivamente, órgão do corpo animal. Ambos colaboram com a de acordo com a termorregulação da região (14).

### **TERMOGRAFIA DIGITAL POR INFRAVERMELHO**

O exame de imagem de termografia por infravermelho na modalidade digital é um método não invasivo e pode ser realizado, repetidamente, a qualquer hora do dia, sem efeitos colaterais para o animal e para o profissional. É um exame moderno e de acurácia na mensuração de temperaturas da superfície da pele de áreas do corpo de animais. Esta camada da pele é um emissor de calor com alta eficiência, sendo possível, detectar emissões de infravermelho a partir do tecido cutâneo e criar um esquema gráfico da distribuição da temperatura. Sabe-se dessa forma, que a variação da temperatura citada é resultado de padrões fisiológicos de alterações na perfusão tecidual e fluxo sanguíneo (1).

A termografia infravermelha possui o princípio da energia eletromagnética que é irradiada pelos corpos, sendo composta por fótons em que cada constituinte se movimenta em um padrão diferente de onda, se deslocando dessa forma com a velocidade da luz. No espectro eletromagnético, os comprimentos de onda chamados de ampla gama, variam de 3 a 12 micrômetros. O fato é que nos animais, entre 40 e 60% da dissipação de calor, ocorre dentro desse espectro ondulatório, permitindo assim, detectar pequenas mudanças na temperatura da superfície que resultam em quantidades consideráveis de fótons emitidos; sendo assim, detectados pela câmara de infravermelho e registrados em termogramas (16).

Muitos estudos sobre os efeitos do estresse térmico no desempenho reprodutivo de touros são conduzidos por simulação do ambiente natural com câmaras bioclimáticas ou por insulação escrotal (17,18). No entanto, poucos projetos têm avaliado a qualidade do sêmen durante a época de monta em situações de altos índices de temperatura-umidade devido às dificuldades na realização dos experimentos em ambiente natural (19,20).

### **BIOTECNOLOGIA DE CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN**

A biotécnica de congelação de sêmen, atualmente é utilizada, sobretudo, para aumentar a competência de reprodução em touros de elevado valor genético, permitindo desse modo, a escolha de características que melhor atendam às necessidades de cada produtor em específico. Durante a criopreservação, a célula espermática é submetida a diferentes temperaturas na fase de resfriamento, congelação e descongelação. Estes passos são capazes de ocasionar diferentes danos à estrutura celular, reduzindo dessa forma a fertilidade quando comparado com o material a fresco, o que resulta em tempo

de funcionalidade diminuído e dificuldade celular para interação com os componentes do aparelho reprodutor feminino (21).

Na década de 40, com a descoberta da função crioprotetora do glicerol, a forma de trabalho com a criopreservação do sêmen bovino teve grandes descobertas e avanços. Quando os fatores bioquímicos são afetados, os espermatozoides tornam-se inviáveis pela presença de múltiplos compartimentos subcelulares com diversas funções de análise; A criopreservação eleva a concentração de cálcio intracelular e a capacitação celular, assim, a reação acrossômica em espermatozoides podem ser realizadas em tempo menor que o necessário para sua indução nos órgãos genitais da fêmea. Sabe-se que a integridade do acrossoma é indispensável para a determinação da qualidade da célula espermática, pois a reação envolvendo o componente enzimático precisa ocorrer em concomitante com o momento da fecundação (22).

Os crioprotetores são utilizados com a finalidade de proteger os espermatozoides na condição de baixa temperatura (23).

## CONCLUSÃO

Os tópicos abordados mostram a importância e a relação de mecanismos da fisiologia animal relacionado à variação de temperatura da pele do escroto com as alterações climáticas presentes, através da produção e qualidade do sêmen. Dessa forma, buscou-se descrever algumas metodologias usadas na biotecnologia da reprodução masculina para avaliar touros e usar o sêmen para fins de reprodução animal.

## REFERÊNCIAS

1. Ruediger FR, Chacur MGM, Oba E, Ramos AA, Souza CD. Termografia digital por infravermelho do escroto e qualidade do sêmen em touros nelore (*Bos taurus indicus*). *Colloquium Agrariae*. 2014;10:67-74.
2. Chacur MGM, Martinez AIS, Machado Neto NB. Perfil em SDS-PAGE das proteínas do plasma seminal e sua relação com a qualidade do sêmen de touros da raça Nelore *Bos taurus indicus*. *Vet. Not.* 2006;12:87-93.
3. Sirchia FP. Relação entre circunferência escrotal, libido, hormônios e características do sêmen em touros Brangus e Pardo suíço [dissertação]. Presidente Prudente: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista; 2008.
4. Chacur MGM, Mizusaki KT, Santos FH, Cesare AG, Gabriel Filho LRA, Oba E, Ramos AA. Influência da estação do ano nas características do sêmen e na concentração de hormônios em touros Nelore e Simental. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2012;64:540-546.
5. Berry DP, Evans RD, Parland SMC. Evaluation of bull fertility in dairy and beef cattle using cow field data. *Theriogenology*. 2011;75:172-181.
6. Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Lampert VN, Borges JBS, Peripolli V. Bioeconomic impact of bull breeding soundness examination in cow-calf systems. *Rev Bras Zootec.* 2011;40:441-447.

7. Marai IFM, El-Darawany AA, Fadiel A, Abdel-Hafez MAM. Reproductive performance traits as affected by heat stress and its alleviation in sheep. *Trop Subtrop Agroecosyst.* 2008;8:209-234.
8. Knizkova I, kunc P, Gurdil GAK, Pinar Y, Selvi KC. Applications of infrared thermography in animal production. *J Facul Agr.* 2007;22:329-336.
9. Coulter GH. Thermography of bull testes. *Proc. 12th. Tech. Conf. Artif. Insemin. & Reprod. Natl. Assoc. Anim. Breeders.* 1988;58-62.
10. Perotto D, Kroetz IA, Rocha JL. Produção de leite de vacas mestiças Holândes x Zebu na região Nordeste do Estado do Paraná. *R. Bras. Zootec.* 2010;39:758-764.
11. Montenegro AS. Avaliação genética de características produtivas e reprodutivas de animais da raça Girolando [dissertação]. Fortaleza: Curso de pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Ceará; 2013.
12. Rocha MK. Efeitos do ambiente na reprodução de bovinos de corte [trabalho de conclusão de curso]. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2016.
13. Donofre AC, Castro AC. Determinação, desenvolvimento do sexo e o seu efeito na deposição de tecidos em bovinos. *Revista científica de medicina veterinária - issn: 1679-7353.* 2015;25.
14. Ferraz HT, Viu MAO, Moraes MS, Lopes DT, Fontana CAP, Ferraz FT, et al. Morfologia testicular e qualidade seminal em touros: Revisão. *PUBVET.* 2016; 10:715-720.
15. Gabaldi SH, Wolf A. A Importância da termorregulação testicular na qualidade do sêmen em touros. *Ciências Agrárias e da Saúde – FEA.* 2002;2:66-70.
16. Chacur MGM, Souza MD, Andrade IB, Bastos GP, Deak FLG, Souza MGR, et al. Aplicações da termografia por infravermelho na reprodução animal e bem-estar em animais domésticos e silvestres. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 2016;40:88-94.
17. Kastelic JP, Cook RB, Coulter GH, Wallins TE. Environmental factors affecting measurement of bovine scrotal surface temperature with infrared thermography. *Anim Reprod Sci.* 1996;41:153-159.
18. Fernandes CE, Dode MAN, Pereira D, Silva AED. Effects of scrotal insulation in Nellore bulls (*Bos taurus indicus*) on seminal quality and its relationship with in vitro fertilizing ability. *Theriogenology.* 2008;70:1560-1568.
19. Ravagnolo O, Mistzal I, Hoogenboom G. Genetic component of heat stress in cattle, development of a heat index function. *J Dairy Sci.* 2000;2120-2125.
20. Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Dias EA, Koetz C, Pereira GR, Peripolli V, et al. Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effects on sperm traits in Braford bulls. *Int J Biometeorol.* 2014;59:357-364.



21. Leite PA, Schreder GG, Almeida CLR, Zúccari CES, Silva EVC. Criopreservação do sêmen bovino. UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde. 2011;13:279-86.
22. Siqueira JB, Guimarães JD, Costa EP, Henry M, Torres CAA, Silva MVGB, et al. R. Bras. Zootec. 2007;36:387-395.
23. Moreira ARN. Criopreservação de sêmen de garanhões da raça mangalarga marchador em diluidores com diferentes crioprotetores associados ou não à antocianina [dissertação]. Viçosa: Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa; 2016.

## ASPECTOS DA TÉCNICA DE ELETROFORESE DO PLASMA SEMINAL EM BOVINOS

Camila Dutra de Souza<sup>1\*</sup>  
Talita Raquel Cavichioli Sebastião<sup>2</sup>  
Gabriela Figueredo Cornacini<sup>2</sup>  
Fernanda Luíza Guinossi Barbosa Deak<sup>3</sup>  
Marcelo George Mungai Chacur<sup>4</sup>

### RESUMO

O plasma seminal contém fatores protéicos específicos que provocam importantes efeitos tanto na capacidade de fertilização do espermatozoide quanto na fisiologia reprodutiva da fêmea. O isolamento e caracterização dos componentes do plasma seminal possibilitam a avaliação de sua influência sobre as células espermáticas, o aprimoramento das técnicas de armazenamento e a identificação precoce de animais férteis em relação àqueles subférteis. Por meio das técnicas de biologia molecular, muitas proteínas foram identificadas e caracterizadas e o estudo dessas proteínas poderá contribuir para uma melhor compreensão dos processos fisiológicos ligados à fertilidade. Estes auxiliam o diagnóstico de algumas patologias ou diferenciação de animais quanto ao grau de sua fertilidade frente a alterações de clima e manejo, associadas a patologias do trato reprodutivo masculino ou do espermatozoide. O objetivo da presente revisão de literatura é de abordar alguns aspectos do uso da eletroforese do plasma seminal em bovinos para fins de auxílio na seleção de animais para a reprodução.

**Palavras-chave:** líquido seminal, SDS-page, biologia molecular.

### ASPECTS OF THE TECHNIQUE OF SEMINAL PLASMA ELECTROPHORESIS IN BOVINE

#### ABSTRACT

Seminal plasma contains specific protein factors that have important effects on both sperm fertilization capacity and female reproductive physiology. The isolation and characterization of the components of the seminal plasma allows the evaluation of their influence on sperm cells, the improvement of storage techniques and the early identification of fertile animals in relation to the subfertile. Through molecular biology techniques, many proteins have been identified and characterized, and the study of these proteins may contribute to a better understanding of physiological processes related to fertility. These help the diagnosis of some pathologies or differentiation of animals as to the degree of their fertility in the face of changes in climate and management, associated with pathologies of the male reproductive tract or spermatozoa.

---

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – UNOESTE;

<sup>2</sup>Graduanda de Medicina Veterinária – UNOESTE;

<sup>3</sup>Mestre pelo Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – UNOESTE;

<sup>4</sup>Professor da Medicina Veterinária e do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – UNOESTE;

\*Email: camiladutrasouza@hotmail.com

The objective of the present literature review is to address some aspects of the use of seminal plasma electrophoresis in cattle for the purpose of aiding the selection of animals for reproduction.

**Keywords:** seminal fluid, SDS-page, molecular biology.

## ASPECTOS DE LA TÉCNICA DE ELETROFORESIS DEL PLASMA SEMINAL EN BOVINOS

### RESUMEN

El plasma seminal contiene factores proteicos específicos que provocan importantes efectos tanto en la capacidad de fertilización del espermatozoide y en la fisiología reproductiva de la hembra. El aislamiento y caracterización de los componentes del plasma seminal posibilitan la evaluación de su influencia sobre las células espermáticas, el perfeccionamiento de las técnicas de almacenamiento y la identificación precoz de animales fértiles en relación a aquellos subfértiles. A través de las técnicas de biología molecular, muchas proteínas han sido identificadas y caracterizadas y el estudio de estas proteínas puede contribuir a una mejor comprensión de los procesos fisiológicos relacionados con la fertilidad. Estos auxilian el diagnóstico de algunas patologías o diferenciación de animales en cuanto al grado de su fertilidad frente a alteraciones de clima y manejo, asociadas a patologías del tracto reproductivo masculino o del espermatozoide. El objetivo de la presente revisión de literatura es abordar algunos aspectos del uso de la electroforesis del plasma seminal en bovinos para fines de auxilio en la selección de animales para la reproducción

**Palabras clave:** líquido seminal, SDS-page, biología molecular.

### INTRODUÇÃO

A busca por melhores índices reprodutivos cresce à medida que se intensificam os sistemas de produção e é nesse contexto que as pesquisas sobre possíveis marcadores moleculares de fertilidade conquistaram espaço nos últimos anos. O melhoramento genético é uma ferramenta indispensável para aumentar os níveis de produtividade e a qualidade dos produtos agropecuários. Para isto a seleção de animais com alto valor genético, capazes de expressarem e de transmitirem aos descendentes características de interesse econômico, é imprescindível.

Vários parâmetros são utilizados na tentativa de estimar o potencial reprodutivo de um macho de interesse, dentre os quais se destacam a circunferência escrotal, motilidade, vigor e morfologia espermática, teste hiposmótico, teste de integridade acrossômica, entre outros. Embora estes parâmetros sejam obtidos de maneira relativamente rápida, prática e a baixo custo, estes parâmetros podem ser insuficientes para predizer o potencial fecundante dos espermatozoides ou fertilidade de um animal devido ao fato de que estes exames não levam em consideração a habilidade dos espermatozoides de sofrerem alterações fisiológicas, morfológicas e funcionais importantes para o processo de fertilização (1,2).

No Brasil, devido às condições tropicais, os animais de interesse reprodutivo podem apresentar variações nas características físicas e morfológicas do sêmen nas diferentes idades, provocadas principalmente por fatores genéticos, ambientais, nutricionais e de manejo. A fertilidade de um reprodutor depende de uma série de

fatores, como o comportamento animal e as características ligadas diretamente ao sêmen, tais como a motilidade e morfologia dos espermatozoides e a composição bioquímica do plasma seminal.

Sabe-se que a capacidade de fertilização da célula espermática depende de fatores intrínsecos, dentre os quais a integridade de cromatina, a qualidade do genoma, a estrutura e a composição da membrana, além da presença de certos componentes bioquímicos do plasma seminal, como as proteínas e açúcares redutores, que contribuirão para que a célula espermática exerça com eficiência a sua função.

A eletroforese é uma técnica que apresenta uso crescente desde a década de 50 para mapear e identificar componentes protéicos solúveis de ejaculados, ou seja, na busca de marcadores bioquímicos. Os primeiros trabalhos utilizaram eletroforese em papel, gel de ágar, gel de amido, acetato de celulose (3). Mais recentemente, tem-se utilizado eletroforese uni ou bidimensional em gel de poliacrilamida.

O objetivo da presente revisão de literatura é de abordar alguns aspectos do uso da eletroforese do plasma seminal em bovinos para fins de auxílio na seleção de animais para a reprodução.

## **DEFINIÇÃO**

### **Plasma Seminal**

O plasma seminal é um fluido originado nas glândulas acessórias (ampolas, glândulas vesiculares e bulbo-uretrais), testículo e epidídimo e atua como veículo no transporte para os espermatozoides, que compõe menos que 1% do volume total, durante a ejaculação além de fornecer substâncias, como carboidratos, lipídios, proteínas e eletrólitos, que são essenciais para as células espermáticas no aparelho genital feminino (4). Apesar dos espermatozoides armazenados na cauda do epidídimo possuírem capacidade de fertilização (5), muitos estudos destacam a importância do contato do espermatozoide com o fluido proveniente das glândulas sexuais acessórias (1,2).

O plasma seminal é expelido em frações durante a ejaculação por meio de contrações uretrais (6). A primeira porção ejaculada é a fração pré-espermática, translúcida, e provém das glândulas bulbouretrais e da próstata. Esta fração possui a função de limpeza da uretra. A segunda fração possui aspecto leitoso, é rica em espermatozoides, glicerilfosforilcolina (GPC) e ergotineína, e é composta por secreções do epidídimo e da ampola do ducto deferente. A terceira porção contém poucos espermatozoides, porém grandes quantidades de ácido cítrico e gel proveniente das glândulas vesiculares, com a função de carrear os poucos espermatozoides que restaram na uretra (7).

Dentre os constituintes do plasma seminal estão os íons, açúcares, proteínas, lipídeos, aminoácidos, açúcares, ácido cítrico, minerais, fosfatases, prostaglandinas, frutose, potássio e citrato. As concentrações dos constituintes do plasma seminal dependem da espécie, do intervalo entre as ejaculações, método de coleta do sêmen, da genética e da idade do animal (8). O conteúdo protéico do plasma seminal de mamíferos varia de 3 a 7%, dependendo da espécie, sendo a concentração de proteínas de grande importância, pois é responsável pelos efeitos deste fluido na fertilidade espermática, tendo um papel essencial no metabolismo do espermatozoide, com interferência na fertilidade dos animais (9), destacando sua importância nos processos de capacitação e reação acrossômica, integridade da membrana plasmática, (10) e motilidade (11) e interação entre gametas (12).

Sabe-se que o plasma seminal exerce várias funções sobre o metabolismo espermático e o processo de fecundação como: ativação da motilidade espermática, ação antimicrobiana, neutralização dos metabólitos espermáticos, proteção contra a acrosina por meio de inibidores de proteases, entre outros. Várias pesquisas têm fornecido evidências de que componentes específicos de plasma seminal, particularmente proteínas, são adsorvidas na superfície dos espermatozoides ejaculados (13,14,15).

Vários componentes protéicos do plasma seminal foram relacionados com os índices de fertilidade de reprodutores bovinos (1), com a congelabilidade (16,17,18,19) e a viabilidade do sêmen (20).

## **Eletroforese**

A proteômica é a ferramenta mais apropriada para se entender o funcionamento dos genes, porque analisa o produto final do genoma. O termo proteoma foi proposto como sendo todo o conteúdo de proteínas expressas por um genoma (21). Portanto, o proteoma não é estático, mas muda com o desenvolvimento do organismo e com qualquer mudança no seu ambiente. Desta maneira, o proteoma reflete o estado atual de funcionamento em condições fisiológicas específicas, ou seja, a expressão funcional do genoma (22). Embora a identificação de todas as proteínas codificadas no genoma de um organismo pareça uma tarefa bastante difícil de realizar, mesmo em organismos mais simples, são cada vez mais completas as informações obtidas através de estudos proteômicos (23).

A eletroforese bidimensional é uma das ferramentas mais utilizadas para o estudo do proteoma, esta técnica foi proposta por O'Farrel (24) e ao longo dos anos tem sofrido ajustes constantes que proporcionam resultados cada vez mais precisos. A eletroforese bidimensional consiste em separar, sob a influência de um campo elétrico, moléculas que possuem cargas. Para isto, são realizadas duas corridas eletroforéticas sequenciais. Primeiro, a focalização isoeletrica (IEF) para separar as proteínas de acordo com o seu ponto isoeletrico, e a segunda, a eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) para separá-las de acordo com suas massas moleculares. O SDS liga-se as proteínas provavelmente por ligações hidrofóbicas em quantidades aproximadamente proporcionais ao peso molecular da proteína, cerca de uma molécula de SDS para cada dois resíduos de aminoácidos (25).

Uma proteína possui grupos carregados de ambas polaridades e, portanto, apresenta um ponto isoeletrico, que é o pH no qual a proteína é imóvel em um campo elétrico. Se uma mistura de proteínas é submetida à eletroforese por meio de uma solução que possua um gradiente de pH estável, na qual o pH aumenta, aos poucos, do ânodo para o cátodo, cada proteína migrará para uma posição do gradiente de pH, que corresponda ao seu ponto isoeletrico. Se uma molécula protéica difundir para fora dessa posição, sua carga mudará à medida que ela for para uma região de pH diferente, e as forças eletroforéticas resultantes levarão a proteína de volta para a sua posição isoeletrica. Cada proteína é, portanto, "focalizada" em uma faixa estreita próximo ao seu ponto isoeletrico, que pode ser de até 0,01 unidade de pH. Por isso, essa técnica foi denominada focalização isoeletrica (IEF, de isoelectric focusing) (26). Quando bem-sucedida obtêm-se um gel de poliacrilamida contendo numerosos spots, bem separados, cada um correspondendo a uma proteína (ou a uma forma protéica) (27).

A eletroforese de proteínas é geralmente executada em géis de um polímero que apresenta ligações cruzadas, a poliacrilamida. O gel de poliacrilamida age como uma peneira molecular, em que as moléculas de menor peso migram verticalmente mais facilmente pelo gel e as moléculas de maior peso molecular ficam retidas na porção

superior do gel. A porosidade deste gel de poliacrilamida pode ser escolhida, sendo que quanto maior a concentração de acrilamida menores serão os poros da malha formada (22). Durante a eletroforese de proteínas, a taxa de migração ou mobilidade eletroforética é influenciada pela carga protéica no meio eletroforético, assim como pela sua forma, tamanho e associação com outros compostos ionizáveis. Os componentes dos extratos protéicos migram com velocidades individuais em um campo elétrico (28).

Em suma, a sequência experimental para a realização da eletroforese 2D é: 1) Preparação da amostra: A preparação adequada da amostra é absolutamente essencial para bons resultados de eletroforese 2-D. Devido à grande diversidade de tipos de proteínas e origem destas, o processo de preparação de amostra ideal para uma dada amostra deve ser determinado empiricamente. Idealmente, o processo irá resultar na completa solubilização, desagregação, desnaturação e redução das proteínas na amostra. 2) Focalização isoelétrica (primeira dimensão): Separa as proteínas de acordo com o pI. 3) SDS-PAGE - Eletroforese desnaturante em gel de poliacrilamida (segunda dimensão): Separa as proteínas segundo suas massas moleculares. 4) Detecção das proteínas: As proteínas separadas eletroforéticamente podem ser visualizadas por métodos de coloração como: azul brilhante de coomassie, nitrato de prata, fluorescência ou autoradiografia, ou por métodos específicos como a coloração de glicoproteínas ou detecção com imunoquímicos (22) e 5) Análise da imagem. É realizada por meio de softwares específicos, após a digitalização do gel. O aplicativo permite a contagem do número de spots por gel, verificar a intensidade de cada spot e compará-las com os spots de diferentes géis, entre outros recursos.

## **APLICAÇÕES DA ELETROFORESE NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS**

A técnica de eletroforese vem sendo utilizada para identificação e mapeamento dos componentes do plasma seminal em bovinos desde a década de 50 (29). O touro tem um papel fundamental no progresso genético e na cadeia produtiva do rebanho, uma vez que um único reprodutor é capaz de cobrir um grande número de vacas em monta natural e com a inseminação artificial pode chegar a mais de 10 mil vacas/ano.

Os efeitos das proteínas na fertilidade foram verificados por Killian et al. (1) e que, utilizando a técnica de eletroforese bidimensional em géis, correlacionaram a fertilidade de touros com as concentrações de proteínas do plasma seminal, sendo algumas mais proeminentes nos animais de alta fertilidade e outras abundantes apenas nos de baixa fertilidade.

Em Chacur et al. (30), as bandas correspondentes às proteínas entre 9 e 12 KDa mostraram uma uniformidade de expressão nos touros Nelore padrão e mocho com quadros espermáticos satisfatórios, segundo os critérios adotados pelo CBRA (31).

A aSFP é uma proteína envolvida com a proteção da célula espermática e é secretada principalmente pelas glândulas vesiculares e ampolas não tendo sido detectada em nenhum outro tecido bovino. Essa proteína possui 13 kDa e pertence à família das espermedesinas (32). Em Chacur et al. (30), a eletroforese revelou proteínas de 13 KDa em 100% dos animais aptos no exame andrológico.

As aSFP se apresentam em diferentes isoformas e protegem os espermatozoides do dano oxidativo através da diminuição da peroxidação lipídica, além de demonstrarem atividade mitogênica e estimularem a secreção de esteróides pelas células da granulosa, in vitro (10). Schoneck et al. (33) sugeriram que a aSFP possui a capacidade de preservar a integridade de membrana, agindo como um redutor de peroxidação lipídica da membrana do espermatozoide e regulando a atividade mitocondrial e, conseqüentemente a motilidade espermática, sendo, portanto, capaz de modular a

função metabólica dos espermatozoides *in vitro*. Esse efeito é dose dependente, e altos níveis desta proteína podem apresentar efeito inverso como a inibição da motilidade espermática e atividade mitocondrial.

Uma outra classe de espermadesina que foi chamada de Z13, possui 50% da sequência de aminoácidos idêntica à aSFP bovina, com peso molecular de 26KDa. Moura et al. (2) e Killian et al. (1) relacionaram a espermadesina Z13 à baixa fertilidade em touros. Moura et al. (2) sugerem ainda que a menor fertilidade de touros com altos níveis de espermadesina Z13 deva-se à capacidade desta proteína de alterar aspectos da motilidade espermática. Em Chacur et al. (30), essa proteína se apresentou em 25% das amostras de plasma seminal dos animais aptos para a reprodução; e em 75% dos touros parcialmente aptos pertencentes às duas variedades. Esta proteína tem sido alvo de estudos por conferir baixa fertilidade aos touros, quando presente no plasma seminal (18,34). Gerena (35) descreveu esta proteína como lipocalin, relatando que a mesma liga-se na superfície do espermatozoide no momento da ejaculação.

As “Bovine Seminal Plasma Proteins” (BSPs) são proteínas produzidas nas vesículas seminais, ricas em fibronectina tipo II e responsáveis por 70% das proteínas totais do plasma seminal de bovinos (36). Existem três tipos de BSP sendo BSP-A1, BSP-A2 e BSP-A3. Segundo Seidah et al. (37) as proteínas BSP-A1 e BSP-A2 possuem idêntica estrutura de aminoácidos e por isso podem ser acopladas em um complexo denominado PDC-109. Gwathmey et al. (38) concluíram existir relação entre PDC-109 e a capacitação espermática, por meio da retirada de colesterol e fosfolipídios da membrana do espermatozoide, bem como com a motilidade dos mesmos.

A proteína BSP-A3 está relacionada com influência negativa no metabolismo espermático em bovinos (36). Outro achado relevante do autor é a maior quantidade de proteínas totais no grupo de menor fertilidade, que sugere existir uma concentração adequada e ainda não estabelecida de determinadas proteínas no sêmen de reprodutores mais férteis.

As proteínas BSPs estão envolvidas com o processo de reação acrossômica. Manjunath et al. (39) verificaram que a BSP 1, 2 e a BSP 5 kDa exibiram uma alta atividade quando ligadas à calmodulina, o que pode influenciar no transporte intracelular do Ca<sup>2+</sup> e na reação acrossomal e, conseqüentemente, com os fenômenos de fertilização. As PLA2 são enzimas que variam de 14 a 20 kDa, e no aparelho reprodutivo, a PLA2 regula a maturação espermática e a reação acrossômica, sendo a expressão da PLA2 e osteopontina detectada em maior abundância em touros com alta capacidade de fertilização (2).

A BSP 1 é uma proteína secretada pelas glândulas vesiculares seminais de bovinos, que se liga à peça intermediária dos espermatozoides, no momento da ejaculação. Esta proteína altera as propriedades biofísicas da membrana, por meio do efluxo de colesterol e fosfolipídeos no primeiro estágio da capacitação e pode ter alguma influência na motilidade espermática (39).

Em Chacur et al. (30), a banda de 20 KDa estava presente em 100% nos géis das eletroforeses dos touros da variedade padrão. Sendo a de 20 KDa descrita como seminal plasmin, e relatada como promotora de alta fertilidade, com ação antimicrobiana no sêmen e promotora de proteção à membrana plasmática dos espermatozoides de ovinos submetidos ao choque térmico (20).

A proteína de 35 KDa esteve presente em 25% dos animais aptos e em 75% dos parcialmente aptos (30). Vierula (40) afirmou que esta proteína ativa o espermatozoide e a reação acrossômica.

Os spots 506 (47,1 kDa, pI 4), 1406 (46,3 kDa, 4,3 pI) e 1505 (52,8 kDa, pI 4,7) foram caracterizados como clusterina, em função dos respectivos valores de massa

molecular e ponto isoelétrico nos mapas eletroforéticos bidimensionais do plasma seminal. Essas proteínas apresentaram maior expressão nos mapas eletroforéticos de animais com maior motilidade espermática sendo que a intensidade do spot 1505 foi mais elevada no plasma seminal de animais com menor percentagem de células morfológicamente normais. A clusterina está envolvida em vários processos fisiológicos, incluindo adesão e agregação celular, maturação espermática e proteção das membranas celulares expostas a moléculas hidrofóbicas potencialmente tóxicas nas barreiras fluido-teciduals (41). A clusterina também pode agir como uma chaperona, associando e solubilizando proteínas parcialmente desestruturadas, reduzindo a citotoxicidade da precipitação protéica induzida por estresses celulares (42), o que poderia ser importante para a proteção dos espermatozoides no aparelho reprodutivo feminino (43). Este achado pode justificar a maior intensidade da clusterina no grupo de maior motilidade já que esta proteína pode diminuir a toxicidade da precipitação protéica que provavelmente causa danos à membrana celular e assim interfere na motilidade do espermatozoide.

A osteopontina (OPN) é uma glicoproteína presente em tecidos e fluidos orgânicos, é proeminente no tecido ósseo e promove a mineralização e reabsorção da matriz. Possui peso molecular de 55 kDa, foi isolada na glândula vesicular e na ampola do ducto deferente e apresenta-se em alta concentração no PS em animais de alta fertilidade (44). A OPN liga-se à membrana espermática por meio das integrinas, e esse complexo OPN-integrinas interage com receptores na membrana oocitária (45). Esta modula a função celular pelos receptores e modifica as características da membrana plasmática do espermatozoide, favorecendo a fertilidade, além de participar da capacitação espermática (35).

Dados de Erikson et al. (46) e de Gonçalves et al. (47) sugerem papel importante da osteopontina na fertilização *in vitro* (FIV) e no controle da polispermia em bovinos. Ambos realizaram ensaios de FIV, comparando a utilização de sêmen com alta concentração de osteopontina e baixa concentração da mesma. O teste de imunofluorescência esclarece o local de adesão da osteopontina no espermatozoide, sendo este na região da cabeça e peça intermediária (46). A OPN promove a capacitação dos espermatozoides através de mecanismos ainda indeterminados e aumenta a viabilidade espermática, provavelmente por bloquear vias apoptóticas (46).

A proteína de 71 kDa, em função da localização deste spot no gel bidimensional, sugere-se que seja a albumina, um componente multifuncional que está presente tanto no fluido da cauda do epidídimo como nas secreções das glândulas sexuais acessórias (48). A albumina protege a membrana espermática ligando-se aos peróxidos de lipídeos e reduzindo assim os efeitos danosos destes compostos à membrana (49).

Esta proteína também foi associada com a capacitação espermática, já que, promove profundas alterações na membrana do espermatozoide, modulando a perda de colesterol da membrana plasmática, aumentando sua permeabilidade a íons cálcio e bicarbonatos e que subsequentemente ativando o sistema de adenilato ciclase ou fosfodiesterases (50). A partir daí, ocorre uma elevação do AMPc que resulta na ativação da proteína kinase A, que ativa a tirosina kinase ou inativa a tirosina fosfostases, mecanismos responsáveis pela capacitação. Estas alterações bioquímicas promovem uma alteração transitória no padrão de motilidade espermática, denominada hiperativação. A hiperativação espermática é um processo que os espermatozoides sofrem durante a passagem no oviduto da fêmea, sendo descrito como um movimento vigoroso, não progressivo e não linear (51). Durante a hiperativação, o padrão e o vigor da trajetória do espermatozoide são alterados, passando a ser caracterizados por uma larga amplitude do batimento flagelar, aumento médio do movimento lateral da cabeça e



da cauda do espermatozoide associados também com uma motilidade lenta ou não progressiva de baixa frequência de batimento flagelar (51).

A eletroforese revelou a existência de uma proteína de 80KDa, provavelmente a lactoferrina, presente em 16,6% dos touros aptos; e em 83,3% dos animais parcialmente aptos para a reprodução (30). Esta proteína atua como antioxidante, protegendo a membrana plasmática dos espermatozoides (52).

A proteína identificada com maior peso molecular foi de 105 KDa, em Chacur et al. (30) encontrada em 50 % dos animais aptos e em 50 % nos parcialmente aptos à reprodução. Gatti (53) relatou que esta proteína esteve presente no plasma seminal de bovinos e nas células haplóides da linhagem germinativa, colaborando na gametogênese.

A importância das “Heat Shock Proteins” (HSP) na reprodução, foi descrita por meio do uso da técnica de “Western Blotting” por Kamaruddin et al. (54) que determinaram a localização da molécula de HSP-70 nos espermatozoides bovinos, em que o gameta logo após a ejaculação, possui a HSP-70 somente na região acrossômica; porém durante a capacitação ela se desloca para a porção caudal até atingir a peça intermediária. Tal fato sugere a importância da proteína HSP-70 neste processo, e não só no controle do estresse térmico. Spinaci et al. (55) encontraram resultados similares em estudo realizado com machos caprinos. Contudo, as proteínas HSP-60 e HSP-90 não sofreram o mesmo deslocamento durante a capacitação. Um dado relevante do estudo é que após o processo de sexagem do sêmen, por citometria de fluxo, houve o deslocamento da HSP-70.

As Proteínas com afinidade à heparina “Heparin Binding Proteins” (HPB), juntamente com as proteínas dos grupos das proteoglicanas e glicosaminoglicanas (GAGs), são produzidas nas glândulas sexuais acessórias dos machos e tornaram-se parâmetros importantes na indicação de fertilidade em touros. As GAGs, também estão presentes no trato reprodutivo das fêmeas e exercem funções na capacitação dos espermatozoides (39).

Estudando a eletroforese em touros Nelore, em 100% deles com boa qualidade do sêmen apresentaram bandas proteicas de 13, 18 e 20KDa no plasma seminal com pesos moleculares entre 5 e 105KDa (56). As estações do inverno e verão influenciaram no perfil proteico do sêmen em reprodutores Limousin, a qualidade do sêmen foi superior na presença simultânea das bandas de 20, 55, 66 e 80KDa nas duas estações (56) sendo a proteína de 40KDa identificada, na mesma raça, em todos os reprodutores com baixa qualidade do sêmen no verão (57). Na raça Tabapuã, os touros produziram sêmen de boa qualidade no inverno tendo as bandas de 20, 55, 66 e 80KDa isoladas no plasma seminal (58). Em um estudo com Pardo-Suíços, touros com sêmen de boa e má qualidade foram avaliados quanto ao perfil proteico do plasma seminal, sendo que a boa qualidade esteve relacionada com as bandas de 55 e 66KDa (59).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio das técnicas de biologia molecular, muitas proteínas foram identificadas e caracterizadas e o estudo dessas proteínas poderá contribuir para uma melhor compreensão dos processos fisiológicos ligados à fertilidade. Estes auxiliam o diagnóstico de algumas patologias ou diferenciação de animais quanto ao grau de sua fertilidade frente a alterações de clima e manejo, associadas a patologias do trato reprodutivo masculino ou do espermatozoide.

## REFERÊNCIAS

1. Killian GJ, Chapman DA, Rogowski LA. Fertility-associated proteins in Holstein bull seminal plasma. *Biol Reprod.* 1993;49:1202-7.
2. Moura AA, Koc H, Chapman DA, Killian GJ. Identification of accessory sex gland fluid proteins as related to fertility indexes of dairy bulls: a proteomic approach. *J Androl.* 2006;27:201-11.
3. Szumowski P. Quelques résultats de l'examen électrophorétique des protéines du plasma seminal de taureau. In: *International Congress of Animal Reproduction*; Cambridge, 1956. p. 37-42.
4. Frazer GS, Bucci DM. SDS pages characterization of the protein in equine seminal plasma. *Theriogenology.* 1996;46:579-91.
5. Jones R. Plasma membrane structure and remodeling during sperm Maturation in the epididymis. *J Reprod Fertil.* 1998;53:73-84.
6. Kareskoski M, Katila T. Components of stallion seminal plasma and the effects of seminal plasma on sperm longevity. *Anim Reprod Sci.* 2008;107:249-56.
7. Amann RP, Graham JK. Spermatozoal function. In: *Mckinnon AO; Voss JL. Equine reproduction.* Philadelphia: Saunders, 1993. p.715-45.
8. Shivaji S, Scheit KH, Bhargava PM. *Proteins of seminal plasma.* New York: John Wiley and Sons; 1990.
9. Gatti JL, Castella S, Dacheux F, Ecroyd H, Metayer S, Thimon V, et al. Post-testicular sperm environment and fertility. *Anim Reprod Sci.* 2004;82-83:321-39.
10. Einspanier R, Krause L, Calvete JJ, Topfer-petersen E, Klostermeyerb H, Karg H. Bovine seminal plasma asfp: localization of disulfide bridges and detection of three different isoelectric forms. *FEBBS.* 1994;344:61-64.
11. Bratanov K, Somlev B, Doycheva M, Tornyov A, Efremova V. Effect of kallikrein on bull sperm motility in vitro. *J Fertil.* 1978;23:73-75.
12. Roldan ERS, Fragio C. Phospholipase A2 activation and subsequent exocytosis in Ca<sup>2+</sup>/ionophore-induced acrosome reaction of ram spermatozoa. *J Biol Chem.* 1993;268:13962-70.
13. Metz KW, Berger T, Clegg ED. Adsorption of seminal plasma-proteins by boar spermatozoa. *Theriogenology.* 1990;34:691-700.
14. Watson PF. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod Fertil Dev.* 1995;7:871-91.

15. Thomas CJ, Anbazhagan V, Ramakrishnan M, Sultan N, Surolia I, Swamy MJ. Mechanism of membrane binding by the bovine seminal plasma protein, PDC-109: a surface plasmon resonance study. *Biophys.* 2003;84:3037-44.
16. Roncoletta M. Perfil em SDS-PAGE das proteínas de espermatozóides e plasma seminal relacionados com a congelabilidade de sêmen de touros [dissertação]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 1999.
17. Roncoletta M, Francheschini PH, de LIMA et al. Perfil em SDS-PAGE das proteínas do plasma seminal e sua relação com a congelabilidade do sêmen de touros zebuínos. *Ars Veterinária.* 1997;13:135-40.
18. Roncoletta M, Franceschini PH, Lima VFMHDe, Rodrigues LH, Oliveira MA, Silva C. Perfil em SDS-PAGE das proteínas do plasma seminal e sua relação com a congelabilidade do sêmen de touros doadores da raça gir. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 1999; 36.
19. Roncoletta M, Morani ESC, Francheschini PH Et al. Caracterização da proteína 26kda do plasma seminal e sua relação com a congelabilidade do sêmen de touros. *Arquivos Faculdade Veterinária UFRGS.* 2000;28:323- 30.
20. Barrios B, Perez-pe R, Gallego M. et al. Seminal plasma proteins revert the cold-shock damage on ram sperm membrane. *Biol Reprod.* 2000;63:1531-37.
21. Wilkins MR, Williams KL, Appel RD, Hochstrasser DF. *Proteome Research: New Frontiers in Functional Genomics;* 1997.
22. Rocha TL, Costa PHA, Magalhães JCC, Evaristo RGS, Vasconcelos EAR, Coutinho MV, et al. Eletroforese Bidimensional e análise de proteomas. *Embrapa, Comunicado Técnico 136;* 2005.
23. Suresh S, Mohan SS, Mishra G, Hanumanthu GR, Suresh M, Reddy R, et al. Proteomic resources: Integrating biomedical information in humans. *Gene.* 2005;364:13-18.
24. O'Farrel PZ, Goodman HM, O'Farrel PH. High resolution of two-dimensional electrophoresis of basic as well as acidic proteins. *Cell.* 1977;12:1133-42.
25. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger - Princípios de Bioquímica,* 3ª ed; 2002.
26. Voet D, Voet JG. *Bioquímica - 3ª ed.* Artmed, 2006. p. 149-150.
27. Santos PM, Teixeira MC, Correia IS. A análise proteômica quantitativa na revelação de mecanismos de resposta a estresse químico em microorganismos. *Boletim de Biotecnologia.* 2004;77:7-17.
28. Brune W, Alfenas AC. *Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: Fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos.* Viçosa: UFV; 1998.

29. Larson BL, Salisbury GW. The proteins of bovine seminal plasma I. Preliminary and electrophoretics studies. *J Biol Chem.* 1954;206:741-49.
30. Chacur MGM, Martinez AIS, Machado Neto NB. Perfil em SDS-page das proteínas do plasma seminal e sua relação com a qualidade do sêmen de touros da raça nelore (*bos taurus indicus*). *Vet. Not.* 2006;12:87-93.
31. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA). Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2. ed: Belo Horizonte, 1998.
32. Calvete JJ, Sanz L, Dostalovi Z, Topfer-petersen E. Spermadhesins: Sperm-coating proteins involved in capacitation and zona pellucida binding. *Fertilizat II.* 1995:35-40.
33. Schöneck C, Braum J, Einspanier R. Sperm viability is influenced in vitro by the bovine seminal protein asfp: Effects on motility, mitochondrial activity and lipid peroxidation. *Theriogenology.* 1996;45:633-42.
34. Chacur MGM, Rabesquine MM, Machado neto NB. Seleção da fertilidade em touros e proteínas do plasma seminal: correlação com o quadro espermático. *Rev Bras Reprod Anim.* 2003;27:185-86.
35. Gerena RL. Immunocytochemical localization of lipocalin. Type prostaglandin D, synthase in the bull testis and epididymis and on ejaculated sperm. *Biol Reprod.* 2000;62:547-56.
36. Roncoletta, M. Perfil Bidimensional de Proteínas de Membrana de Espermatozóides e de Plasma Seminal, relacionados com fertilidade e com a congelabilidade de sêmen de touros. [tese] Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; 2003.
37. Seidah NG, Manjunath P, Rochemont J, Sairam MR, Chrétien M. Complete amino acid sequence of BSP-A3 from bovine seminal plasma. Homology to PDC-109 and to the collagen-binding domain of fibronectin. *Biochem J.* 1987;1:195-203.
38. Gwathmey TM, Ignatz GG, Mueller JL, Manjunath P, Suarez SS. Bovine seminal plasma proteins PDC-109, BSP-A3, and BSP-30-kda share functional roles in storing sperm in the oviduct. *Biol Reprod.* 2006;75:501-7.
39. Manjunath P, Bergeron A, Lefebvre J, Fan J. Seminal plasma proteins: functions and interaction with protective agents during semen preservation. *Soc Reprod Fertil Suppl.* 2007;65:217-28.
40. Vierula M. Effect of Seminal Plasma and Calcium on the Stability of the Surface Protein Composition of Ejaculated Bull Spermatozoa. *Andrologia.* 1983;15:435-45.

41. Aronow BJ, Lund SD, Brown TL, Harmony JA, Witte DP. Apolipoprotein J expression at fluid-tissue interfaces: potential role in barrier cytoprotection. *Proc Nat Acad Sci.* 1993;90:725-9.
42. Humphreys DT, Carver JA, Easterbrook-Smith SB, Wilson MR. Clusterin has chaperone-like activity similar to that of small heat shock proteins. *J Biol Chem.* 1999;274:6875-81.
43. Meri S, Jarva H. Complement regulatory proteins. *Nature Encyclopedia of Life Sciences*, 2001. p.1-7.
44. Cancel AM, Chapman DA, Killian GJ. Osteopontin is the 55-kilodalton fertility-associated protein in Holstein bull seminal plasma. *Biol Reprod.* 1997;57:1293-1301.
45. D'Cruz OJ. Adhesion molecules in human sperm-oocyte interaction: relevance to infertility. *Front Biosci.* 1996;1:161-76.
46. Erikson DW, Way AL, Chapman DA, Killian GJ. Detection of osteopontin on Holstein bull spermatozoa, in cauda epididymal fluid and testis homogenates, and its potential role in bovine fertilization. *Reprod.* 2007;133:909-17.
47. Gonçalves RF, Chapman DA, Bertolla RP, Eder I, Killian GJ. Pre-treatment of cattle semen or oocytes with purified milk osteopontin affects in vitro fertilization and embryo development. *Anim. Reprod. Sci.* 2007;2:625-31.
48. Moura AA, Souza CE, Stanley BA, Champman DA, Killian GJ. Proteomics of cauda epididymal fluid from mature. *J Proteomics.* 2010;73:2006-20.
49. Alvarez JG, Storey BT. Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. *Mol. Reprod. Dev.* 1995;42:334-46.
50. Visconti PE, Kopf GS. Regulation of protein phosphorylation during sperm capacitation. *Biol Reprod.* 1998;59:1-6.
51. Verstegen J, Iguer-ouada M, Onclin K. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology.* 2002;57:149-79.
52. Fouchecourt S, Métayer S, Locatelli A, Dacheux F, Dacheux JL. Mammalian lipocalin-type prostaglandin D2 synthesis in the fluids of the male genital tract: Putative Biochemical and physiological functions. *Biol Reprod.* 2002;66:468-97.
53. Gatti JL. A 105 to 94 Kilodalton protein in epididymal fluids of domestic mammals in angiotensin –I covering enzyme (ACE) evidence that sperm are the source of this ace. *Biol Reprod.* 1999;60:937-45.
54. Kamaruddin M, Kroetsch T, Basrur PK, Hansen PJ, King WA. Immunolocalization of heat shock protein 70 in bovine spermatozoa. *Andrologia.* 2004;36:327-34.

55. Spinaci M, Volpe S, Bernardini C, DE Ambrogi M, Tamanini C, Seren E, Galeati G. Sperm sorting procedure induces a redistribution of Hsp70 but not Hsp60 and Hsp90 in boar spermatozoa. *J Androl.* 2006;27:899-07.
56. Chacur, MGM, Martinez AIS, Machado Neto NB. Perfil em SDS-PAGE das proteínas do plasma seminal e sua relação com a qualidade do sêmen de touros da raça Nelore *Bos taurus indicus*. *Vet Not.* 2006a;12:87-93.
57. Chacur MGM, Machado Neto NB, Cristancho DR. Winter-springer and Summer influence upon seminal plasma proteins in bulls. *Anim Reprod.* 2006b;3:251-60.
58. Chacur MGM, Castillo AMN, Godoy GB, Gandolfo VS, Machado Neto NB, Kronka SN, Guaberto ML. Season influence upon seminal plasma proteins in Tabapua breed *Bos taurus indicus*. *Anim Reprod.* 2009;6:339-47.
59. Chacur MGM, Sirchia FP, Ruiz ACL, Guaberto ML. Season influence upon seminal plasma proteins in Brown-Swiss bulls. *Reprod Fertil Dev.* 2010;22:311.

## **AVALIAÇÃO DO MANEJO PRÉ-ABATE NA OCORRÊNCIA DE CONTUSÕES EM CARCAÇAS BOVINAS**

Marina Testa de Moura Carvalho<sup>1</sup>  
Luiz Gustavo Bicas Barbosa<sup>2</sup>  
Ana Paula Araujo Moreira<sup>1</sup>  
Leticia Sorregot de Souza<sup>1</sup>  
Ariane Dantas<sup>3</sup>  
Elaine Regina Vasconcelos de Oliveira<sup>4</sup>  
Carolina Toledo Santos<sup>5</sup>  
Roberto de Oliveira Roça<sup>5</sup>

### **RESUMO**

O período pré-abate tem início na propriedade no momento anterior ao embarque e segue até o momento da sangria do animal no frigorífico. Trata-se do período em que o animal é submetido a mais intensas condições de estresse físico, tais como: fome, sede, fadiga, alterações de temperatura e estresse psicológico devido sobretudo às novas condições e locais, as quais o animal não está adaptado. O manejo incorreto durante esse processo gera consequências diretas no produto final, como carne com características indesejadas, com aumento principalmente da incidência de hematomas nas carcaças. Durante a toailete da carcaça os hematomas provenientes tanto do manejo diário da fazenda, quanto os provenientes do manejo pré-abate são retirados, gerando assim um prejuízo financeiro para o proprietário. Esses hematomas são avaliados de diversas formas, mas principalmente através do tamanho, profundidade e cor, essas características podem indicar a causa e quando esse hematoma foi causado. A fim de melhorar o bem-estar dos animais e consequentemente melhorar a produção foram estipuladas as “Cinco liberdades”, que consistem em condições mínimas que os animais precisam ter acesso durante a sua criação. Em todas as etapas da criação preconiza-se o manejo adequado e calmo evitando maiores problemas na propriedade e principalmente mantendo um produto final de qualidade.

**Palavras chave:** bem-estar, contusões, carcaça, bovinos, manejo.

### **EVALUATION OF PRE-SLAUGHTER MANAGEMENT IN THE OCCURRENCE OF BRUISING IN BOVINE CARCASSES**

#### **ABSTRACT**

The pre-slaughter period starts in the property in the time prior to loading until stunning at the slaughterhouse. It's the moment which the animal is subjected to greater physical

---

<sup>1</sup>Zootecnista autônomo.

<sup>2</sup>Programa de Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Unesp/Campus de Botucatu. Correspondência: luiz.g\_b2@hotmail.com

<sup>3</sup>Escola Técnica Estadual - Etec Dona Sebastiana de Barros, São Manuel.

<sup>4</sup>FSP – Faculdade do Sudoeste Paulista.

<sup>5</sup> Departamento de Economia, Sociologia e Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrônomicas - Unesp/Campus de Botucatu.

stress conditions as: hunger, thirst, fatigue, temperature changes, and psychological stress due to the new conditions in which the animal is being placed. The bad handling present during this process generates direct consequences on the final product, like meat with unwanted features, and principally increase the incidence of bruising in carcasses. During the housing toilet bruising from both the daily management of the farm, as those from the pre-slaughter management are removed, thus generating a financial loss for the owner. These bruises are evaluated in several ways, but primarily by the size, depth and color, these characteristics may indicate the cause bruising and when this was caused. In order to improve animal welfare and consequently improve production were set the "Five Freedoms", which consist of minimum conditions that the animals need for their creation. Em todas as etapas da criação preconiza-se o manejo adequado e calmo evitando maiores problemas na propriedade e principalmente mantendo um produto final de qualidade.

**Key words:** pré-slaughter, welfare, bruises carcass, cattle, handling.

## **EVALUACIÓN DEL MANEJO PRE-SACRIFICIO EN LA OCURRENCIA DE CONTUSIONES EN CARCAZAS BOVINAS**

### **RESUMEN**

El período pre-sacrificio tiene inicio en la propiedad en el momento anterior al embarque hasta el momento de la sangría del animal en el frigorífico. Es el período en que el animal es sometido a más intensas condiciones de estrés físico como: hambre, sed, fatiga, alteraciones de temperatura, y estrés psicológico debido a las nuevas condiciones y locales en los que el animal no está adaptado. El manejo incorrecto durante este proceso genera consecuencias directas en el producto final, como carne con características no deseadas, y principalmente aumentan la incidencia de hematomas en las carcasas. Durante el tocador de la carcasa los hematomas provenientes tanto del manejo diario de la hacienda, como los provenientes del manejo pre-sacrificio son retirados, generando así un perjuicio financiero para el propietario. Estos hematomas se evalúan de diversas formas, pero principalmente a través del tamaño, la profundidad y el color, estas características pueden indicar la causa y cuando se ha causado ese hematoma. Con el fin de mejorar el bienestar de los animales y, por consiguiente, mejorar la producción, se establecieron las "Cinco libertades", que consisten en condiciones mínimas que los animales necesitan durante su creación. En todas las etapas de la creación se preconiza el manejo adecuado y tranquilo evitando mayores problemas en la propiedad y principalmente manteniendo un producto final de calidad.

**Palabras clave:** pre-sacrificio, bienestar, contusiones, carcaza, bovinos, manejo.

### **INTRODUÇÃO**

O Brasil é uma grande potência na produção mundial de bovinos, sendo a maioria (aproximadamente 80%) dela desenvolvida em sistema extensivo de produção (1). Segundo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2), no ano de 2014 foram abatidos 33,907 milhões de cabeças de bovinos no Brasil e embora o número desse número tenha sido 1,5% menor que no ano anterior, os animais abatidos em 2014 tiveram um peso médio de 0,5kg a mais que em 2013. Os resultados totalizam uma produção de carne de 8,063 milhões toneladas equivalentes em carcaça.



Aproximadamente 80% da produção de carne brasileira é destinada ao mercado interno e 20% ao mercado externo, sendo desse total exportado 80% na forma de carne *in natura*, 12% industrializada e 8,4% representados como miúdos, dentre outros (3). Segundo a Secretaria de Comércio Exterior (4) em 2014, as exportações de carne bovina *in natura* aumentaram 3,7% em quantidade e 8,1% em faturamento quando comparado ao ano anterior.

Em países como Canadá, Estados Unidos e Uruguai os produtores têm se preocupado com as condições nas quais os animais são criados, transportados e abatidos, impulsionando mudanças nos métodos de criação e no manejo pré-abate, com o propósito de minimizar o sofrimento do animal (1).

O período pré-abate se inicia na retirada dos animais do local onde foram criados, seguindo com o embarque dos mesmos na propriedade e acaba na sala de sangria. Em todo esse período o animal é submetido a estresse físico decorrente de fome, sede, fadiga, injúrias, extremos de temperatura e/ou a estresse psicológico devido à contenção, manejo, inovações e medo (5). De acordo com Paranhos da Costa (6) A cada dois animais abatidos no Brasil, um apresenta hematomas graves, o que implica em uma perda de meio quilo de carne por animal e uma perda de 10 milhões de quilos de carne levando em consideração a produção nacional.

A carne que apresenta lesões fica inutilizada como alimento, pois além de não ser bem aceita pelo consumidor, a degradação desta é mais rápida, diminuindo seu tempo de prateleira, e não pode ser utilizada na preparação de carnes processadas. A ocorrência de contusões permite estimar perdas econômicas, pois os locais afetados devem ser condenados parcial ou totalmente, dependendo da gravidade da lesão (7).

As lesões ou hematomas podem ser classificadas seguindo diversos padrões de referência, contudo o mais conhecido e utilizado é o Sistema Australiano de Avaliação de Contusões nas Carcaças (8). Nesse sistema de avaliação, as carcaças recebem escores que podem variar de 1 a 9, de acordo com a quantidade de contusões em relação a sua localização. São quantificados os que apresentam uma área superior a 10cm de diâmetro. Os que possuem menor diâmetro também são contabilizados desde que possuam uma profundidade maior que 2cm. As contusões localizadas no contrafilé são contabilizadas independente do seu tamanho e profundidade (8).

As lesões normalmente são causadas por aplicação incorreta da vacina, transporte mal executado, brigas, coices, pisoteio e quedas que são oriundas de mistura de lote e manejos inadequados no período pré-abate (9). Diante disso, a realização de pesquisas que permitam a ampliação do conhecimento sobre medidas adequadas a serem tomadas principalmente durante esse período, é fundamental.

## **2. BEM-ESTAR ANIMAL**

O conceito de bem-estar animal (BEA) está diretamente relacionado com as condições de qualidade de vida e com a qualidade da carne produzido pelos animais de corte. Vários fatores podem interferir na qualidade do nível do BEA, sendo esses: agressões diretas, condições das instalações e transporte e treinamento e qualidade das pessoas utilizadas no manejo. O planejamento e desenvolvimento de atividades corretas durante principalmente o momento do pré-abate devem minimizar o estresse do animal e conseqüentemente os riscos de contusões ou até acidentes piores (10,11).

O BEA é uma linha de pesquisa recente a ciência, contudo é totalmente indispensável, principalmente, aos profissionais que trabalham diretamente com a interação humano/ animal. Os efeitos sobre o bem-estar podem ser provenientes de

situações como doenças, traumatismos, fome, interações sociais, condições de alojamento, tratamento, manejo e transporte inadequado (12).

Para que seja determinada as condições de bem-estar é necessário que sejam primeiramente avaliadas diferentes variáveis que interferem na vida dos animais. Para isso o “*Farm Animal Welfare Council - FAWC* (Conselho de Bem-estar em animais de produção) aprimorou o conceito das “Cinco Liberdades” previamente desenvolvido pelo Comitê *Brambell*, que são segundo Glaser (13):

1. Liberdade fisiológica: Os animais devem ser livres de fome e sede. A alimentação fornecida deve ser suficiente tanto em quantidade como em qualidade, permitindo adequado desenvolvimento corporal e garantia de saúde estável.

2. Liberdade ambiental: Refere-se à ausência de desconforto térmico ou físico. As instalações devem ser adaptadas, fazendo com que o ambiente permaneça em temperatura confortável e não impeça o descanso e atividades normais dos animais.

3. Liberdade sanitária: ausência de injúrias ou doenças: As instalações devem minimizar o risco de doenças, fraturas e machucados. Os animais doentes devem receber tratamento o mais rápido possível.

4. Liberdade comportamental: É a possibilidade dos animais apresentarem padrões comportamentais normais a espécie. O ambiente deve permitir e fornecer condições para que os animais expressem seus instintos naturais.

5. Liberdade psicológica: Ausência de medo ou ansiedade. O animal não deve ser exposto a condições que provoquem angústia, ansiedade, medo ou dor.

A fim de diminuir o sofrimento do animal e conseqüentemente melhorar a qualidade da produção de carne, surgiu o termo “Abate humanitário” com intuito de garantir as normas técnicas de bem-estar desde a propriedade até o momento da sangria no frigorífico (14). Para que o programa de bem-estar seja efetivo durante o manejo pré-abate é necessário que todos os membros envolvidos no processo, desde os produtores, fiscalização, frigoríficos, e consumidores, estejam comprometidos com as normas do BEA (15).

### 3. CONTUSÃO E HEMATOMA

As contusões são ferimentos teciduais sem dilaceração que geralmente são provocadas por objetos que causam um choque no animal com força suficiente para que ocorra ruptura dos vasos sanguíneos, acumulando sangue nos tecidos (7). Devido à espessura e as características da pele de bovinos, as lesões não são vistas no animal vivo, salientando a importância da avaliação *post-mortem*. As análises da contusão de acordo com cor, tamanho e forma também podem ser utilizadas como indicativo de BEA (16,17).

A contusão pode resultar desde dor e edema até graus mais elevados de extravasamento de sangue, conhecidos também como hematomas. Pode ser classificado como hematoma um trauma que afeta a resistência da parede dos vasos sanguíneos fazendo com que ocorra um vazamento de sangue do sistema vascular para os tecidos ou órgãos. Dependendo da extensão do hematoma pode haver um aumento no volume do local, promovendo um inchaço no local (18).

As avaliações para caracterização dos hematomas das carcaças bovinas podem ser feitas considerando variados métodos, um exemplo é o Sistema Australiano de Avaliação de Contusões nas Carcaças, criado por uma empresa conhecida como *AUS-MEAT* em 1987 com objetivos como gestão dos padrões da indústria de carne através do sistema citado (8). Outro sistema é o *Australian Carcass Bruising Scoring System - ACBSS*, que foi desenvolvido e definido pelos esforços conjuntos de oficiais do

MeatBoard Austrália, CSIRO e do Departamento de Indústrias Primárias Queensland e empregado pela primeira vez em 1973 em Queensland (1). Sendo os métodos padrões o AUS-MEAT e ACBSS, os mais completos e complexos de serem aplicados.

O padrão AUS-MEAT (8) possui uma avaliação baseada em localização, quantidade, severidade, extensão e profundidade dos hematomas. São quantificados hematomas que apresentam área superior a 10 cm de diâmetro ou contusões e hematomas irregulares que equivalem a essa área. Hematomas que possuem menos que 10 cm de diâmetro são quantificados quando apresentarem mais de 2 cm de profundidade. Hematomas localizados no contrafilé são contados, independente de tamanho e profundidade.

Para definir a localização da contusão e hematoma na carcaça utiliza-se a divisão da mesma em 4 regiões (Tabela 1): dianteiro, traseiro, contrafilé e ponta de agulha. Para avaliar a profundidade ou severidade utiliza-se uma escala de 1 a 3, onde grau 1 (superficial) - atinge apenas o tecido subcutâneo, normalmente retirado após limpeza da carcaça; grau 2 (médio) - atinge tecido subcutâneo e muscular; grau 3 (profundo) afeta profundamente o tecido muscular, podendo em alguns casos visualizar tecido ósseo.

A avaliação da coloração da contusão ou hematoma é utilizada para indicar a idade do trauma, ou seja, se é antigo ou recente. Assim, se coloração é vermelho vivo, o hematoma pode ter ocorrido até 10h antes da avaliação, se vermelho escuro ou arroxeadado, caracteriza-se hematomas advindo com 24h ou mais tempo, e se amarelado ou esverdeado, caracterizam hematomas mais antigos, decorridos provavelmente ao manejo da fazenda (9). A alteração da coloração dos hematomas com o passar do tempo está relacionada à degradação da hemoglobina (20).

Dependendo da localização da contusão ou hematoma pode-se obter um monitoramento das causas mais frequentes de lesão. Existem muitas causas como: pisoteio, chifrada de outro animal por brigas, porteira ou instalação inadequada devido ao piso escorregadio, corredores estreitos com curvas inadequadas, pontas e objetos cortantes, embarque e desembarque inadequados, densidade inadequada de animais no transporte, uso inadequado de instrumentos como vara, ferrões, choques, Manuseio de porteiras nas fazendas, caminhão e frigorífico e precariedade de estradas e caminhões (21).

O monitoramento no frigorífico das contusões e hematomas permite com que seja feita uma avaliação e em cima destas anotações, é possível verificar onde está ocorrendo a maior incidência dessas lesões. Com isso, o produtor terá melhores condições para adequação do seu manejo e conseqüentemente a obtenção de um produto final com melhor qualidade, além de diminuir as perdas, bem como garantirá melhores condições de bem-estar para os animais (1,11,22).

#### **4. MANEJO PRÉ- ABATE**

Para um abate visando o melhor aproveitamento do bem-estar tanto do animal quanto das pessoas que estão envolvidas nesse trabalho, o momento do pré-abate deve ser feito adequadamente a fim de evitar acidentes que prejudiquem ambas as partes e que podem gerar contusões e hematomas que poderão resultar em redução do rendimento das carcaças. Para melhor detalhamento, o texto será dividido seguindo os principais procedimentos realizados durante o período do pré-abate (23).

##### **4.1. EMBARQUE**

O momento do embarque deve ser feito com calma, sem uso de objetos que machuquem os animais, com planejamento de divisão de lotes, visando diminuir o estresse durante o manuseio. O embarcadouro é a instalação que mais contribui para a incidência de contusões e hematomas nas carcaças, devido a erros como declive superior a 25°, extensão extremamente curta e com piso desfavorável e escorregadio, que não contribui na prevenção de quedas ou deslizamentos (11).

Recomenda-se separar antecipadamente os lotes que serão transportados, dividindo-os em grupos considerando-se idade, sexo, peso, raça e grupos sociais já existentes. Caso ocorra a necessidade de misturar diferentes lotes, aconselha-se que esse procedimento seja feito com aproximadamente 24 horas antes do embarque, a fim de evitar a ocorrência de brigas entre os lotes durante o embarque (23).

A plataforma de embarque deve oferecer segurança aos animais, para isso existem algumas características que facilitam esse procedimento, tais como: o ângulo formado pela rampa em relação ao solo não deve ser superior a 20°, sendo desejável um ângulo de 15°, utilização de piso antiderrapante para evitar escorregões e quedas em rampas de concreto com degraus ou ranhuras, pois são mais fáceis de transitar quando desgastadas ou sujas. Recomenda-se uma altura de pelo menos 1,8m e largura entre 0,8 e 0,9m, a fim de evitar que os animais se virem no momento do embarque, podendo causar maior transtorno. Aconselha-se o embarque imediato dos animais assim que dirigidos à plataforma a fim de evitar aglomerações, podendo vir a acarretar eventuais acidentes (23,24).

## **4.2. TRANSPORTE**

O transporte é o momento mais estressante do manejo pré-abate de bovinos, pois os animais são expostos a vários fatores não familiares, como a movimentação do veículo, confinamento em um local desconhecido, mudança de temperatura, privação de alimento e água, vibrações, ruídos, odores incomuns, e na maioria dos casos com animais de lotes diferentes (1).

O transporte é influenciado por três fatores: densidade, tempo e distância percorrida da fazenda ao frigorífico. A densidade do caminhão deve ser adequada, uma vez que baixa densidade também é prejudicial, pois dificulta a permanência dos animais em pé e dispostos paralela e perpendicularmente no veículo de transporte (16). O tempo do transporte desde a fazenda até o frigorífico deve ser o menor possível não podendo ultrapassar 15 horas, pois períodos muito longos gera maior estresse ao animal infringindo diretamente na perda da qualidade da carcaça (24).

O transporte em condições desfavoráveis aos animais além de provocar contusões, ocasionando uma perda de aproveitamento da carcaça, pode provocar estresse, perda de peso, que no momento do abate pode vir a ocasionar uma carne DFD (escura, firme e seca) PSE (pálida, mole e exsudativa) que estão diretamente ligadas às reservas energéticas dos animais, que quando gastas prejudicam a conversão do músculo em carne, ou pode vir a causar até a morte de animais (25).

## **4.3. DESEMBARQUE E DESCANSO**

Além das preocupações com tempo, densidade do veículo, deve-se levar em consideração também para um melhor transporte as condições do caminhão como: não deve conter superfícies pontiagudas, pisos não escorregadios, proteção contravento, sol e chuva, ventilação adequada devido à amônia presente nos dejetos. A preocupação do

motorista com os animais também é importante, aconselha-se parada para observar as condições dos mesmos a cada 3 horas (26).

O desembarque deve ser feito imediatamente após a chegada ao frigorífico, com uma espera de até 10 minutos. O desembarcadouro no frigorífico deve seguir as mesmas características citadas no embarque, declive não superior a 20°, rampa emborrachada ou com piso de concreto com ranhuras, a fim de evitar queda. No momento do desembarque os animais estão mais propícios a sofrer algum tipo de contusão ou queda, pois eles vêm de uma viagem estressante. Logo após o desembarque os animais devem ser levados aos currais de abate para formação dos lotes para abate (25).

Segundo o artigo nº 110 Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (27), os animais deverão permanecer nos currais, em jejum, dieta hídrica e descanso por um período 24 horas, tempo necessário também para a recuperação do desgaste físico e psicológico obtido durante o embarque e transporte. Esse tempo no curral é equivalente a distância percorrida, podendo ser reduzidos em menores distâncias (6,11,28). Esse período em que o animal permanece em jejum e sob dieta hídrica é importante pois permite a recuperação das reservas de glicogênio consumidas, devido às condições de estresse posterior a viagem, bem como faz com que o conteúdo gástrico seja reduzido facilitando os procedimentos no momento da evisceração, reduzindo as chances de uma contaminação da carcaça (29).

Os currais onde os animais permanecem durante esse período devem possuir algumas características a fim de melhorar o bem-estar e diminuir riscos de acidentes. Devem garantir espaço para movimentação, indica-se 1,60 metros por animal, pisos antiderrapantes, área com sombra, água limpa e abundante durante o período em que os animais permanecerem no mesmo, e divisões adequadas e cordão sanitário a fim de proporcionar segurança física e sanitária dos animais (30).

Durante esse período de descanso é feito também a inspeção *ante-mortem*, que tem como objetivo exigir e avaliar certificados de sanidade e vacinação dos lotes, identificar o estado higiênico sanitário dos animais, identificar e retirar animais doentes, ou com alguma suspeita, vacas gestantes e recém-paridas. Este momento também é utilizado para que seja feita uma avaliação das condições higiênicas dos currais (28).

## 5. CONCLUSÃO

O momento de maior importância para a diminuição de contusões é o pré-abate, sendo este iniciado desde o momento da carga dos animais na fazenda seguindo até o momento em que os animais entram no frigorífico. Falhas durante este período podem levar a hematomas e contusões, bem como causar dor e estresse aos animais, além de causar a degradação da qualidade da carcaça e de seu valor comercial. Portanto, a implantação de medidas preventivas e a adequação do manejo na propriedade e no frigorífico é fundamental.

## 6. REFERÊNCIAS

1. Pellicchia AJR. Caracterização do risco de hematomas em carcaças bovinas [dissertação]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; 2014.
2. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística da produção pecuária. Disponível em:  
<<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagro>

- pecuaria/abate-leite-couro-ovos\_201404\_publ\_completa.pdf>. Acesso: 06 janeiro 2017.
3. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Balançada pecuária. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/texto.asp?id=8>>. Acesso: 06 janeiro 2017.
  4. Secretaria de Comércio Exterior. Disponível em: <<http://portal.siscomex.gov.br/informativos/noticias-orgaos/secex>>. Acesso: 06 janeiro 2017.
  5. Grandin T. Assessment of stress during hand lingand transport. *J Anim Sci.* 1997;75:249-57.
  6. Paranhos da Costa MJR. Brasil perde 10 milhões de quilos de carne por ano por conta de lesões.2013. Disponível em:<<http://ruralcentro.uol.com.br/analises/brasil-perde-10-milhoes-de-quilos-de-carne-por-ano-por-conta-de-lesoes-3534>>. Acesso em: 06 janeiro 2017.
  7. Moraes HR. Contusões e pH de carcaças de bovinos transportados por diferentes distâncias no verão e inverno [dissertação]. Uberlândia: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia; 2012.
  8. Anon. Handbook of Australian Meat. 7 ed. Brisbane: Ausmeat; 2005.
  9. Bertoloni W, Silva JL, Abreu JS, Andreolla DL. Bem-estar e taxa de hematomas de bovinos transportados em diferentes distâncias e modelos de carroceria no estado do Mato Grosso - Brasil. *Rev. bras. Saúde prod. animal.* 2012;13(3):850-59.
  10. Grandin T. Developing measures to audit welfare of cattle and pigs at slaughter. *Animal Welfare.* 2012;21:351-56.
  11. Diniz PP, Silva BL, Pereira VV, Grande PA. Efeitos do transporte no bem-estar e qualidade da carne de bovinos. *Bio. Eng.* 2011;5(3):137-41.
  12. Broom DM, Molento CFM. Bem-estar animal: conceito e questões relacionadas. *Arch Vet Sci.* 2004;9(2):1-11.
  13. Glaser RD. Aspectos comportamentais de bovinos da raça angus a pasto frente à disponibilidade de recursos de sombra e água para imersão [dissertação]. Pirassununga: Universidade de São Paulo; 2003.
  14. Barbosa Filho JADB, Silva IJ. O Abate humanitário: ponto fundamental do bem-estar animal. *Revista da carne.* 2004;328:36-44.
  15. Sociedade mundial de proteção animal. Abate humanitário de bovinos. Rio de janeiro: Ama Editora e Treinamento Ltda; 2012.

16. Strappini AC, Frankena K, Metz JH., Gallo C, Kemp B. Characteristics of bruises in carcasses of cows sourced from farms or from livestock markets. *Animal*. 2012;6(3):502-9.
17. Strappini AC, Metz JHM, Gallo C, Frankena K, Vargas R, Freslon I, et al. Bruises in culled cows: when, where and how are they inflicted? *Animal*. 2013;7(3):485-91.
18. Bienestar animal educación e investigación. Disponível em: <<http://bienestaranimalinvestigacion.blogspot.com.br/2012/06/>>. Acesso: 06 janeiro 2017.
19. Moreira PSA, Neto AP, Martins LR, Lourenço FJ, Palhari C, Faria FF. A ocorrência de hematomas em carcaças de bovinos transportados por duas distâncias. *Rev. bras. Saúde prod. animal*. 2014;15(3):689-95.
20. Romero MH, Gutierrez C, Sanchez JA. Evaluation of bruises as an animal welfare indicator during pre-slaughter of beef cattle. *Rev Colomb Cienc Pec*. 2012;24:93-101.
21. Grandin T, Gallo C. *Livestock handling and transport*. 3 ed. Colorado: Cabi; 2007.
22. Braggion M, Silva RAMS. Quantificação de lesões em carcaças de bovinos abatidos em frigoríficos no Pantanal Sul-mato-grossense. Comunicado Técnico 45. Corumbá: Embrapa; 2004.
23. Paranhos da Costa MRJ, Spironelli ALG, Quintiliano MH. *Boas práticas de manejo: embarque*. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; 2013.
24. Gomide LAM, Ramos EM, Fontes PR. *Tecnologia de abate e tipificação de carcaças*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2006.
25. Hoffman LC, Lühl J. Causes of cattle bruising during handling and transport in Namibia. *Meat Sci*. 2012;92:115-24.
26. Miranda-de la Lama, G. C., Villarroel M, María GA. Livestock transport from the perspective of the pre-slaughter logistic chain: a review. *Meat Sci*. 2014;98:9-20.
27. Brasil. Ministério da Agricultura. Departamento de Defesa e Inspeção Agropecuária. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. São Paulo: Inspeção do SIPAMA, 1968. Disponível em: <<http://www.bahianet.com.br/crmvba/riispoa2.htm>>. Acesso: 06 janeiro 2017.
28. Roça RO. Abate humanitário: manejo *ante-mortem*. *Revista tec carnes*. 2001;3(1):7-12.
29. Thornton H. *Compêndio de inspeção de carnes*. Londres: Open Library; 1969.

30. Guerrero A, Valero MV, Campo MM, Sañudo C. Some factors that affect ruminant meat quality: from the farm to the fork. Review. Acta Sci. Anim. Sci. 2013;35:335-47.



## **BASE CONCEITUAL PARA AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E DO BEM-ESTAR DE BÚFALAS LEITEIRAS**

Jéssica Leite Fogaça<sup>1</sup>

Ariane Dantas<sup>2</sup>

Michel de Campos Vettorato<sup>1</sup>

Marco Antônio Rodrigues Fernandes<sup>3</sup>

Gizele Cristina Ferreira<sup>1</sup>

Vânia Maria Vasconcelos Machado<sup>1</sup>

### **RESUMO**

Os consumidores estão cada vez mais exigindo por produtos de origem animal produzidos com qualidade, segurança, saúde e respeito ao bem-estar-animal. O manejo correto de búfalas, que consiste principalmente na obediência de requisitos alimentares e ambientais, permite a produção de alimentos com ótima qualidade nutricional. Devido a isso, é primordial a divulgação de técnicas de manejo que visam incentivar a melhoria de vida desses animais e das características de seus produtos obtidos. Existem métodos eficazes para o monitoramento do bem-estar, sendo considerados alternativas de gerenciamento e assessoria dos proprietários, bem como requisito fundamental para o cumprimento da legislação em sistemas de garantia de qualidade para os consumidores. Há várias categorias de indicadores utilizadas para avaliar o bem-estar-animal, dentre elas: as medições comportamentais, incidência de problemas de saúde, nível de produtividade, regime de alimentação e procedimentos de ordenha. Atualmente, o conhecimento da qualidade de vida dos animais tornou-se uma importante questão para a maioria dos consumidores, principalmente quanto ao atendimento dos requisitos de saúde e nutrição. Nesse sentido, esse trabalho propôs descrever a influência das características comportamentais e de bem-estar em búfalas leiteiras sobre a capacidade produtiva animal, por meio de uma revisão de literatura. Para elaboração deste estudo foram utilizados livros, periódicos, sites com publicações online encontradas no Google Acadêmico, Scielo, Bireme e Pubmed. Após as descrições, verificou-se que as búfalas são animais que permitem produzir alimentos de ótima qualidade nutritiva aos humanos e que é necessário que os produtores tenham conhecimento do manejo correto desses animais, principalmente quanto na observância dos requisitos nutricionais, sanitários e ambientais.

**Palavras-chave:** bubalinocultura, leite de búfala, bem-estar-animal.

### **CONCEPTUAL BASIS FOR BEHAVIORAL AND WELFARE EVALUATION OF DAIRY BUFFALOES**

#### **ABSTRACT**

---

<sup>1</sup>Departamento de Radiologia Veterinária e Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Unesp/Campus de Botucatu. Correspondência: jesicaleite@hotmail.com

<sup>2</sup>Escola Técnica Estadual - Etec Dona Sebastiana de Barros, São Manuel.

<sup>3</sup>Departamento de Dermatologia e Radioterapia da Faculdade de Medicina - Unesp/Campus de Botucatu

Consumers are increasingly demanding for products of animal origin produced with quality, reliability, health and respect for animal welfare. The correct management of buffaloes, which consists mainly in the obedience of food and environmental requirements, allows the production of food with excellent nutritional quality. Due to this, it is primordial the dissemination of management techniques that aim the improvement of the animals quality of life and the characteristics of the products obtained from the activity. There are effective methods for monitoring welfare and they are considered to be alternative management and consulting services for owners, as well as a fundamental requirement for compliance with quality assurance systems for consumers. There are several categories of indicators used to evaluate animal welfare, among them: behavioral measures, incidence of health problems, productivity level, feeding regime and milking procedures. Currently, the knowledge of animal quality of life has become an important issue for most consumers, especially in meeting health and nutrition requirements. In this sense, this work proposes to describe the influence of behavioral and welfare characteristics on dairy buffaloes over the animal productive capacity, through a literature review. For the preparation of this study, were used books, periodicals, sites with online publications found in Google Academic, Scielo, Bireme and PubMed. After the descriptions, it was verified that the buffaloes are animals that allow to produce foods of excellent nutritional quality to the humans and that it is necessary that the producers have knowledge of the correct handling of these animals, mainly as far as the observance of the nutritional, sanitary and environmental requirements.

**Key words:** Buffalo farming, buffalo milk, animal welfare

## **BASE CONCEPTUAL PARA EVALUACIÓN COMPORTAMENTAL Y DEL BIENESTAR DE BÚFALAS LECHERAS**

### **RESUMÉN**

Los consumidores están cada vez más exigiendo por productos de origen animal producidos con calidad, seguridad, salud y respeto del bienestar animal. El manejo correcto de búfalas, que consiste principalmente en la obediencia de requisitos alimentarios y ambiental, permite la producción de alimentos con óptima calidad nutricional. Debido a esto, es primordial la divulgación de técnicas de manejo con el fin de fomentar la mejora de la vida de estos animales y de las características de sus productos obtenidos. Existen métodos eficaces para el monitoreo del bienestar, siendo considerados alternativas de gestión y asesoría de los propietarios, así como un requisito fundamental para el cumplimiento de la legislación en sistemas de garantía de calidad para los consumidores. Existen varias categorías de indicadores utilizados para evaluar el bienestar animal, entre ellas: las mediciones de comportamiento, la incidencia de problemas de salud, nivel de productividad, régimen de alimentación y procedimientos de ordeño. Actualmente, el conocimiento de la calidad de vida de los animales se ha convertido en una importante cuestión para la mayoría de los consumidores, principalmente en cuanto a la atención de los requisitos de salud y nutrición. En ese sentido, este trabajo propuso describir la influencia de las características comportamentales y de bienestar en búfalas lecheras sobre la capacidad productiva animal, por medio de una revisión de literatura. Para la elaboración de este estudio se utilizaron libros, periódicos, sitios con publicaciones en línea encontradas en Google Acadêmico, Scielo, Bireme e Pubmed. Después de las descripciones, se verificó que las

búfalas son animales que permiten producir alimentos de óptima calidad nutritiva a los humanos y que es necesario que los productores tengan conocimiento del manejo correcto de estos animales, principalmente en cuanto a la observancia de los requisitos nutricionales, sanitarios y ambientales.

**Palabras clave:** bubalinocultura, leche de búfala, bienestar animal.

## INTRODUÇÃO

A população mundial de búfalos é de aproximadamente 177.240 milhões de animais, sendo esta, distribuída em quarenta e dois países. Deste total, cerca de 171 milhões de animais ou 97% está distribuída em países do continente asiático, destacando-se a Índia com 98,7 milhões de animais, representando 55,7% do total mundial. A produção de leite de búfala é uma atividade de grande importância em vários países devido principalmente a promoção do desenvolvimento socioeconômico, sendo considerado exemplo de produto sustentável, de baixo investimento inicial e de fácil adoção pelos os proprietários rurais (1,3).

O Brasil é responsável por acomodar cerca de 1,2 milhões de animais, sendo esses também de grande importância para o desenvolvimento da economia brasileira. Prova disso é que nos últimos anos observou-se um aumento anual de 18 milhões de animais, bem como aumento da procura pelos produtos obtidos da atividade (4,5).

Segundo Marques et al. (6), a produção de búfalas leiteiras no Brasil vem se destacando expressivamente apresentando-se como uma alternativa viável a pecuária nacional. Deste modo, é primordial que o produtor tenha adequadas noções de empreendimento e gestão para que possa usufruir da ampla variedade de produtos que podem ser obtidos, assim como conhecimentos corretos de manejo dos animais, principalmente visando o bem-estar animal (7) e cumprimento das legislações que garantem a qualidade dos produtos a serem oferecidos aos consumidores (8,12).

Estes, por sua vez, estão cada vez mais exigentes quanto à obtenção de produtos oriundos de processos que respeitem a segurança, a saúde e o bem-estar-animal (BEA) (12). O BEA pode ser entendido como o estabelecimento de uma relação harmônica do organismo junto ao ambiente em que vive (13,14), sendo a expressão comportamental extremamente relevante para a sua avaliação (15). Existem métodos eficazes para o monitoramento do bem-estar, os quais, tornaram-se ferramentas essenciais de gerenciamento e assessoria dos proprietários (16,17).

Vários estudos estão sendo realizados visando maior entendimento do BEA. Com isso, os profissionais que trabalham com produção animal poderão ter maior respaldo científico, o que permitirá melhor reconhecimento de situações que possam comprometer o bem-estar, bem como identificar animais que apresentem comportamentos alterados (14). Diante disso, esse trabalho tem por objetivo descrever conceitos sobre bem-estar e atividade comportamental de búfalas leiteiras e sua influência sobre a produtividade. Para a elaboração da presente revisão, realizou-se busca em sites com publicações online encontradas no Google Acadêmico, Scielo, Bireme e Pubmed, localizados pelas palavras chaves: bem-estar animal, comportamento animal, manejo de ruminantes, búfalas e produção de leite. Os textos foram selecionados por categorias, conforme cada palavra-chave e analisados conjuntamente.

## INFLUÊNCIA DO BEM-ESTAR E DO COMPORTAMENTO NA PRODUÇÃO DE BÚFALA

A ligação do homem com os animais é termo onipresente nas diversas fases da história da humanidade, sendo admitida a capacidade dos seres de sentir sensações e sentimentos de forma consciente por parte de vários segmentos das sociedades há vários anos (18,20).

O BEA é também um termo de uso comum nas sociedades humanas e pode ser definido como a habilidade do animal de interagir e viver bem em seu ambiente. É relatado (13) que o BEA é considerado um termo científico que visa à qualidade mensurável de um animal vivo em um determinado momento e está intimamente relacionado com que os humanos fazem para que isso ocorra e o que deveriam fazer sobre e como melhorar a conduta do bem-estar (17).

Em 1964, o livro de Ruth Harrison "Animal Machines" descreveu que os animais são considerados como produção para as indústrias, sendo tratados como máquinas. Devido a isso, em 1965 o governo britânico instituiu o Comitê Brambell que destacou a necessidades dos animais, principalmente nos requisitos comportamentais. O BEA tem forte presença nos códigos morais e nos pilares éticos de vários países e um tratamento apropriado aos animais não é mais algo que possa ser deixado de lado para a livre escolha de pecuaristas individuais (21,22).

Para a definição do BEA é também sugerido um perfil de cinco liberdades que devem ser atendidas: liberdade psicológica (de não sentir medo, ansiedade ou estresse), liberdade comportamental (de expressar seu comportamento normal), liberdade fisiológica (de não sentir fome ou sede), liberdade sanitária (de não estar exposto a doenças, injúrias ou dor) e liberdade ambiental (de viver em ambientes adequado com conforto) (23).

Um ambiente é considerado favorável quando o animal está em equilíbrio com ele mesmo. Para proporcionar um ambiente e manejo adequado às búfalas leiteiras é necessário um amplo conhecimento do seu temperamento e de sua vida social. Diversos fatores podem influenciar a produtividade das búfalas leiteiras, dentre eles: a alimentação, o número de lactações, a idade ao parto e a duração da lactação. Todos eles podem interferir na composição do leite. Tal fato é de grande importância para o produtor, pois está diretamente relacionado com a qualidade e retorno econômico da atividade (17,24). Dessa forma, é necessário que os produtores estejam cientes da importância do cumprimento de requisitos e cuidados essenciais que garantam o bem-estar, pois o manejo adequado dos animais permite a obtenção de produtos de qualidade, a ser servido a consumidores cada vez mais exigentes e dispostos a pagar mais caro por esse tipo de produto, representando assim um mercado lucrativo e inovador (25).

O termo estresse foi utilizado pela primeira vez pelo austríaco Hans Selye em 1936, que o definiu como o estado do organismo, o qual, após a atuação de agentes ambientais de qualquer natureza, responde com uma série de reações não específicas de adaptação (27-28). Dentre estas, destaca-se a hiperatividade do córtex adrenal com consequente aumento da secreção de seus hormônios. A todo fator exógeno que provoca um estresse, o cientista denominou estressor (calor, frio, umidade, fome, sede, infecções, esforços corporais, dor, poluição sonora, elevada densidade populacional, isolamento, medo, ansiedade, etc.). A interação entre estímulo (estressor) e resposta ao estímulo (somatório das reações não específicas ao se estressar), manifesta-se na forma de uma síndrome, denominada síndrome de adaptação geral ("General Adaptation Syndrome"), com a qual o organismo tenta evitar ou reduzir os efeitos de estresse (28,32).

Geralmente, o manejo de ordenha de búfalas de alta produção é realizado sem a presença do bezerro, o qual é aleitado artificialmente. Tal procedimento pode ser muito

estressante para a mãe e o filhote. O manejo de separação da búfala de seu filhote deve ser feito visando reduzir consequências indesejáveis durante a ordenha, como a diminuição na produtividade leiteira da fêmea (14,26).

A aplicação de manejo de ordenha por máquinas associada à criação artificial dos bezerros são fatores que podem causar estresse psicológico e alterar o comportamento desses animais. Portanto, deve-se ter cautela e bom senso ao adotar esse tipo de prática, pois podem influenciar ativamente na produção de leite (26,33,34).

Diversos trabalhos apontam que o relacionamento estabelecido entre os animais e tratadores está diretamente relacionado à produtividade dos animais (17,26,33). A ausência de cuidados com o BEA na atividade de ordenha pode resultar em alteração comportamental causando agitação e desconforto, além de desenvolvimento de agressividade em búfalas. Segundo Napolitano et al. (35), animais que são acariciados e acalmados com o falar do operador, normalmente mantêm-se calmos, produzindo mais leite. Para melhorar essa interação de animais e humanos, é necessário realizar testes de abordagem e de prevenção até a avaliação das reações dos animais durante o manuseio do manejo (35).

Os bubalinos são animais que requerem cuidados especiais principalmente quando mantidos em área confinada (16). De acordo com Marques et al. (6,36), os bubalinos passam a maior parte do tempo comendo e caminhando, sendo diminuídos esses fatores durante o período noturno. A restrição do espaço desses animais afeta diretamente a saúde e o bem-estar, aumentando os riscos de lesões e alterações comportamentais.

Os produtores devem possuir alguns cuidados essenciais, principalmente quando na introdução de animais novos ao rebanho. A convivência dos búfalos é beneficiada em grupos, no entanto, existem lados negativos que geram alterações de comportamento, como no caso de dominância por terra, alimentação, água e na reprodução (25,37,38). Os búfalos são animais dóceis quando bem manejados, mas se o rebanho possuir alguns animais nervosos recomenda-se retirá-los para não causar transtorno ao grupo. Para Gonçalves Neto (37) as altas interações de agressividade dos ruminantes e principalmente nos casos dos búfalos, ocorrem geralmente próximas aos locais de alimentação, devido ao aumento do nível de competição.

Este problema pode ser solucionado com o aumento do espaço individual e da quantidade e qualidade dos alimentos que serão servidos aos animais (22,37). Além disso, é necessário a formação de lotes homogêneos, ou seja, formar grupos de animais com idade e peso semelhantes para evitar brigas e disputas, minimizando o estresse e reduzindo a possibilidade de interferência desse fator na produção animal.

O fornecimento de um manejo nutricional adequado é uma forma de respeito ao bem-estar. Falta de recursos de alimentos de qualidade causam deficiências nutricionais graves que comprometem a saúde, o desenvolvimento corporal, a atividade reprodutiva e a desempenho produtivo (39). Segundo Hogan & Phillips (40), o fornecimento de um manejo nutricional adequado ao animal permite a obtenção de alimentos nutritivos e de ótima qualidade. Para isso é necessário a implantação de técnicas racionais de manejo, sendo essas interligadas a diversos fatores, tais como: o ambiente, a nutrição, a reprodução, a genética, o temperamento e as técnicas de ordenhas, visando sempre às cinco liberdades do BEA (20,37,41,42).

Nos principais países produtores de bubalinos o sistema de criação é feito utilizando-se de áreas de pastagens nativas de terra firme ou de terra inundável e em menor escala em pastagens cultivadas. As principais limitações que afetam a produtividade animal nas pastagens do tipo cerrado são a baixa qualidade e quantidade forragem produzida (6,43). Alguns tipos de comportamentos sociais de ruminantes podem ser influenciados pelo tipo de pastejo devido a suas preferências por

determinadas partes da planta, como por exemplo, a escolha da forrageira a ser comida em função da altura ou variações de teores de nutrientes ao longo da planta. Geralmente, essas escolhas estão relacionadas à distribuição de água e de minerais encontrados nas plantas (39). Diante disso, é necessário que o produtor realize um manejo de pastejo que garanta que o animal tenha condições para explorar a área disponível e manifestar comportamentos considerados normais à espécie.

Medidas que visam o bem-estar também apresentam repercussões sobre os índices reprodutivos, pois o fornecimento de um plano alimentar precário diminui as taxas de fêmeas ao cio, gestantes e o número de filhotes nascidos (44,45). Os fatores nutricionais estão diretamente ligados aos índices reprodutivos de búfalas leiteiras. Uma vez que um plano alimentar precário pode ocasionar déficit no estabelecimento da puberdade, na manutenção da ciclicidade pós-parto e durante a gestação (46).

Geralmente o período onde concentram-se o maior número de partos em bubalinos coincide justamente quando a oferta de pastagens decai em quantidade e qualidade, ou seja, no final do verão e início do outono. Tal fato tem como agravante o aumento das exigências nutricionais da mãe devido à lactação podendo assim ter a sua produção de leite diminuída. Deste modo, o produtor deve realizar um manejo nutricional que permita a manutenção ou que evite perdas excessivas da condição corporal (44). Segundo Carvalho (45), búfalas que possuem boa condição nutricional ao parto apresentarão reservas lipídicas que serão mobilizadas para compensar a exigência nutricional durante o período de maior demanda.

Os cuidados nutricionais das búfalas devem ser redobrados principalmente nos últimos meses de gestação e no início do pós-parto, pois é fator condicional para a manutenção da saúde dos animais, sendo considerado o fator principal de toda criação animal (46). Os bubalinos que apresentam-se bem nutridos exibem normalmente boa resistência orgânica influenciando o potencial genético do rebanho (35).

O manejo correto das búfalas permite melhor detecção de possíveis problemas no parto e melhor assistência ao recém-nascido. Dessa forma, o uso de um piquete maternidade na propriedade, desde que com dimensão e localização apropriada, possibilita melhor auxílio ao parto, bem como ajuda na prevenção de doenças durante o pós-parto. Salienta-se que esse piquete maternidade deve ser livre de rios ou açudes, pois as búfalas possuem o hábito de parir dentro da água, o que pode resultar no afogamento do bezerro (45).

Outro fator estressante aos bubalinos é a alta taxa de umidade associada a temperaturas elevadas, pois possuem um menor número de glândulas sudoríparas por unidade de área de pele o que dificulta a perda de calor por transpiração. Além disso, a sua camada da epiderme da pele é bem grossa o que reduz a perda de calor por condução e transpiração, tornando-as vulneráveis ao calor excessivo. Tais fatores podem causar alterações comportamentais devido ao calor, sendo condição relevante de discussão em diversos trabalhos realizados visando à avaliação do bem-estar de búfalas leiteiras (34,35,47). Como recomendação deve-se aumentar a quantidade de água disponível aos animais e oferecer áreas livres que possuem sombras de árvores para assim diminuir o estresse devido ao calor (34, 48, 49).

O BEA tem como requisito fundamental cuidar de doenças tentando diminuir a taxa de mortalidade entre as búfalas leiteiras, pois esse problema gera grandes perdas financeiras. Os búfalos são animais considerados rústicos e facilmente adaptáveis a condições adversas, contudo, tais características são por muitas vezes confundidas com a dispensa de cuidados e atenção ao manejo sanitário. Dessa forma, atualmente existe interesse crescente em estudos que descrevam as necessidades e exigências específicas à

espécie, visando à adoção de medidas profiláticas e técnicas de monitoramento da sanidade em bubalinos (34,50).

As atividades realizadas no manejo sanitário da propriedade devem ser elaboradas visando garantir a profilaxia e manutenção da sanidade no rebanho. Os animais devem receber as vacinações habituais ao seu país, além de práticas que possam isentá-los de doenças parasitárias e infecto-contagiosas. Rebanhos que são portadores de Tuberculose, Brucelose, Tricomoníase, Leptospirose, Campilobacteriose, entre outras, apresentarão taxa de aborto, retenção de placenta e infecções uterinas elevadas e conseqüentemente terão baixos índices reprodutivos e produtivos. O controle das doenças deve ser realizado de forma rígida realizando constantes exames de rotina (45).

A consideração da prevalência de doenças no rebanho leiteiro também compõe a identificação dos pontos críticos de BEA (20). O registro da prevalência de doenças e dos tratamentos realizados permite ações preventivas de controle das principais enfermidades locais (51,52). A adoção de medidas de controle de parasitas é fundamental para a preservação do bem-estar de bubalinos. Tal fato pode ser avaliado pela presença de alterações comportamentais. Segundo Carvalho (45), animais com grande infestação de piolhos apresentam-se inquietos, estressados e com capacidade de consumo alimentar reduzido, o que pode comprometer o seu desempenho produtivo e reprodutivo.

O manejo correto do rebanho consiste na manutenção a saúde e da reprodução dos animais em nível eficiente, capaz de garantir a maximização do BEA. Para que isso seja possível é necessário à adoção de medidas que assegurem tais condições. Apesar de serem muito cobradas pelos consumidores, pesquisas envolvendo o âmago do BEA e do comportamento animal, ainda são escassos, principalmente devido ao fato de que muitas vezes os sentimentos dos animais não podem ser mensurados (20,22,53,54).

Em alguns casos os animais podem estar saudáveis, nutridas e em perfeitas condições físicas, contudo, podem estar sofrendo mentalmente. Deste modo, é necessário a realização de mais trabalhos na área que abrange o comportamento animal para que questões referentes às emoções, sofrimento ou desconforto possam ser decifradas e esclarecidas (20,22,55) e incorporadas ao manejo correto dos animais.

## **INDICADORES DE BEM-ESTAR POSITIVO PARA BÚFALAS**

Atualmente, os principais indicadores utilizados para avaliar as condições de bem-estar de búfalas leiteiras são a caracterização comportamental dos animais, a avaliação do escore de condição corporal (ECC), o estado geral de limpeza dos animais, status sanitário e nutricional, as características do ambiente onde os animais são mantidos, a prática de ordenha empregada, a temperatura ambiente e as formas de realização do manejo reprodutivo (34,35,55).

O aconchego, a estabilidade e a comodidade de um ambiente podem ser aferidos por indicativos comportamentais (17,22). Segundo Grasso et al. (56), uma vez descartada a possibilidade de problemas sanitários, os animais podem adotar posturas de decúbito esternal com a cabeça dobrada contra o flanco ou decúbito lateral com as pernas esticadas quando se sentem tranquilos e seguros da imprevisibilidade do seu ambiente de criação, sendo por isso consideradas medidas de conforto e proteção em búfalas leiteiras.

Acredita-se que as búfalas, assim como os bovinos leiteiros, intercalam momentos de satisfazer os seus requisitos básicos de alimentação com o ócio e o repouso. Dessa forma, a observação dos comportamentos que mais se repetem dentro do rebanho pode ser considerada como medida avaliativa de bem-estar (20). O aumento de animais que

se alimentam durante a noite e repousam enquanto a maioria está envolvida em atividades ingestivas, sugere, principalmente em rebanhos com elevado número de animais subordinados, que a competição por um recurso específico é baixa podendo indicar estado de bem-estar positivo.

Alguns sinais do bem-estar são evidentes quando os animais evitam um determinado objeto, pessoa ou evento, no qual, nos dá informações sobre seus sentimentos e condutas desenvolvidas em virtude de experiências prévias (13). Portanto, búfalas leiteiras que se aproximam fácil e docilmente de seus tratadores indicam estado elevado de bem-estar, assim como a observação de animais livres de lesões mamárias ou que se apresentam calmos durante a ordenha sugerem boas práticas de manejo ou conduta do tratador durante a ordenha.

A avaliação do estado corporal de búfalas leiteiras pode ser utilizada como indicativo de bem-estar, sendo diretamente proporcional ao nível do BEA (57).

A avaliação do estado de limpeza do corpo dos animais pode fornecer algumas informações sobre o conforto, as atitudes e a qualidade dos cuidados realizados pelos próprios animais. Os búfalos têm por hábito passar várias horas se revestindo de lama, principalmente durante a estação quente, para dissipar o calor corporal. Portanto, a presença de lama na pele do búfalo pode ser considerada um aspecto positivo de avaliação da competência termorreguladora e anti-germinal, estando diretamente ligada a níveis ótimos de bem-estar. É preciso estar atento ao excesso de sujidade presentes na pele e nos pelos próximos a região mamária, pois quanto mais sujo for o úbere e os membros posteriores, maior será a incidência de mastite subclínica e clínica nos rebanhos leiteiros, devido a constante presença de microorganismos próximos ao úbere, tornando mais propensa a sua contaminação.

A claudicação é um problema marcante de bem-estar em bovinos leiteiros, que muitas vezes é associado com dor e desconforto de longa duração. A ausência de casos de claudicação pode ser atribuída a um regime de alimentação de baixo nível de concentrado ou a diferenças no metabolismo do concentrado da dieta (58). Embora essa condição patológica raramente afete os pés de búfalos em geral, o crescimento excessivo dos cascos e as deformações podem ser frequentemente observados em criações de búfalas leiteiras. Portanto, a ausência de problemas de crescimento ou conformação nos cascos sugere boas condições de bem-estar de búfalas leiteiras, podendo ser utilizada como parâmetro de monitoramento sanitário do rebanho.

A constatação de outros problemas de saúde como transtornos respiratórios, entéricos e mamários, bem como doenças específicas da reprodução, tais como prolapsos vaginais e uterinos, associados ou não a má nutrição durante a gestação, podem traduzir tanto as condições de bem-estar de búfalas leiteiras como o retorno econômico da atividade. Portanto, quanto maior o número de animais sadios e menores as taxas de mortalidade e de abate devido a doenças e acidentes, melhores serão as condições de bem-estar em búfalas leiteiras (35).

A adequação do *design* do ambiente e das estruturas anexas à criação de animais leiteiros, assim como, o fornecimento às condições de higiene do local onde são mantidos aos animais, podem ser utilizados como indicadores de bem-estar. Propriedades livres de animais com lesões no corpo e que conseguem expressar comportamentos inerentes à espécie, podem ser consideradas criações que fornecem alojamento limpo, arejado e com dimensões que atendam às exigências dos animais.

Em gado leiteiro, as novilhas e fêmeas adultas desenvolvem estereotípias orais como resposta a permanência por longos períodos em confinamento, por serem alocadas em áreas muito pequenas ou diante ao fornecimento de um baixo plano nutricional (35). Em búfalas, também é possível observar mudanças comportamentais, contudo, observa-



se também importantes alterações comportamentais em bezerras. O aumento do número de lesões na teta das mães pode indicar que o filhote tentou várias vezes mamar e pode estar com dificuldade em sugar o leite ou que a produção de leite da mãe é muito baixa, ou seja, ambas as possibilidades resultam em perda de leite (59). Portanto, a ausência de comportamento anormal a espécie é um parâmetro relevante de conservação do bem-estar em búfalas leiteiras.

## CONCLUSÃO

As búfalas são animais que permitem produzir alimentos de ótima qualidade nutritiva aos humanos. Contudo, é necessário que os produtores tenham conhecimento do manejo correto desses animais, principalmente quanto na observância dos requisitos nutricionais, sanitários e ambientais, pois um manejo errôneo pode comprometer a saúde e as taxas reprodutivas e produtivas do animal causando prejuízos à atividade.

## REFERÊNCIAS

1. Rodrigues AE, Marques JRF, Araújo CV, Camara-Junior RNC, Dias LNS. Estimação de parâmetros genéticos para características produtivas em búfalos na Amazônia Oriental. *Arq Bras Vet e Zoot.* 2010;62(3):712-7.
2. Ricci G, Domingues PF. O leite de búfala. *Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia.* 2012;10(1):14-9.
3. Brondi SH, Souza GB, Nogueira AR, Camargo LA, Majaron RF. Desenvolvimento e validação do método QuEChERS na determinação de resíduos de medicamentos veterinários em leite e carne de búfalo. *Quím Nova.* 2013;36(1):153-8.
4. Tonhato H, Camargo GMF, Borquis RRA. Programa de melhoramento genético de búfalos no Brasil estado da arte. In: *Anais do II Simpósio da cadeia produtiva da bubalinocultura; 2011, São Paulo, Brasil.* 2011. p. 1-11.
5. Andrea MV. Behavior of Murrah buffaloes under influence of strangers in the Milk parlor during Milk control. *MVZ Córdoba.* 2015;20(3):4709-19.
6. Marques JRF. Criação de búfalos. Brasília: Coleção Criar Plantar; 1998.
7. Junior IAM, Costa RC, Costa LC, Ludovico A, Rego FCA, Aragon-Alegro LC, et al. Ovinocultura leiteira no Brasil: aspectos e fatores relacionados à composição, ao consumo e à legislação. *Colloquium Agrariae.* 2015;11(2):38-53.
8. Gregory NG, Grandin, T. *Animal Welfare and Meat Science.* Fort Collins, Colorado: Cab International; 1998.
9. Grandin T. Assessment of stress during handling and transport. *J Animal Sci.* 1997;75(1):249-57.
10. Grandin T. Animal handling. *Vet Clinic of North America: Food Animal Practice.* 2002;3(2):323-38.

11. Grandin T. El ganado arisco y la carne oscura: cómo minimizar su impacto In: Anais no Seminário regional sobre bien estar animal: estrategias de difusión de buenas prácticas ganaderas. Universidade de la República. 2007; p. 95-100.
12. Barbosa JD, Rangel AHN, Barreto MLJ, Araújo VM, Júnior DML, Novaes LP, Aureliano IPL, et al. Degenerative joint disease in cattle and buffaloes in the Amazon region: a retrospective study. *Pesq Vet Bras*, 2014;34(9):845-50.
13. Broom DM. A history of animal welfare science. *Acta biotheoretica*. 2011;59(2):121-37.
14. Oliveira JPF, Temperamento de búfalas em sala de ordenha sobre índices produtivos e adaptabilidade ao ambiente: uma revisão. *J Animal Behaviour and Biometerol*. 2013;1(1):21-30.
15. Broom DM, Molento CFM. Bem-estar animal: conceito e questões relacionadas - revisão. *Arc Vet Sci*. 2004;9(2):1-11.
16. Caroprese M, Annicchiarico G, Schena L, Muscio A, Migliore R, Sevi A. Influence of space allowance and housing conditions on the welfare, immune response and production performance of dairy ewes. *J of Dairy Res*. 2008;76(1):66-73.
17. Napolitano F, De Rosa G, Grasso F, Wemelsfelder F. Qualitative behaviour assessment of dairy buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Applied Animal Behaviour Sci*. 2012;141(1):91-100.
18. Molento CFM. Medicina veterinária e bem-estar animal. *Rev do Conselho Federal Med Vet Zoot*. 2003;28-29.
19. Molento CFM. Bem-estar animal: qual é a novidade. *Acta Sci Vet*. 2007;35(2):224-6.
20. Fleming PA, Clarke T, Wickham SL, Stockman CA, Barnes AL, Collins T, et al. The contribution of qualitative behavioural assessment to appraisal of livestock welfare. *Animal Prod Sci*. 2016;56(1):1569-78.
21. Singer P. *Animal liberation*. 1ª ed. New York: Harper Collins; 2002.
22. Canali E, Keeling L. Welfare quality project: from scientific research to on farm assessment of animal welfare. *Animal Sci*. 2009;8(1):900-3.
23. De Alencar IN. Princípios de bem-estar animal e sua aplicação na cadeia avícola. *Biológico*. 2008;70(2):105-6.
24. Lopes FA. Caracterização da produtividade e da qualidade do leite de búfalas na zona da Mata Sul de Pernambuco [dissertação]. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2009.

25. Figueiredo EL, Júnior JDBL, Toro MJU. Caracterização físico-química e microbiológica do leite de búfala “in natura” produzido no estado do Pará. *Bras Tecnol Agroindustrial*. 2010;4(1):19-28.
26. Saltalamacchia F, Tripaldi C, Castellano A, Napolitano F, Musto M, De Rosa G. Human and animal behaviour in dairy buffalo at milking. *Animal Welfare*. 2007;16(1):139-42.
27. Selye H. A syndrome produced by diverse noxious agents. *Nature*. 1936;138:32.
28. Taveira RZ, Amaral AG, Silveira Neto OJ, Carvalho FE, Martins TR, Campos JCD. Variáveis fisiológicas de búfalas expostas a banho após estresse térmico. *Revista Espacios*. 2017;38(18):15-22.
29. Encarnação RO. Estresse e produção animal. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte-Docmentos; 1986.
30. Acco A, Pachaly JR, Bacila M. Síndrome do estresse em animais - revisão. *Arq de Ciências Vet e Zoológ da UNIPAR*. 1999;2(1):71-6.
31. De Souza BB, Batista NL. Os efeitos do estresse térmico sobre a fisiologia animal. *Agropec Científica no Semiárido*. 2012;8(3):6-10.
32. Pantoja MHA. Avaliação de índices indicadores de estresse término em búfalo criadores na Amazônia Oriental. In: *Anais do XXV Congresso Brasileiro de Zootecnia*; 2015, Fortaleza p.1-3.
33. Cavallina R, Roncoroni C, Campagna MC, Minero M, Canali E. Buffalo behavioural response to machine milking in early lactation. *Animal Sci*. 2008;7(1):287-95.
34. De Rosa G, Grasso F, Pacelli C, Napolitano F, Winckler C. The welfare of dairy buffalo. *Italian J of Animal Sci*. 2009;8(1):103-13.
35. Napolitano F, Pacelli C, Grasso F, Braghieri A, De Rosa G. The behaviour and welfare of buffaloes (*bubalus bubalis*) in modern dairy enterprises. *Animal*. 2013;(10):1704-13.
36. Marques JRF. Búfalos: 500 perguntas, 500 respostas. Brasília: Embrapa; 2000.
37. Gonçalves Neto J, Texeira FA, Nascimento PVN, Marques JA. Comportamento social dos ruminantes. *Eletrônica Nutrime*. 2009;6(4):1039-55.
38. Mandela-Oliveira AF. Social behaviour of buffalo heifers during the establishment of adominance hierarchy. *Livestock Sci*. 2012;146(1):73-9.
39. Tsiobani ET, Yiakoulaki MD, Hasanagas ND, Menexes G, Papanikolaou K. Water buffaloes grazing behaviour at the Lake Kerkini National Park, Northern Greece. *Hecquetia*. 2016;15(1):133-42.

40. Hogan JP, Phillips CJC. Nutrition and the welfare of ruminants. *Annu Review of Biomedical Sci.* 2008;10(1):33-50.
41. Oliveira RL, Barbosa MAADF, Ladeira MM, Silva MMPD, Ziviani AC, Bagaldo AR. Nutrição e manejo de bovinos de corte na fase de cria. *Bras Saúde Produção.* 2006;7(1):57-86.
42. Páscoa AG, Costa MJRP. Aplicações dos sistemas de informação geográfica para definição de estratégias de manejo de bovinos nas pastagens. *R. Bras Zootec.* 2007;36:45-51.
43. Santos NFA, Lourenço Junior J B, Costa NA, Teixeira Neto JF, Lau HD, Marques JRF, et al. Prova de ganho de peso de búfalos da raça Murrah em sistema de pastejo rotacionado intensivo com suplementação alimentar - variáveis produtivas. In: *Anais do XII Seminário de Iniciação Científica da FCAP e Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental*; 2002. Belém. p. 4.
44. Bernardes O. Necessidades nutricionais de búfalas leiteiras. In: *Anais do II Encontro Nacional de Criadores de Búfalos*; 2010. Bucaramanga, Colômbia. p.1-21.
45. Carvalho NAT. Produção e reprodução de búfalas leiteiras na UPD de registro: Um modelo tecnológico de sucesso. *Pesq & Tecnol.* 2014;11(1):1-11.
46. Garcia AR Influência de fatores ambientais sobre as características reprodutivas de búfalos do rio (*Bubalus bubalis*). *Rev. de Ciênc. Agrár.* 2006;45:1-13.
48. Silanikove, N. Effect of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livestock Production Sci.* 2000;67(1):1-18.
49. De Souza Junior JBF, Domingos HGT, Silva RB, De Lima RN. Termorregulação em búfalos manejados em ambientes tropicais. *Pubvet.* 2008;2(41):1-21.
50. Rangel AHN, De Oliveira JPF, De Medeiros HR, De Araújo VM, Novaes LP, De Lima Júnior DM. Influence of murrah buffalo behavior in milking parlors on production characteristics. *Arc of Vet Sci.* 2014;19(3):53-61.
51. Whay H, Main D, Green L, Webster A. Observations and investigation of farm. *Vet Record.* 2003;153(7):197-202.
52. Bond GB, de Almeida R, Ostrensky A, Molento CFM. Métodos de diagnóstico e pontos críticos de bem-estar de bovinos leiteiros. *Cienc. Rural.* 2012;42(7):1286-93.
53. Rushen J. Changing concepts of farm animal welfare: bridging the gap between applied and basic research. *Applied Animal Behaviour Sci.* 2003;81(1):199-214.
54. Molento CFM. Bem-estar e produção animal: aspectos econômicos - revisão. *Art Vet Sci.* 2005;10(1):1-11.

55. Sobrinho RS, Bortoli EC, Gianluppi LDF, Falcão TF, Silva TN. Sistema rotativo racional voisin e as práticas de bem-estar animal: caso fazenda redomão. In: XLV Congress of the Brazilian Society of Rural Economy, Administration and Sociology - SOBER; 2007. Londrina, Porto Alegre. p. 1-11.
56. Grasso F, Napolitano F, De Rosa G, Quarantelli T, Serpe L, Bordi A. Effect of pen size on behavioural, endocrine and immune responses of water buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. J of Animal Sci. 2003;77(8):2039-46.
57. Pacheco GFE, Saad FOB, Trevizan L. Aspectos éticos no uso de animais de produção em experimentação científica. Acta Vet Bras. 2012;6(4):260-6.
58. Barbosa JD. Degenerative joint disease in cattle and buffaloes in the amazon region: a retrospective study. Pesq Vet e Zoot. 2014;34(9):845-50.
59. Silva NS, Silveira JAS, Oliveira CMC, Mendonça CL, Albernaz TT, Guaraná ELS, et al. Ocorrência de mastite em búfalas (*bubalus bubalis*) criadas em sistema extensivo no estado do Pará, Brasil. Biosci J. 2014;30(2):839-46.

## **BUBALINE BREEDING AND STEM CELLS BIOTECHNOLOGY: A BRIEF REVIEW**

Elaine Cristina Galhardo<sup>1</sup>  
Ariane Dantas<sup>2</sup>  
Viviane Maria Codognoto<sup>1</sup>  
Leandro Maia<sup>1</sup>  
Fernanda da Cruz Landim<sup>1</sup>

### **ABSTRACT**

Buffaloes are dairy, meat and work farm animals very adapted to tropical regions, with large productivity and economic potential in several countries, including Brazil. In some states, the lack of technology in buffalo farming has increased reproductive and sanitary problems, turning imminent the extinction of these animals. In this context, studies related to stem cell biotechnology have resulted in other possible utilization of buffaloes as experimental model, allowing the expansion of knowledge in this specie in particular cell characteristics. Stem cells have been the subject of many studies in several species, nevertheless buffaloes studies are scarce. Thus, this review aims to assemble and connect buffaloes and stem cells biotechnology studies to demonstrate the importance of research to increase the advancement of these two fields.

**Keywords:** *Bubalus bubalis*, animal technology, animal production, cellular biology, advanced reproductive techniques.

## **BUBALINOCULTURA E BIOTECNOLOGIA DAS CÉLULAS-TRONCO: UMA BREVE REVISÃO**

### **RESUMO**

A Bubalinocultura abrange animais de tripla aptidão muito adaptados aos climas tropicais e com grande potencial produtivo e econômico em vários países, inclusive no Brasil. Em algumas regiões, a falta de tecnificação na produção de bubalinos tem agravado problemas reprodutivos e sanitários, tornando iminente a extinção desses animais. Nesse contexto, estudos relacionados à biotecnologia de células-tronco têm indicado resultados que viabilizam a utilização de búfalos como modelo experimental, além de permitir a ampliação dos conhecimentos acerca da espécie e de seu comportamento celular característico. As células-tronco têm sido alvo de muitas pesquisas em várias espécies, porém os estudos com bubalinos ainda são escassos. Desta forma, o objetivo dessa revisão foi reunir estudos relacionados à bubalinocultura e biotecnologia de células-tronco e demonstrar a importância das pesquisas que contribuem para o avanço dessas duas áreas.

---

<sup>1</sup>São Paulo State University, College of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Department of Veterinary Reproduction and Radiology, Distrito de Rubião Jr s/n, 18600-000 - Botucatu-SP, Brazil, +55(14)38802140 \*Corresponding author: galhardo.elaine@gmail.com

<sup>2</sup>Escola Técnica Estadual Dona Sebastiana de Barros - ETEC, São Manuel.

**Palavras-Chave:** *Bubalus bubalis*, tecnologia animal, terapia celular, biologia celular, técnicas de reprodução avançada.

## **BUBALINOCULTURA Y BIOTECNOLOGIA DE CÉLULAS-TRONCO: UNA BREVE REVISIÓN**

### **RESUMÉN**

La Bubalinocultura abarca animales de triple aptitud muy adaptados a los climas tropicales y con gran potencial productivo y económico en varios países, incluso en Brasil. En algunas regiones, la falta de tecnificación en la producción de bufalinos ha agravado problemas reproductivos y sanitarios, haciendo inminente la extinción de estos animales. En ese contexto, Estudios relacionados con la biotecnología de células madre han indicado resultados que viabilizan la utilización de búfalos como modelo experimental, además de permitir la ampliación de los conocimientos sobre la especie y su comportamiento celular característico. Las células madre han sido objeto de muchas investigaciones en varias especies, pero los estudios con bubalinos todavía son escasos. De esta forma, el objetivo de esta revisión fue reunir estudios relacionados con la bubalinocultura y biotecnología de células madre y demostrar la importancia de las investigaciones que contribuyen al avance de estas dos áreas.

**Palabras Clave:** *Bubalus bubalis*, tecnología animal, terapia celular, biología celular, técnicas de reproducción avanzada.

### **INTRODUCTION**

Buffaloes are very adapted to high temperatures and can be used for meat, milk and work production (1). The most selling milk product is the mozzarella cheese, very applied in the Italian culinary and appreciated in European and American countries (2). Moreover, domestic buffaloes are economically significant in some countries of South America, Europe and south of Asia, where provides work and income to small producers (3).

The Amazon region in Brazil is considered the “buffaloes paradise”, for its humid weather, muggy soil and large disposal of high nutritional forage (4). Even with higher acclimation and production potential comparing to bovines in tropical areas, the low reproductive rate of buffaloes is limiting its grown in the world (5). In this species a long anestrus, silent estrus and low conception rates occurs (6). Thus, studies using buffaloes as animal models allow extending the knowledge about physiology of these animals developing new models on biotechnology. These studies contribute to advances in Veterinary and Human researches, since experimental animal models are prerequisite for the applicability of techniques in human medicine (7).

The present review aims to gather studies related to buffaloes and stem cell (SC) biotechnology focusing and disclose the importance of research on these areas and its recent advances.

### **BUFFALO FARMING IN BRAZIL**

According to Brazilian Association of Buffaloes Breeders, (ABCB - Associação Brasileira de Criadores de Búfalos), the introduction of buffaloes in Brazil occurred in

1890, when Carabao buffaloes were brought to the Marajó island, in Pará. In 1895, the Mediterraneo buffaloes were import from Italy to the same region and the intersection between these animals originated the "Black Buffalo of Marajó". Currently, four breeds are officially known: Carabao, Jafarabadi, Mediterrâneo e Murrah. *Bubalus genre* has three subspecies: *Bubalus bubalis bubalis*, known as indian buffalo, domestic or river buffalo, that cover the breeds Murrah, Jafarabadi and Mediterrâneo; *Bubalus bubalis fulvus*, from Indian northwest, typically lives in wild or semi-domestication; *Bubalus bubalis kerebau*, is the Carabao breed, known as Rosilho from Amazon or "swamp buffalo" (8). The world population of meat and milk buffalo breeds is estimated in about 200 million. Brazil had 1.3 million of bubaline animals in 2013, according to data from Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2013) (9).

In spite of its rusticity and great potential for production, the lack of technology on buffaloes raising has led to the dangerous of the species (3). The decrease of the buffalo population is caused by some factors as lack of knowledge, bad management, inbreeding, poor sanitary management, and low investment in production. The buffalo extinction in Brazil, especially in the Amazon, is imminent (4) and the need to expand the knowledge involving these animals is required.

## STEM CELLS BIOTECHNOLOGY

Stem cells (SC) present high potential to regenerate damaged tissues and organs. The stem cells are distinct from any other cell in the organism since a single SC can originate at the same time, by mitosis, a cell exactly similar as the mother cell, and a cell with the ability to differentiation into other cells types (10). This property is called asymmetrical division. The SC can be classified by their potential to differentiate into totipotent, pluripotent, multipotent and omnipotent, or as the origin tissue, into embryonic (eSC) or somatic (sSC). The eSC can differentiate into any tissue, and can compose teratomas, besides presenting innumerable ethical concerns. Thus, research on sSC, which include hematopoietic stem cells (hSC) and mesenchymal stem cells (mSCs) have been developed to potential therapeutic application.

## BUFFALOES mSC

The use of Buffaloes as experimental model is scarce in the scientific context, compared to other ruminants as cattle and sheep, although some authors obtained positive results in SC isolation from buffalo bone marrow. The isolated mSCs presented positive expressions of Oct4, Sox2 e Nanog markers, which indicate pluripotency potential (11). Describing the technique of isolation and culture of buffalo mSCs Moraes et al. (12) showed a successful *in vitro* differentiation into osteogenic lineage. However, the adipogenic differentiation was difficult and needed more attention (12). Similar results were observed in cultured cells obtained from buffaloes amniotic fluid (13). Gene expression of Oct-4 and markers for adipogenic differentiation (PPAR $\gamma$  - Proliferator Activated Receptor Gamma), osteogenesis (Osteopontin) and chondrogenic (Collagen type II) were described, indicating that the differentiation capacity combined with the natural plasticity of MSCs derived from adipose tissue make these cells a viable alternative source for cell therapy (14). A study of MSCs from Wharton's Jelly (WJ), the intervascular portion of umbilical cord, aiming to assess the potential for *in vitro* differentiation and cryopreservation concluded that it is possible to culture and cryogenically store these cells for prolonged periods with no karyotype and morphology changes, with good growth potential after thawing (15). The authors pointed buffaloes



WJ as an abundant and low cost source of multipotent mSCs demonstrating the viability of these cells to be used in veterinary medicine and agricultural biotechnologies.

## POTENTIAL APPLICATIONS OF SCs IN ANIMAL BREEDING

Multiple therapeutic opportunities for the use of adult stem cell can be recognized. A better understanding of stem cell pool leads to isolation and expansion of mSCs *ex vivo*, and their use in tissue repair by relatively simple methods, including local injection (16). In regenerative medicine, healing improvement can be accomplished by providing the cellular elements required during the process, ensuring the generation of new cells. Also the production of supramolecular structures is necessary, namely the extracellular matrix which provides a fully functional generated spatial organization of the new tissues and systemic integration (17).

The main properties that make mSCs eligible for cell therapy are differentiation capacity associated with autocrine and paracrine activities. These cells are able to interact with tissues regulating cell properties like proliferation, differentiation and quiescence, in addition to response to injuries by secreting cytokines and growth factors which can suppress or expand immune recognition (18). Tissue repair mechanism also can be provided by indirect action of mSCs through local application of conditioned medium, which increased macrophages and endothelial progenitor cells recruitment to injured tissue (19), and promoted angiogenic process (20).

Among the possible applications of cell therapy is the female reproduction. Subfertility in cows has been the cause of decreasing calving rate in about 1% a year (21). Uterine tissues undergoes several processes of growth and apoptosis during estrous cycle and abnormalities in this process is the major cause of female infertility (22). Mesenchymal SC from bone marrow was pointed as able to modulate uterine inflammatory response on endometritis induced by mating in equine (23). The authors compared the intrauterine administration of dexamethasone, autologous conditioned serum and mSCs and concluded that the last may be the more truthful treatment to reduce inflammatory response in the mare.

## MAMMARY STEM CELLS (MaSCs)

Among the epithelial cells in mammary gland, there is the mammary SC (maSC), responsible for the development, growth and tissue regeneration involved in milk production. In fact, a study demonstrated that a single cell can reconstitute all the mammary gland tissues *in vivo* (24), which made of maSC an implement to combat mastitis, the inflammatory reaction of mammary gland that causes losses in dairy cattle worldwide. Mastitis treatment with maSC can turn possible therapy with no antibiotics or bacteria residues in milk.

Histological analysis of mammary glands of Hereford and Holstein cows demonstrated that animals selected for milk production have increased amounts of secretory cells in intermediate or differentiated stage, and the high milk production could be related to this. Also, the quantity and activity of these cells are more intensified in the peripartum of dairy cattle compared to beef cattle (25). The knowledge about the behavior of the maSCs can be the key to increase the persistency of lactation and decrease the dry period on dairy production cattle and buffalos, since its activity is linked to the self-renewal capacity of the mammary gland (26).

Human breastmilk *in natura* was described as a new mSC's source in a study that obtained pluripotent cells capable to differentiate in the three embryonic germ layers,

similar to eSC (27). These cells can be linked to the mammary gland self-renewal and make possible the development of new models for cell therapy, bioengineering, and breast cancer studies, indicating the need for research in this area.

### **SPERMATOGONIAL SC**

Spermatogonial SC can contribute to genetic improvement and increase the production and selection of bubaline breeds, since these animals show low fertility rates and low reproductive efficiency. These cells are on the basement membrane of seminiferous tubule, and are responsible for a lifelong spermatogenesis. Bubaline spermatogonia SC were characterized by plasticity and the specific markers CDH1 (28). SC culture and transfer techniques reveals new perspectives to animal reproduction, as an alternative to artificial insemination and transgenic in farm animals (29).

Experiment transferring *Bos taurus* to *Bos indicus* spermatogonial SC showed extensive colonization and high cell division rate on seminiferous tubule of transplanted animals, indicating that these cells can be able to continue the spermatogenesis (30) in the host seminiferous tubules. *In vitro* culture of bubaline spermatogonial and Sertoli cells (31) leads to the obtainment SC spermatogonial colonies in seven days. These cells were able to differentiate into spermatid-like cells and, in 30 days of culture, these cells showed elongated morphology, abundant cytoplasm and rudimentary flagellum. The authors pointed retinol as an important agent to induce this differentiation. Spermatogonial cell from pre-pubertal bubalines were isolated and cultivated on a Sertoli cell layer and showed SC characteristics, like plasticity, and the expression of pluripotency genes as OCT4, NANOG, REX1 and SOX2, with no karyotype changes (32).

### **INDUCED PLURIPOTENT SC**

Induced pluripotent SC (iPSC) are mSC that presents similar characteristics of eSC, as pluripotency, morphology, surface markers, gene expression, proliferation, differentiation *in vitro* and teratogenesis *in vivo* (33). Shinya Yamanaka (41) developed a revolutionary technique to produce of pluripotent cells by genetic reprogramming adult cells of mice (34) and, from human (33). Cells were reprogrammed by adding four genes - OCT-4, SOX-2, KLF-4 and C-MYC - through the use of viral vectors (modified viruses carrying the factors into the cell to be reprogrammed) (34). After the successful creation of human induced pluripotent cells (iPS), experiments were performed using viral transfection in skin fibroblasts in dogs (35), sheep (36), goats (37), swine (38), cattle (39) and horses (40).

The technique allows new perspectives of treatment to degenerative illness without immunological reactions. The mesenchymal SC is induced back to a pluripotency in order to an autologous transplant (41). Farm animals as experimental models to iPSC is a viable alternative to study future application on human medicine and advances in veterinary medicine are needed (42).

Teratogenesis of three germ layers was induced successfully in study which isolated fetal fibroblast from miniature pig and induced them into a pluripotent state using a retrovirus that introduced into the cells the genes responsible for pluripotency (43). Embryonic expression markers were positive with no karyotype modifications in cultivated cells, and the authors pointed the need to monitor the iPSC stability *in vivo* and study other animal species. Fetal buffaloes fibroblasts were induced successfully by retroviral vector in study that obtained cells with typical eSC morphology and markers,

*in vitro* differentiation and teratogenesis in sixth to ten weeks after injected in nude BALB/C mouse (44). The authors pointed that, as in previous experiment with blastocyst as SC source, *in vitro* survival was until the tenth passage.

Fibroblasts from buffaloes fetal skin was successfully reprogrammed to pluripotent state using chicken egg extract (45). Authors described cell colonies with positive pluripotency markers OCT4, SOX2, NANOG and FoxD3 and pointed the chicken egg extract as an option to reprogramming mSC. Therefore, iPSC is a trend on biotechnology what allows new possibilities for cell therapy, cloning, animal reproduction and conservation.

## CONCLUSION

The advances in Biotechnology and SC technologies, the large area to be exploited in livestock, its economic importance specially in tropical areas, and the development of new bubaline studies can increase new perspectives in health, reproduction, cell biology and milk and meat production, besides avoid buffaloes extinction in risk areas and subfertility, can increase reproductive rates and economic potential of buffaloes worldwide.

## REFERENCES

1. McManus C, Paiva S, Louvandini H, Melo C, Cassiano, L, Marques JRF, et al. Búfalos no Brasil. INCT Pec. 2010;1:1-23.
2. Spanghero M, Gracco L, Valusso R, Piasentier E. In vivo performance, slaughtering traits and meat quality of bovine (Italian Simmental) and buffalo (Italian Mediterranean) bulls. Livest Prod Sci. 2004;91:129-41.
3. Singh B, Chauhan MS, Singla SK, Gautam SK, Verma V, Manik RS, et al. Reproductive biotechniques in buffaloes (*Bubalus bubalis*): status, prospects and challenges. Reprod Fert Develop. 2009;21(4):499-510.
4. Gomes W, Humberto A, Minervino H. Buffalo under Threat in Amazon Valley, Brazil. Buffalo Bull. 2013;32(1):121-31.
5. Totey SM, Singh G, Taneja M, Pawshe CH, Talwar GP. In vitro maturation, fertilization and development of follicular oocytes from buffalo (*Bubalus bubalis*). J Repro Fertil. 1992;95(2):597-607.
6. Madan ML, Das SK, Palta P. Application of reproductive technology to buffaloes. Anim Reprod Sci. 1996;42(1-4):299-306.
7. Touitou Y, Portaluppi F, Smolensky MH, Rensing L. Ethical Principles and Standards for the Conduct of Human and Animal Biological Rhythm Research. Chronobiologia. 2004;21(1):161-70.
8. Embrapa- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Programa de pesquisas da Embrapa Amazônia Oriental para o melhoramento genético de búfalos. Belém: Embrapa Amazônia Oriental; 2007.

9. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2013). FAOSTAT, Statistic Division, Rome, Italy: Switzerland: <http://faostat.fao.org/>
10. Nardi NB. Células-tronco: fatos, ficção e futuro. *Genética na escola*. 2007;25-9.
11. Gade NE, Pratheesh MD, Nath a, Dubey PK, Amarpal, Sharma B, et al. Molecular and cellular characterization of buffalo bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Reprod Domest Anim*. 2013;48(3):358-67.
12. Moraes CN De, Listoni AJ, Maia L, Queiroz CM De, Destro FC, Oba E, et al. Description of the technique of bone marrow harvesting in the coxal tuberosity for isolation and culture of mesenchymal stem cells of buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Stem Cell Disc*. 2014;4(1):8-12.
13. Dev K, Giri SK, Kumar A, Yadav A, Singh B, Gautam SK. Derivation, characterization and differentiation of buffalo (*Bubalus bubalis*) amniotic fluid derived stem cells. *Reprod Domest Anim*. 2012;47(5):704-11.
14. Hepsibha P; Meenambigai TV; Mangalagowri A; Palanisamy A; Stalin A; Nithya S; Kumanan. Multipotent differentiation potential of buffalo adipose tissue derived mesenchymal stem cells. *Asian J Anim Vet Adv*. 2011;6(8):772-88.
15. Singh J, Mann A, Kumar D, Duhan JS, Yadav PS. Cultured buffalo umbilical cord matrix cells exhibit characteristics of multipotent mesenchymal stem cells. *In Vitro Cell Dev-An*. 2013;49(6):408-16.
16. Luyten FP. Mesenchymal stem cells: uses in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2004;16(5):569-603.
17. Levenberg S, Huang NF, Lavik E, Rogers a B, Itskovitz-Eldor J, Langer R. Differentiation of human embryonic stem cells on three-dimensional polymer scaffolds. *Proc Natl Acad Sci*. 2003;100(22):12741-6.
18. Caplan A, Dennis J. "Mesenchymal Stem Cells as Trophic Mediators." *J Cell Biochem*. 2006;98(5):1076-84.
19. Chen L, Tredget EE, Wu PYG, Wu Y. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing. *PLoS One*. 2008;3(4):1-12.
20. Wu Y, Chen L, Scott PG, Tredget EE. "Mesenchymal Stem Cells Enhance Wound Healing Through Differentiation and Angiogenesis." *Stem Cells*. 2007;25(10):2648-59.
21. Royal M, Mann GE, Flint PF. "Strategies for Reversing the Trend Towards Subfertility in Dairy Cattle." *The Vet J*. 2000;160(1):53-60.
22. Gargett CE. "Uterine Stem Cells: What Is the Evidence?" *Hum Reprod Update*. 2006;13(1):87-101.

23. Ferris R, Frisbie DD, McCue PM. "Use of Mesenchymal Stem Cells or Autologous Conditioned Serum to Modulate the Inflammatory Response to Spermatozoa in Mares." *Theriogenology*. 2014;82(1):36-42.
24. Shackleton M, Vaillant F, Simpson KJ, Stingl J, Smyth GK, Asselin-Labat M-L, et al. Generation of a functional mammary gland from a single stem cell. *Nature*. 2006;439(7072):84-8.
25. Akers RM, Capuco AV, Keys JE. Mammary histology and alveolar cell differentiation during late gestation and early lactation in mammary tissue of beef and dairy heifers. *Livest Sci*. 2006;105(1-3):44-9.
26. Capuco A V, Ellis SE, Hale SA, Long E, Erdman RA, Zhao X, et al. Lactation persistency: Insights from mammary cell proliferation studies. *J Anim Sci*. 2003;81:18-31.
27. Hassiotou F, Beltran A, Chetwynd E, Stuebe AM, Twigger AJ, Metzger P, et al. Breastmilk is a novel source of stem cells with multilineage differentiation potential. *Stem Cells*. 2012;30:2164-74.
28. Yu X, Riaz H, Dong P, Chong Z, Luo X, Liang A, et al. Identification and IVC of spermatogonial stem cells in prepubertal buffaloes. *Theriogenology*. 2014;81(9):1312-22.
29. Hill Jr, Dobrinski I. Male germ cell transplantation in livestock. *J Reprod Fertil*. 2005;18(2):13-8.
30. Herrid M, Vignarajan S, Davey R, Dobrinski I, Hill JR. Successful transplantation of bovine testicular cells to heterologous recipients. *Reproduction*. 2006;132(4):617-24.
31. Xie B, Qin Z, Huang B, Xie T, Yao H, Wei Y, et al. *In vitro* culture and differentiation of buffalo (*Bubalus bubalis*) Spermatogonia. *Reprod Domest Anim*. 2010;45(2):275-82.
32. Kala S, Kaushik R, Singh KP, Kadam PH, Singh MK, Manik RS, et al. *In vitro* culture and morphological characterization of prepubertal buffalo (*Bubalus bubalis*) putative spermatogonial stem cell. *J Assist Reprod Genet*. 2012;29(12):1335-42.
33. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861-72.
34. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*. 2006;126:663-76.

35. Kwon HS, Oh HJ, Lee DH, Kim DE, Kang SK, Lee BC. 285 Generation of canine induced pluripotent stem cells from canine fetal fibroblast and adult fibroblast of cloned dog. *Reprod Fertil Dev.* 2012;25(1):290-8.
36. Bao L, He L, Chen J, Wu Z, Liao J, Rao L. et al. Reprogramming of ovine adult fibroblasts to pluripotency via drug-inducible expression of defined factors. *Cell Res.* 2011;21(4):600-8.
37. Ren J, Pak Y, He L, Qian L, Gu Y, Li H. et al. Generation of hircine-induced pluripotent stem cells by somatic cell reprogramming. *Cell Res.* 2011;21(5):849-53.
38. Roberts RM, Telugu BP, Ezashi T. Induced pluripotent stem cells from swine (*Sus scrofa*): why they may prove to be important. *Cell Cycle.* 2009;1-8(19):3078-81.
39. Cao H, Yang P, Pu Y, Sun X, Yin H, Zhang Y. et al. Characterization of Bovine Induced Pluripotent Stem Cells by Lentiviral Transduction of Reprogramming Factor Fusion Proteins. *Int J Biol Sci.* 2012;8(4):498-511.
40. Nagy K, Sung HK, Zhang P, Laflamme S, Vincent P, Agha-Mohammadi S. et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from equine fibroblasts. *Stem Cell Rev.* 2012;8(2):693-702.
41. Yamanaka S. Pluripotency and nuclear reprogramming. *Philos T Roy Soc B.* 2008;363:2079-87.
42. Cebrian-Serrano A, Stout T, Dinnyes A. Veterinary applications of induced pluripotent stem cells: regenerative medicine and models for disease. *Vet J.* 2013;198(1):34-42.
43. Esteban MA, Xu J, Yang J, Peng M, Qin D, Li W, et al. Generation of induced pluripotent stem cell lines from Tibetan miniature pig. *J Biol Chem.* 2009;284(26):17634-40.
44. Deng Y, Liu Q, Luo C, Chen S, Li X, Wang C, et al. Fetal Fibroblasts with Buffalo Defined Factors. *Stem Cells Dev.* 2012;21(13):2485-94.
45. Mahapatra PS, Bag S. Reprogramming of buffalo (*Bubalus bubalis*) foetal fibroblasts with avian egg extract for generation of pluripotent stem cells. *Res Vet Sci.* 2014;96(2):292-8.

## **CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS DE TECIDO ADIPOSE BOVINO: UMA OPÇÃO DE TRATAMENTO PARA ENDOMETRITE?**

Carla Martins de Queiroz<sup>1\*</sup>  
Carolina Nogueira de Moraes Maia<sup>1</sup>  
João Carlos Pinheiro Ferreira<sup>2</sup>

### **RESUMO**

A endometrite em bovinos possui grande prevalência na bovinocultura brasileira, gerando aumento no intervalo entre partos, diminuindo produtividade e causando prejuízos no setor agropecuário. O uso de terapia celular é de grande utilidade na medicina regenerativa e biotecnologia animal. Avanços nesta esfera abrangem cada vez mais áreas de atuação desta terapia. O objetivo deste trabalho foi revisar a literatura acerca de endometrite em bovinos e a possível aplicabilidade de células tronco mesenquimais oriundas de tecido adiposo como terapia. Conclui-se que a terapia celular em casos de endometrite em bovinos é um campo promissor, capaz de agir na imunomodulação local.

**Palavras-chave:** *Bos taurus*, terapia celular, células tronco adultas, reprodução.

## **MESENCHYMAL STEM CELLS FROM BOVINE ADIPOSE TISSUE: A TREATMENT OPTION FOR ENDOMETRITIS?**

### **ABSTRACT**

Endometritis in cattle has a high prevalence in Brazilian cattle farming, increasing the interval between calving, reducing productivity and causing losses in the agricultural sector. The use of cell therapy is of great utility in regenerative medicine and animal biotechnology. Advances in this sphere cover more and more areas of action of this therapy. The objective of this work was to review the literature on endometritis in cattle and the possible applicability of mesenchymal stem cells derived from adipose tissue as therapy. It is concluded that the cell therapy in cases of endometritis in cattle is a promising field, capable of acting in the local immunomodulation.

**Keywords:** *Bos taurus*, cell therapy, adult stem cells, reproduction.

## **CÉLULAS TRONCAL MESENQUIMALES DE TEJIDO ADIPOSE BOVINO: UNA OPCIÓN DE TRATAMIENTO PARA ENDOMETRITIS?**

### **RESUMEN**

La endometritis en bovinos posee gran prevalencia en la bovinocultura brasileña, generando aumento en el intervalo entre partos, disminuyendo productividad y causando perjuicios en el sector agropecuario. El uso de terapia celular es de gran utilidad en la medicina regenerativa y la biotecnología animal. Los avances en esta esfera abarca cada vez más áreas de actuación de esta terapia. El objetivo de este trabajo fue revisar la literatura acerca de endometritis en bovinos y la posible aplicabilidad de

---

<sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

\* Autor correspondente: mvcarlaqueiroz@gmail.com

células madre mesenquimales oriundas de tejido adiposo para terapia. Se concluye que la terapia celular en casos de endometritis en bovinos es un campo prometedor, capaz de actuar en la inmunomodulación local.

**Palabras clave:** *Bos taurus*, terapia celular, células madre adultas, reproducción.

## 1. INTRODUÇÃO

A terapia celular com células tronco pode agir diretamente na formação de novos tecidos ou agir através de mecanismos parácrinos (1,2). Informações do secretoma de CTM apontam que fatores solúveis, como fatores de crescimento e hormônios, provêm grande contribuição para atividade parácrina e desempenham papel primordial no potencial terapêutico das células tronco mesenquimais (3,4).

Devido sua habilidade de expansão e diferenciação (5), o tecido adiposo é uma fonte promissora para obtenção de células tronco, com aplicabilidade terapêutica para casos agudos e crônicos (6). Além disso esta fonte de tecido é de acesso fácil e demanda procedimento cirúrgico simples (7). Ademais, o tecido adiposo pode ser obtido repetidamente em grandes quantidades sob anestesia local promovendo desconforto mínimo (8).

A endometrite em bovinos é um problema prevalente que leva a perdas econômicas na bovinocultura (9). Apesar do grande uso de antibióticos sistêmicos e locais, antisépticos, sulfonamidas e hormônios, as taxas de recuperação da endometrite em vacas com subsequente fertilidade não aumenta consideravelmente. Além disso, os custos com tratamento, a frequência de sua administração e o descarte do leite após o tratamento faz com que estas abordagens sejam antieconômicas. Terapias alternativas que estimulem a defesa natural do útero têm sido sugeridas como tratamento (10).

O objetivo deste trabalho foi revisar a literatura acerca de células tronco mesenquimais de tecido adiposo bovino e endometrite bovina para averiguar a possibilidade no uso desta biotecnologia na patofisiologia da reprodução da espécie.

## 2. DESENVOLVIMENTO DO ASSUNTO

### Células tronco mesenquimais

As células tronco mesenquimais (CTM), também chamadas de estromais, são um grupo heterogêneo de células tronco adultas não hematopoiéticas, capazes de serem isoladas de vários tecidos adultos como tecido adiposo, medula óssea, entre outros. Embora não sejam imortais, estas células possuem alto potencial de expansão em cultivo mantendo sua capacidade de crescimento. As propriedades das CTM lhes concedem grande potencial terapêutico e vêm sendo usadas amplamente em contextos clínicos (11)

As CTM foram descritas primeiramente em 1974 em cobaias (*Cavia porcellus*) por Friedenstein et al. (12). Eles depositaram medula óssea em placas de cultivo e após algumas horas removeram as células não aderentes, descartando, portanto, a maioria das células hematopoiéticas. As células restantes formaram focos de duas ou mais células que se multiplicaram rapidamente. Depois de várias passagens em cultivo, as células aderentes se tornaram mais homogêneas e fibroblastóides. Eles também observaram que estas células podiam se diferenciar *in vivo*.

Sugere-se que, como as células possuem meia vida, sua morte deve ser seguida de sua substituição. Desta forma as CTM seriam a fonte destas novas células de



substituição no organismo (13,14). Contudo, as CTM possuem potencial de diferenciação limitado em comparação às células tronco embrionárias. Mecanismos imunomoduladores e parácrinos estão entre seus principais efeitos terapêuticos, de acordo com evidências pré-clínicas (14). Em infusões intravasculares não existem relatos adversos, como por exemplo osteogênese ectópica em casos de CTM oriundas de medula óssea (15). Isso se deve ao fato de que nas terapias celulares as CTM não possuem função primária de substituição de tecido mesenquimal, mas sim favorecem um microambiente de regeneração e diminuem os efeitos inflamatórios (14).

As CTM secretam moléculas bioativas que inibem a apoptose e limitam a área de dano da lesão, inibem fibrose, estimulam angiogênese, trazem novo suprimento sanguíneo e estimulam a mitose de progenitores específicos e intrínsecos ao tecido. As CTM também secretam agentes imunomodulatórios, inibem processos inflamatórios crônicos e as células T, e podem ser efetivas terapêuticamente (11,14,16,17).

Sugere-se que as CTM poderiam, portanto, ser utilizadas como células universais alogênicas que funcionariam em qualquer organismo, já que elas não provocam resposta linfocitária alo-reativa devido sua capacidade de modulação imune. Para suportar esta hipótese já foi documentado que as CTM cultivadas e expandidas não possuem marcadores de superfície para MHC classe II e nenhuma molécula co-estimuladora (18)

Caplan (14) afirma não conhecer registros de reações adversas em usos clínicos realizados com CTM de medula óssea autóloga ou alogênica em humanos. Revisão sistemática e metanálise de dados de testes clínicos em humanos já foram realizadas para avaliar a segurança desta terapia intravascular. Não foi constatado nenhum sinal que comprometesse a segurança da terapia (19).

Apesar do fato das CTM ficarem presas nos pulmões após entrarem na circulação sanguínea, evidências mostram que as células são capazes de migrar para o tecido lesado após aplicação intravenosa. Comprovou-se que CTM transplantadas em ratos migram para sítios de injúria cerebral após isquemia cerebral (20). Um estudo mostrou que, após o transplante intravenoso de CTM em ratos com rejeição de alo-enxerto cardíaco, as células migraram vigorosamente para os sítios de rejeição (21). Esta habilidade de migrar da circulação para tecidos se dá em resposta a sinais que são regulados sob condições de injúria. Os mecanismos prováveis envolvem quimiocinas e seus receptores (11).

Com o objetivo de caracterizar as CTM humanas de modo uniforme e para facilitar a comparação entre grupos de pesquisa, o Comitê de Células Tronco Teciduais e Mesenquimais da Sociedade Internacional de Terapia Celular propôs um mínimo de quatro critérios:

1. CTM deve ser aderente ao plástico quando mantida sob condições padrões de cultivo
2. CTM devem possuir a habilidade de diferenciação osteogênica, adipogênica e condrogênica
3. CTM devem expressar CD73, CD90
4. CTM não podem expressar marcadores da linhagem hematopoiética c-kit como CD14, CD11b, CD34, CD19, CD79, e antígeno leucocitário humano (HLA)-DR (8).

De modo geral o fenótipo imune das CTM (amplamente descrito como MHC I+, MHC II-, CD 40-, CD 80-, CD 86-) tem relação com sua característica não imunogênica e, portanto, o transplante em hospedeiro alogênico não necessita de imunossupressão. O MHC classe I presente pode ativar as células T, porém na ausência de substâncias coestimuladoras um sinal secundário não acontece, deixando as células T anérgicas (22).

As CTM de outras espécies podem não expressar as mesmas moléculas que as células humanas. Em geral, é aceito que todas CTM são desprovidas de marcadores hematopoiéticos CD45 e marcador de células endoteliais CD31, por exemplo. Variáveis na expressão dos marcadores incluem diferença na fonte de tecido, método de isolamento e variação entre espécies (22,23).

Além da identificação das CTM de outras espécies com base em suas características morfológicas e fenotípicas, ainda há a possibilidade de também identificar populações de CTM pela sua capacidade de ser induzida a diferenciar-se em osso, gordura e cartilagem *in vitro*. O método clássico para diferenciação das CTM *in vitro*, envolve incubação das CTM com meio de diferenciação comercial. No caso da diferenciação osteogênica, por exemplo, as CTM formam agregados ou nódulos e aumentam sua expressão de fosfatase alcalina, e acúmulo de cálcio pode ser visto com o tempo. Estes agregados coram positivamente nas técnicas específicas como Vermelho de Alizarina e Von Kossa. Contudo estas condições não refletem os sinais fisiológicos recebidos pelas CTM *in vivo* que induzem a osteogênese (11,24).

### **Células tronco mesenquimais de tecido adiposo**

Após a primeira descrição de isolamento de células tronco a partir de medula óssea há mais de 40 anos (12), o uso desta fonte se tornou padrão no campo da biologia de células tronco adultas e da medicina regenerativa devido ao seu grande potencial de diferenciação e baixa morbidade durante a coleta (25). Contudo a coleta de medula óssea por aspiração é um procedimento doloroso e o número de células adquiridas é geralmente baixo (aproximadamente 1 célula para cada 10000 células nucleadas) e há declínio no potencial de diferenciação com o aumento de idade do doador. O tecido adiposo pode, portanto, ser considerado uma fonte alternativa de grande interesse (6,11).

As células tronco mesenquimais de tecido adiposo (CTM-TA) são uma fonte atrativa por serem abundantes e possuem aplicabilidade terapêutica em diversos campos para o reparo e regeneração de danos teciduais agudos e crônicos (6). Isso se deve à sua habilidade de expansão e capacidade de diferenciar-se em linhagem adipogênica, osteogênica, condrogênica e neurogênica *in vitro* (5,26) bem como o procedimento cirúrgico simples que demanda e o isolamento descomplicado (7). Ademais, o tecido adiposo pode ser obtido repetidamente em grandes quantidades sob anestesia local promovendo desconforto mínimo (8).

Ademais, o uso das CTM oriundas tecido adiposo contorna problemas éticos que as células tronco embrionárias enfrentam e possuem menor custo em comparação com a produção das células tronco de pluripotência induzida (IPS) (27). Adicionalmente, uma análise comparativa das CTM obtidas da medula óssea, tecido adiposo e cordão umbilical mostrou claramente que CTM-TA não perdem com relação a morfologia, fenótipo imune, taxa de sucesso de isolamento de células tronco, frequência de colônia e capacidade de diferenciação (28,29). Pelo contrário, em CTM-TA humanas algumas características como frequência de formação e colônias e manutenção de habilidade de proliferação em cultivo parecem ser superiores nas CTM-TA se comparado às CTM oriundas de medula óssea, e um maior número de adipócitos pode ser obtido de culturas com plaqueamento inicial baixo (30).

Contudo, fatores como idade do doador, tipo (tecido adiposo branco ou marrom), localização (subcutânea ou visceral), condições de cultivo, exposição ao plástico, densidade de plaqueamento e formulação do meio de cultivo podem influenciar tanto na taxa proliferação quanto na capacidade de diferenciação das CTM-TA. A fonte de

obtenção do tecido pode influenciar características a longo termo pois diferentes localizações anatômicas do tecido adiposo possuem suas próprias características metabólicas como atividade lipolítica, composição de ácidos graxos, e perfil de expressão gênica (8).

As pesquisas atuais afirmam que o potencial de diferenciação contribui minimamente para os efeitos benéficos atribuídos às CTM enquanto as atividades antiinflamatória e parácrina desempenham um papel predominante (4). A supressão de reações imunes foi primeiramente relatada por Di Nicola et al. (31) co-cultivando CTM de medula óssea com células imunes ativas. As CTM inibiram a proliferação das células-T sem contato direto com as mesmas.

De modo geral, três aspectos principais da ação imunomoduladora já foram relatados: contato célula-célula, produção de moléculas inibitórias e indução das células-T reguladoras. Desta forma há a geração de um microambiente tecidual permissivo à reparação e regeneração. A liberação de fatores solúveis no secretoma de CTM tem mostrado desempenhar papel primordial e levou a investigações para avaliar potencial terapêutico das moléculas derivadas de CTM em condições imunológicas (4). Em um estudo evidenciaram-se as propriedades imunomoduladoras das células tronco e seu meio condicionado, e o papel crucial dos fatores solúveis em inibir células mononucleares do sangue periférico *in vitro*, bem como a eficácia do meio condicionado no tratamento de injúria espontânea do tendão e ligamento em equinos *in vivo* (32).

As moléculas secretadas incluem proteínas séricas (como albumina, transferrina e imunoglobulinas), proteínas da matriz extracelular (colágenos, proteoglicanos, fibronectina, lamininas), enzimas digestivas, ou proteínas do leite (33). Já as proteínas altamente bioativas, mesmo em baixa quantidade, como fatores de crescimento, hormônios, citocinas ou proteases de processamento de matriz extracelular, possuem papel chave na regulação de renovação e diferenciação celular (3). Além disso, as moléculas secretadas mediam a interação intercelular a curta distância via espaço intersticial ou entram nos fluidos corporais como plasma ou líquido cérebro espinhal e participam na manutenção da homeostase de órgãos e até mesmo de todo o organismo. (34). Pesquisas caracterizando o secretoma das CTM tem comumente por alvo moléculas como fatores de crescimento e hormônios, com papéis conhecidos na prevenção da apoptose, indução da proliferação celular e diferenciação ou regulação das respostas imune e inflamatória (4).

### **Endometrite em bovinos**

Doenças uterinas como a endometrite são altamente prevalentes em vacas, principalmente vacas leiteiras de alta produção (35) e levam a perdas econômicas devido à diminuição da produção de leite e da fertilidade (36). A endometrite é a condição na qual vacas falham em eliminar os contaminantes bacterianos (37) e é definido por aumento no número de polimornucleares no útero (36).

O útero é composto de três porções sendo elas: o perimétrio, miométrio e endométrio (38). O endométrio compreende células epiteliais, estromais, endoteliais e imunes, cujas funções são moduladas pelos hormônios ovarianos estradiol e progesterona, bem como fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas (39). As interações parácrinas, autócrinas e endócrinas entre células são fundamentais para funcionamento normal do tecido e dependem da correta organização espacial das células e arquitetura tecidual (40).

O endométrio, assim como a maioria das superfícies mucosas, é a linha de frente da defesa imune contra bactérias. A resposta imune do endométrio a patógenos envolve o sistema complemento, peptídeos antimicrobianos, imunoglobulinas, proteínas de fase aguda e receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) (41). O papel dos PRRs no endométrio parece ser de particular importância, pois eles reconhecem padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) conservados e sintetizados por microorganismos (42). A detecção dos PAMPs pelos PRRs, sobre ou dentro das células imunes especializadas e células endometriais, desencadeia a produção de citocinas e quimiocinas que orquestram uma resposta imune para eliminar infecção e resultar no reparo tecidual. Os PRR compreendem 4 classes principais de moléculas solúveis e que se ligam à membrana, dentre elas a mais estudada é a dos receptores tipo-Toll (TLR) (43,44).

*Escherichia coli* é a bactéria patogênica mais comumente isolada dos casos de doença uterina em bovinos (45,46). No lúmen uterino, há alta concentração de LPS, o principal fator patogênico da *E. coli* (45). Quando a infecção uterina acontece há dano tecidual no endométrio. Nas células endometriais os TLR detectam moléculas associadas aos patógenos, como o LPS, e levam à secreção de quimiocinas, citocinas e peptídeos antimicrobianos. As quimiocinas atraem neutrófilos e macrófagos. Vacas com infecção uterina possuem menos chances de ovular porque possuem crescimento folicular mais lento do folículo dominante, concentrações plasmáticas de estradiol mais baixas bem como função hipotalâmica pituitária comprometida. A regulação da imunidade do endométrio depende de hormônios esteroides, somatotrofinas e proteínas regulatórias locais. Desta forma as doenças uterinas de origem microbiana causam infertilidade por prejudicar a função ovariana. Além disso, o aumento de secreção de PGF2alfa dentro do útero causa regressão do corpo lúteo e resulta em perda embrionária (47-49).

Embora grande parte das vacas consiga eliminar as bactérias uterinas com resposta imune inata, 17 a 37% desenvolvem endometrite clínica enquanto 14 a 53% desenvolvem endometrite subclínica (50,51). A endometrite subclínica também possui efeitos negativos na performance reprodutiva. Na citologia, existe um limiar de aceitabilidade para presença de polimorfonucleares no lúmen endometrial, acima do qual o animal é diagnosticado com endometrite subclínica (52). A biópsia provê informações detalhadas sobre o estado de saúde uterina (53). Tradicionalmente, a avaliação do útero bovino envolve palpação retal e ultrassonografia transretal (54). Estas técnicas são limitadas pois não obtêm detalhamento do processo patológico através de análise objetiva do tecido (55,56). Biópsias endometriais tem potencial para desempenhar um importante papel na avaliação da saúde uterina, investigação de processos patológicos e fisiológicos. É possível realizar uma boa avaliação histológica, celular e molecular usando o tecido obtido de biópsia (57).

Apesar do grande uso de antibióticos sistêmicos e locais, antisépticos, sulfonamidas e hormônios, as taxas de recuperação da endometrite em vacas com subsequente fertilidade não aumenta consideravelmente. Além disso, os custos com tratamento, a frequência de sua administração e o descarte do leite após o tratamento faz com que estas abordagens sejam antieconômicas. Desta forma, terapias alternativas que estimulem a defesa natural do útero têm sido sugeridas como tratamento na endometrite bovina (10).

### 3. CONCLUSÃO

Com base no exposto, conclui-se que a endometrite é prevalente na bovinocultura e causa perdas econômicas significativas. Dessa forma, a terapia celular com a utilização de células tronco mesenquimais de tecido adiposo bovino é uma fonte promissora e eficaz, e seu uso possui grande potencial anti-inflamatório e imunomodulador.

#### 4. REFERÊNCIAS

1. Den Haan MC, Grauss RW, Smits AM, Winter EM, Van Tuyn J, Pijnappels DA, et al. Cardiomyogenic differentiation-independent improvement of cardiac function by human cardiomyocyte progenitor cell injection in ischaemic mouse hearts. *J Cell Mol Med.* 2012;16(7):1508-1521.
2. Van Koppen A, Joles JA, Van Balkom BW, Lim SK, De Kleijn D.; Giles RH, et al. Human embryonic mesenchymal stem cell-derived conditioned medium rescues kidney function in rats with established chronic kidney disease. *PLoS One.* 2012;7(6):1-12.
3. Skalnikova H, Motlik J, Gadher SJ, Kovarova H. Mapping of the secretome of primary isolates of mammalian cells, stem cells and derived cell lines. *Proteomics.* 2011;11(4):691-708.
4. Lavoie, JR, Rosu-Myles M. Uncovering the secretomes of mesenchymal stem cells. *Biochimie.* 2013, 95(12):2212-2221.
5. Gimble J, Guilak F. Adipose-derived adult stem cells: isolation, characterization, and differentiation potential. *Cytotherapy.* 2003;5:362-369.
6. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, Alfonso ZC, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells, *Mol Biol Cell.* 2002;13:4279-4295.
7. Casteilla L, Planat-Benard V, Cousin B, Silvestre JS, Laharrague P, Charrière G, et al. Plasticity of adipose tissue: A promising therapeutic avenue in the treatment of cardiovascular and blood diseases. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2005;98:922-926.
8. Schäffler A, Buchler C. Concise review: adipose tissue-derived stromal cells - basic and clinical implications for novel cell-based therapies. *Stem Cells.* 2007;25:818-827.
9. Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN, Frajblat M. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology.* 2005;64:1879-1888.
10. Hussain AM, Daniel RC. Bovine endometritis: current and future alternative therapy. *Zentralbl Veterinarmed A.* 1991;38(9):641-651.
11. Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J. Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: Their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells.* 2007;25:2739-2749.

12. Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, Panasyuk AF, Keiliss-Borok IV. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. *Cloning in vitro and retransplantation in vivo*. *Transplantation*. 1974;117(4):331-340.
13. Caplan AI. Mesenchymal stem cell: cell-based reconstructive therapy in orthopaedics. *Tissue Eng*. 2005;11:1198-1211.
14. Caplan AI. Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. *J Pathol*. 2009;217(2):318-324.
15. Gao J, Dennis JE, Muzic RF, Lundberg M, Caplan AI. The dynamic in vivo distribution of bone marrow-derived mesenchymal stem cells after infusion. *Cells Tissues Organs*. 2001;169:12-20.
16. Caplan AI, Dennis JE. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J Cell Biochem*. 2006;98:1076-1084.
17. Meirelles LS, Caplan AI, Nardi NB. In search of the *in vivo* identity of mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. 2008;26:2287-2299.
18. Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, Zetterberg E, Ringden O. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol*. 2003;31:890-806.
19. Lalu MM, McIntyre L, Pugliese C, Fergusson D, Winston BW, Marshall JC, et al. Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (SafeCell): a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *PloS One*. 2012;7(10):e47559.
20. Chen J, Li Y, Wang L, Zhang Z, Lu D, Lu M, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Stroke*. 2001;32:1005-1011.
21. Wu GD, Nolte JA, Jin YS, Barr ML, Yu H, Starnes VA, et al. Migration of mesenchymal stem cells to heart allografts during chronic rejection. *Transplantation*. 2003;75:679-685.
22. Javazon EH, Beggs KJ, Flake AW. Mesenchymal stem cells: Paradoxes of passaging. *Exp Hematol*. 2004;32:414-425.
23. Baddoo M, Hill K, Wilkinson R, Gaupp D, Hughes C, Kopen GC, et al. Characterization of mesenchymal stem cells isolated from murine bone marrow by negative selection. *J Cell Biochem*. 2003;89:1235-1249.
24. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999;284:143-147.

25. Jaiswal RK, Jaiswal N, Bruder SP, Mbalaviele G, Marshak DR, Pittenger MF. Adult human mesenchymal stem cell differentiation to the osteogenic lineage is regulated by mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem.* 2011;7:269-291.
26. Lin Y, Chen X, Yan Z, Liu L, Tang W, Zheng X, et al. Multilineage differentiation of adipose derived stromal cells from GFP transgenic mice. *Mol Cell Biochem.* 2006;285:69-78.
27. Lindroos B, Suuronen R, Miettinen S. The potential of adipose stem cells in regenerative medicine. *Stem Cell Rev Rep.* 2011;7(2):269-291.
28. Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells.* 2006;24:1294-1301.
29. Izadpanah R, Trygg C, Patel B, Kriedt C, Dufour J, Gimble JM, et al. Biologic properties of mesenchymal stem cells derived from bone marrow and adipose tissue. *J Cell Biochem.* 2006;99:1285-1297.
30. Lee RH, Kim B, Choi I, Choi HS, Suh K, Bae YC, et al. Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue. *Cell Physiol Biochem.* 2004;14:311-324.
31. Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, Milanesi M, Longoni PD, Matteucci P, et al. Human bone marrow stromal cells suppress T lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood.* 2002;99:3838-3843.
32. Lange-Consiglio A, Rossi D, Tassan S, Perego R, Cremonesi F, Parolini O. Conditioned medium from horse amniotic membrane-derived multipotent progenitor cells: immunomodulatory activity in vitro and first clinical application in tendon and ligament injuries in vivo. *Stem Cells Dev.* 2013;22(22):3015-3024.
33. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. *Molecular Cell Biology.* New York: W. H. Freeman; 2000.
34. Pavlou MP, Diamandis EP. The cancer cell secretome: a good source for discovering biomarkers? *J Proteomics.* 2010;73:1896-1906.
35. Leblanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, Keefe GP, Walton JS, et al. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2002;85:2223-2236.
36. Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN, Frajblat M. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology.* 2005;64(9):1879-1888.
37. Sheldon IM, Dobson H. Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci.* 2004;82:295-306.

38. Priedkalns J, Leiser R. Female Reproductive System. In: Eurel JA, Frappier BL. Dellmann's textbook of veterinary histology. Austrália, 2006. p. 256-279.
39. Schäfer WR, Fischer L, Roth K, Jüllig AK, Stuckenschneider JE, Schwartz P, et al. Critical evaluation of human endometrial explants as an ex vivo model system: a molecular approach. *Mol Hum Reprod.* 2011;17:255-265.
40. Vogel V, Sheetz M. Local force and geometry sensing regulate cell functions. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7:265-275.
41. Wira CR, Fahey JV. The innate immune system: gatekeeper to the female reproductive tract. *Immunol.* 2004;111:1315.
42. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell.* 2010;140:805-820.
43. Herath S, Lilly ST, Fischer DP, Williams EJ, Dobson H, Bryant CE, et al. Bacterial lipopolysaccharide induces an endocrine switch from prostaglandin F2alpha to prostaglandin E2 in bovine endometrium. *Endocrinol.* 2009;150:1912-1920.
44. Sheldon IM, Bromfield JJ. Innate immunity in the human endometrium and ovary. *Am J Reprod Immunol.* 2011;66:63-71.
45. Dohmen MJ, Joop K, Sturk A, Bols PE, Lohuis JA. Relationship between intra-uterine bacterial contamination, endotoxin levels and the development of endometritis in postpartum cows with dystocia or retained placenta. *Theriogenology.* 2000;54:1019-1032.
46. Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft AN, Pfeiffer DU, Dobson H. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction.* 2002;123:837-845.
47. Herath S, Fischer DP, Werling D, Williams EJ, Lilly ST, Dobson H, et al. Expression and function of toll-like receptor 4 in the endometrial cells of the uterus. *Endocrinology.* 2006;147(1):562-570.
48. Sheldon M, Cronin J, Goetze L, Donofrio G, Schuberth H. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol Reprod.* 2009;81:1025-1032.
49. Caldari-Torres C, Rodriguez-Sallaberry C, Greene ES, Badinga L. Differential effects of n-3 and n-6 fatty acids on prostaglandin F2alpha production by bovine endometrial cells. *J Dairy Sci.* 2006;89:971-977.
50. Cheong SH, Nydam DV, Galvão KN, Crosier BM, Gilbert RO. Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2011;94:762-770.



51. Madoz LV, Giuliadori MJ, Migliorisi AL, Jaureguiberry M, De La Sota RL. Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *J Dairy Sci.* 2014;97:195201.
52. Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, et al. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology.* 2004;62:9-23.
53. Chapwanya A, Meade KG, Doherty ML, Callanan JJ, Mee JF, O'farrelly C. Histopathological and molecular evaluation of Holstein-Friesian cows postpartum: Toward an improved understanding of uterine innate immunity. *Theriogenology.* 2009;71:1396-1407.
54. Silva E, Sterry RA, Fricke PM. Assessment of a practical method for identifying anovular dairy cows synchronized for first postpartum timed artificial insemination. *J Dairy Sci.* 2007;90:3255-3262.
55. Ries A, Singson P, Bidus M, Barnes JG. Use of the endometrial pipelle in the diagnosis of early abnormal gestations. *Fertil Steril.* 2000;74:593-595.
56. Nielsen JM. Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology.* 2005;64:510-518.
57. Bonnett BN, Miller RB, Martin SW, Etherington WG, Buckrell BC. Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows: correlations between histological criteria. *Can J Vet Res.* 1991;55:162-167.

## INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM BÚFALOS

Felipe Rydygier de Ruediger<sup>1\*</sup>  
Gabriela Azenha Milani Soriano<sup>2</sup>  
Eunice Oba<sup>1</sup>

### RESUMO

A bubalinocultura brasileira apresenta um rebanho em pleno crescimento, visando tanto a produção de leite quanto de carne. Uma vez que esta espécie possui características reprodutivas que dificultam sua reprodução como maturidade sexual tardia, baixa expressão de estro, duração do estro muito variável, grande intervalo entre partos e anestro sazonal durante dias longos, estratégias que buscam melhores resultados reprodutivos vêm sendo aplicadas e estudadas. A principal biotecnologia implementada atualmente é a inseminação artificial, obtendo-se melhores resultados com o advento da inseminação artificial em tempo fixo. Diversos protocolos hormonais são utilizados para este fim, entre eles o Ovsynch, Doublesynch, Heatsynch, Estradoublesynch e protocolos hormonais à base de progesterona e estradiol com ou sem a administração de gonadotrofina coriônica equina (eCG). O Ovsynch e suas derivações apresentam resultados satisfatórios durante a estação reprodutiva favorável, porém as taxas reprodutivas são desastrosas durante a estação reprodutiva desfavorável. Dessa maneira, buscou-se alternativas visando melhores resultados neste período, sendo que a associação de progestágenos, estradiol, prostaglandina e eCG apresentou capacidade de desestacionalização nesta espécie, melhorando os resultados reprodutivos. Essa melhora reprodutiva deve-provavelmente devido ao maior diâmetro pré-ovulatório de seus folículos, que geram corpos lúteos mais robustos, capazes de produzir uma maior quantidade de progesterona, a qual será responsável pela manutenção da prenhez no início da gestação. Dessa maneira cabe ao profissional a escolha do protocolo hormonal mais adequado à realidade do rebanho, visando o aumento da produtividade de leite e carne.

**Palavras-chave:** reprodução animal, IATF, eCG.

### FIXED-TIME ARTIFICIAL INSEMINATION IN BUFFALOES

### ABSTRACT

The buffalo farming in Brazil is in full growth, aiming at both milk and meat production. Since this species has reproductive characteristics that make it difficult to reproduce as late sexual maturity, low estrous expression, very variable estrus duration, large interval between births and seasonal anestrous during long days, strategies that seek better reproductive results have been applied and studied. The main biotechnology

---

<sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

<sup>2</sup> Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente (UNOESTE), SP, Brasil

\* Autor correspondente: e-mail: f\_rydygier@hotmail.com

reproductive rates are disastrous during the unfavorable reproductive season. In this way, alternatives were sought for better results in this period, and the association of progestogens, estradiol, prostaglandin and eCG showed the capacity of currently implemented is artificial insemination, obtaining better results with the advent of fixed-time artificial insemination. Several hormonal protocols are used for this purpose, among them Ovsynch, Doublesynch, Heatsynch, Estradoublesynch and hormonal protocols based on progesterone and estradiol with or without administration of equine chorionic gonadotrophin (eCG). Ovsynch and its derivations present satisfactory results during the favorable reproductive season, but deseasonalization, improving the reproductive results, probably due to the greater preovulatory diameter of its follicles, which generate more robust luteal bodies, capable of producing a greater amount of progesterone, which will be responsible for the maintenance of pregnancy at the beginning of gestation. In this way, it is up to the professional to choose the most appropriate hormonal protocol to the reality of the herd, aiming to increase the productivity of milk and meat.

**Keywords:** animal reproduction, FTAI, eCG.

## INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO EN BÚFALOS

### RESUMEN

La bubalinocultura brasileña presenta un rebaño en pleno crecimiento, buscando tanto la producción de leche y de carne. Una vez que esta especie posee características reproductivas que dificultan su reproducción como madurez sexual tardía, baja expresión del celo, duración del celo muy variable, gran intervalo entre partos y anestro estacional durante los días largos, estrategias que buscan mejores resultados reproductivos vienen siendo aplicadas y estudiadas. La principal biotecnología implementada actualmente es la inseminación artificial, obteniéndose mejores resultados con el advenimiento de la inseminación artificial a tiempo fijo. Varios protocolos hormonales se utilizan para este fin, entre ellos Ovsynch, Doublesynch, Heatsynch, Estradoublesynch y protocolos hormonales a base de progesterona y estradiol con o sin la administración de gonadotropina coriónica equina (eCG). El Ovsynch y sus derivaciones presentan resultados satisfactorios durante la estación reproductiva favorable, pero las tasas reproductivas son desastrosas durante la estación reproductiva desfavorable. De esta manera, se buscó alternativas visando mejores resultados en este período, siendo que la asociación de progestágenos, estradiol, prostaglandina y eCG presentó capacidad de desestacionalización en esta especie, mejorando los resultados reproductivos, probablemente debido al mayor diámetro preovulatorio de sus folículos, que generan cuerpos lúteos más robustos, capaces de producir una mayor cantidad de progesterona, la cual será responsable del mantenimiento de la preñez al inicio de la gestación. De esta manera cabe al profesional la elección del protocolo hormonal más adecuado a la realidad del rebaño, visando el aumento de la productividad de leche y carne.

**Palabras clave:** reproducción animal, IATF, eCG.

### 1 INTRODUÇÃO

O rebanho bubalino brasileiro está estimado em 1,32 milhões de cabeças (1), apresentando um crescimento anual de aproximadamente 3,5% (2), superior ao dos bovinos (3), demonstrando a excelente capacidade de adaptação dessa espécie às condições ambientais do nosso país e também o significativo potencial de expansão dessa atividade.

No Brasil, os búfalos são criados para a produção de carne (4) e de leite (5). A produção nacional de leite de búfala supera 92 milhões de litros por ano, com destaque a região Sudeste do país que apresenta uma desenvolvida cadeia produtiva de leite e derivados (1), sendo um animal de fácil adaptabilidade às condições brasileiras apresentando bom desempenho produtivo e reprodutivo (6).

Considerando-se as peculiaridades reprodutivas das búfalas, tais quais o hábito sexual predominantemente noturno, cio silencioso, sazonalidade, e visando melhorar a fertilidade do rebanho bubalino, técnicas que permitam aumento na produção, e melhoras nas taxas reprodutivas devem ser estudadas, assim como ter um correto conhecimento do comportamento reprodutivo, da dinâmica folicular, foliculogênese, ovulação, luteogênese e luteólise, para assim aprimorar as ferramentas de biotecnologia nesta espécie (7, ).

A Inseminação artificial em tempo fixo (IATF), tem se mostrado uma técnica promissora na bubalinocultura. A utilização da gonadotrofina coriônica equina (eCG), junto aos protocolos hormonais de IATF mostram atualmente que além de permitir a inseminação artificial (IA) sem a observação de cio, possibilitando a reprodução durante a estação reprodutiva desfavorável (ERD), atingindo pico de produção de leite na entressafra, quando ocorre maior oferta de pastagem (2, 9-11).

O objetivo do presente trabalho é realizar uma revisão de literatura dando enfoque na importância da IATF tanto nos aspectos reprodutivos como produtivos na bubalinocultura.

## **2 DESENVOLVIMENTO DO ASSUNTO**

### **2.1 CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DAS BÚFALAS**

Búfalas são consideradas sazonais e a sua eficiência reprodutiva é geralmente afetada negativamente pelo aumento no número de horas de luz no dia (12). Esta estacionalidade é menos marcante quando mais próximo à linha do equador, sendo sua estação de monta concentrada entre os meses de março a julho na região sudeste do Brasil (13).

Nas búfalas-de-rio o comprimento médio de ciclo estral é de 21 dias (intervalo 18-24 dias), a duração média do estro é de 18 horas (intervalo de 5-36 h) e a ovulação ocorre 30 horas após o início do estro (intervalo de 18-45 h) (14).

O desenvolvimento dos folículos ovarianos pode ocorrer em uma, duas ou três ondas foliculares por ciclo estral, sendo mais comum a ocorrência em duas ondas. A quantidade de ondas foliculares por ciclo estral é associada com a fase luteal e tem influência sobre a sua duração (13, 15).

Em ciclos com duas ondas foliculares, o surgimento ocorre nos dias 1,1 e 11, já em ciclos de 3 ondas ocorre nos dias 0,7; 8,4 e 16,3. O folículo dominante (FD) alcança seu diâmetro máximo entre 8 e 10 dias (16). A primeira onda tem início no primeiro dia após a ovulação (dia 0 = ovulação), já a segunda onda surge nos dias 10,8 e 9,3 para os animais com 2 e 3 ondas por ciclo, respectivamente, e a terceira onda surge no dia 16,8 do ciclo (17).

O diâmetro do folículo dominante e subordinado no momento da divergência folicular é de  $7,2 \pm 0,3$  mm e  $6,4 \pm 0,3$  mm, respectivamente, obtendo capacidade ovulatória a partir de 8,5 mm de diâmetro (17). O folículo pré-ovulatório possui diâmetro máximo de  $15,5 \pm 1,6$  mm em animais com duas ondas foliculares e de  $13,4 \pm 1,3$  mm em animais com três ondas foliculares (13).

O pico de estradiol acompanha o desenvolvimento folicular, variando entre 7,2 pg/mL e 10,9 pg/mL. Este resultado demonstra que os bubalinos possuem baixas concentrações de estradiol durante o estro (18, 19).

A ovulação da búfala ocorre após o estro, este aspecto é muito importante para definir o tempo da IA, sendo que estas ovulam em média 17 horas após a aceitação de monta (7).

Após a ovulação forma-se o corpo lúteo (CL), e as concentrações plasmáticas de progesterona se elevam a partir do terceiro e quarto dia da luteogênese, atingindo um pico entre o oitavo e 12º dia. Em seguida, diminuem para concentrações basais antes do próximo estro, como resposta uterina a secreção prostaglandina F2 alfa (PGF2a) na ausência de um embrião viável no útero (20). Imagens de ultrassom indicam que um CL maduro apresenta entre 12 e 15 mm de diâmetro (21). A papila ovulatória do CL não sobressai muito além da superfície do ovário, o que torna mais difícil identificar por palpação retal (14). O CL atinge o seu crescimento máximo entre o 10º e 16º dias do ciclo (19). E a concentração de progesterona no leite é geralmente abaixo de 0,3 ng/mL durante a fase folicular do ciclo estral e varia de 1-4 ng/mL durante a fase lútea e prenhez (22).

A baixa concentração plasmática de estradiol nas búfalas pode ser o fator subjacente responsável pela manifestação do estro com sinais pouco evidentes nesta espécie (23). Sinais de estro como micção frequente, vocalização, inchaço vulvar, descarga de muco também são sinais de estro observados em búfalos-do-rio, mas a sua expressão é extremamente fraca, dificultando sua detecção (24).

Além da baixa expressão do estro das búfalas, estas possuem hábitos sexuais noturnos, com predominância de sinais clínicos de estro durante o período de 17:00 às 20:00 horas e 4:00 às 07:00 horas. Isto parece estar relacionado com um efeito inibitório da radiação solar e da temperatura ambiente sobre a expressão do estro (7).

A detecção de estro é um pré-requisito para um manejo reprodutivo eficiente, sendo essencial na aplicação da IA. Para compensar a dificuldade de se detectar os sinais de estro, este pode ser detectado com ajuda de rufiões, ou pode ser utilizada a IATF (25). A aceitação do macho é considerada o indicador mais confiável do estro em bubalinos.

Para melhorar a fertilidade em búfalos um conhecimento adequado sobre o comportamento reprodutivo é necessário (26). Mas não há dúvida de que as novas ferramentas de biotecnologia na reprodução são necessárias para superar a falta de produtividade. Para o estabelecimento de programas de sincronização de estro e superovulação em manadas de búfalos, o conhecimento sobre o comportamento cíclico do ovário na forma de desenvolvimento folicular e dinâmica é essencial. Ao contrário de bovinos, pouca atenção tem sido focada sobre estes temas em bubalinos (27).

## 2.2 IATF EM BÚFALAS

A IA, é a biotecnologia da reprodução mais utilizada nos animais domésticos, sendo esta de grande importância para a disseminação de material genético paterno de origem superior, sem a necessidade de manutenção de um touro reprodutor no rebanho e reduzindo-se a incidência de doenças reprodutivas (28). Esta biotécnica é utilizada na

bubalinocultura visando uma melhora quantitativa e qualitativa do rebanho, tanto para produção de carne como para produção de leite (29).

As primeiras pesquisas relacionadas a IA em búfalos realizadas no Brasil foram conduzidas por uma equipe da UNESP de Botucatu, lideradas pela Profa. Dra. Eunice Oba (30), introduzindo a técnica no meio científico, permitindo assim novos estudos e disseminação da mesma com consideráveis avanços desde então.

Apesar da grande vantagem da utilização da IA em búfalos, esta técnica possui dificuldades relacionadas a eficiência reprodutiva dos animais, que possuem uma maturidade sexual tardia, baixa expressão de estro, grande intervalo entre partos, anestro sazonal durante dias longos (31, 32), assim como duração do estro muito variável, dificultando a predição do momento da ovulação (33, 34).

A eficiência da IA em búfalos passou de 25% (35) para 50% (36) nos últimos anos, e os protocolos de maior sucesso envolvem a sincronização de ovulação e a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (37, 38), no entanto, alguns protocolos hormonais apresentam piores taxas de prenhez durante o período de anestro sazonal (39).

Para facilitar e aumentar o uso da IA, foram estudados esquemas de manejo que não requerem a identificação de estro, sendo propostos diferentes protocolos hormonais para aplicar na IATF (24). Os tratamentos hormonais desenvolvidos visam controlar as funções luteais e foliculares do ovário, possibilitando a sincronização do crescimento folicular e da ovulação, permitindo o emprego da IATF em búfalos (40-43). Esta técnica vem sendo utilizada com sucesso tanto na estação reprodutiva favorável (ERF) como na ERD (9, 38, 40, 42).

Os principais protocolos de IATF utilizados em búfalas são adaptados de protocolos para vacas leiteiras, utilizando principalmente GnRH, progesterona, estradiol, eCG, e prostaglandinas, no entanto apresentam taxas de prenhez inferiores (44), provavelmente devido ao maior intervalo de ovulação que ocorre nesta espécie (45).

Um dos protocolos mais comumente utilizados para sincronização do estro e IATF em búfalas leiteiras é o Ovsynch (46, 47). Este protocolo consiste na aplicação de GnRH no primeiro dia (D0), aplicação de PGF2 $\alpha$  7 dias após a primeira aplicação (D7), segunda aplicação de GnRH dois dias após (D9) e IA 16 horas após a segunda aplicação de GnRH. (48; 49). A primeira aplicação de GnRH irá promover a ovulação do FD presente, a aplicação de PGF2 $\alpha$  tem como objetivo a luteólise do CL oriundo da ovulação ocorrida, e a segunda aplicação de GnRH irá promover a ovulação do FD gerado pelo controle da onda folicular (42).

Diversas estratégias hormonais oriundas do protocolo Ovsynch foram estudadas, visando minimizar a proporção de animais em fases desfavoráveis do ciclo estral e aumentar o número de animais em fases favoráveis do ciclo estral para execução deste protocolo. Estas estratégias na sua maioria apresentam a desvantagem de necessitarem maior número de manejo para sua execução, algumas vezes apresentando taxas de ovulação e de prenhez inferiores (43, 50).

Cirit et al. (50) desenvolveram um novo protocolo de sincronização (Doublesynch) pela administração adicional de PGF2 $\alpha$  48 horas antes do programa Ovsynch. Este protocolo foi testado por Mirmahmoudi e Prakash (51) em animais na ERF e ERD obtendo-se taxas de prenhez após observação de cio seguida de IA de 58,1% e 27,3%, respectivamente.

O protocolo Heatsynch, onde é substituída a segunda aplicação de GnRH do protocolo Ovsynch por benzoato de estradiol (BE), apresentou taxas de prenhez semelhantes ao protocolo Ovsynch, mostrando que é possível a substituição da

aplicação de GnRH por BE durante a ERF (52). O protocolo Estradoublesynch, no qual se substitui a segunda aplicação de GnRH do protocolo Doublesynch por BE, foi pesquisado em búfalas Murrah, apresentando maior taxa de prenhez durante a ERF, provavelmente devido a maior liberação de LH após as induções de ovulação pelo menor envolvimento de progesterona durante o protocolo que ocorre devido ao acréscimo de uma aplicação de PGF2 $\alpha$  48 horas antes do início do protocolo (53).

Como o protocolo Ovsynch e suas derivações, apresentaram boas taxas de prenhez e de ovulação durante a ERF, porém isto não se repetiu durante a ERD, principalmente pela necessidade da presença de FD durante a primeira aplicação de GnRH para ser possível a indução e sincronização da ovulação nestes protocolos, o que não ocorre na ERD pelo anestro sazonal que as búfalas apresentaram nesta época, pesquisadores estudam protocolos de IATF baseados em P4 associados a E2 buscando melhores resultados durante a ERD (19).

A combinação de progesterona e estradiol no início do protocolo de IATF atua mantendo um feedback negativo sobre o eixo hipotálamo-hipófise. Esse feedback negativo restringe a liberação de gonadotrofinas. Quando o feedback negativo é retirado, há maior liberação reflexa destas gonadotrofinas resultando na indução de estro dentro de 2-5 dias (24).

Carvalho et al. (41) comparando o uso de implante vaginal de progesterona e implante auricular de norgestomed associados a E2, eCG, PGF2 $\alpha$  e GnRH, não encontraram diferença entre os grupos, obtendo-se, respectivamente, diâmetro do FD no dia 9 (9,8 $\pm$ 0,5 vs. 9,8 $\pm$ 0,4 mm), diâmetro do FPO (13,5 $\pm$ 0,5 mm vs. 14,0 $\pm$ 0,3 mm), intervalo entre a remoção dos dispositivos e a ovulação (71 $\pm$ 2,6h vs. 70,9 $\pm$ 2,6 h), taxa de ovulação (86,4% vs. 93,3%) e taxa de prenhez (46,4% vs. 49,6%). Evidenciando que ambas as fontes de P4 utilizadas são efetivas no bloqueio do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HHG).

Indutores de ovulação como GnRH e BE, foram utilizados durante protocolos de IATF para que um maior número de animais ovulasse em um curto intervalo de tempo, fazendo com que a observação de cio não fosse necessária para a realização da IA, observando que quando utilizado concentra as ovulações em um período de 12 horas contra 36 horas quando não utilizado (54). Comparando a aplicação do BE (24 e 36 horas após a retirada do implante de P4) e do GnRH (48 horas após a retirada do implante de P4) como indutores de ovulação, em protocolo à base de P4, PGF2 $\alpha$  e eCG na ERD Carvalho et al., (55) não encontraram diferenças significativas entre os grupos para o diâmetro do FPO (13.1  $\pm$  0.3 mm; 13.7  $\pm$  0.3 mm; e 13.7  $\pm$  0.3 mm, respectivamente), taxa de ovulação (78.7%, 82.0% e 84.1%, respectivamente), e taxas de prenhez (51.3%, 45.5% e 46.4%, respectivamente).

Os protocolos de sincronização à base de P4 são eficientes em búfalas cíclicas e durante a ERF. Na ERD ocorreu uma grande variabilidade na taxa de ovulação sendo mais difícil de se estabelecer um protocolo de IATF (24). Em um estudo de Moura (56), onde se avaliou o uso de implantes vaginais de P4 associados a BE, na ERD obteve-se baixa taxa de ovulação, de 10%. Com o objetivo de melhorar o resultado do tratamento, Porto Filho (57) acrescentou eCG ao protocolo e obteve taxa de ovulação de 70% no grupo tratado com eCG e de 44,4% no grupo não tratado.

A melhora observada com a adição da eCG em protocolos de IATF à base de P4 provavelmente deve-se ao fato desta possuir capacidade de ligar-se tanto a receptores de FSH como de LH, possuindo atividade folículo estimulante e luteinizante. O uso de 400 UI de eCG no momento da retirada do implante de P4 aumenta a taxa de ovulação e a taxa de prenhez em búfalas em anestro (9). Murugavel et al. (43) relataram uma maior taxa de ovulação em búfalas em anestro utilizando CIDR associado a eCG (81,0%) em

comparação com CIDR (47,4%), os autores sugerem que isto ocorreu pois as vacas em anestro têm liberação pulsátil de LH insuficiente para suportar os estádios finais do desenvolvimento folicular ovariano e da ovulação.

O principal protocolo utilizado na América Latina em búfalas durante o anestro sazonal consiste na inserção de um implante vaginal de P4 juntamente com a aplicação de 2 mg de BE no dia 0, a retirada deste implante de P4 no dia 9, simultaneamente a aplicação de PGF2a e 400 UI de eCG. No dia 11 é aplicado GnRH ou BE como indutor da ovulação, e a realização da IA no dia 12. (10, 40, 43).

Além do fator de sincronização, os protocolos de IATF em associação com tratamento com gonadotrofinas resultaram em aumento das taxas de concepção provavelmente devido ao aumento das concentrações plasmáticas de P4 durante o diestro precoce (58). Essa maior concentração de P4 em búfalas tratadas com eCG pode ser resultado do aumento no diâmetro do CL, alterações nos mecanismos celulares envolvidos na síntese de P4 luteal ou uma combinação destes fatores (10). Da mesma maneira o diâmetro do FPO é importante nos protocolos de IATF, uma vez que este está diretamente relacionado ao tamanho do CL subsequente em búfalos e bovinos, sendo que um CL de maior diâmetro deve secretar maior quantidade de P4, o que aumenta a probabilidade de manter a prenhez, melhorando a fertilidade (10, 59).

Baixas concentrações plasmáticas de P4 podem estar relacionadas a piores taxas de prenhez após a IATF. A importância da P4 inicia-se ao inibir a síntese de PGF2a entre 15 e 17 dias após a IA, para promover o alongamento do embrião entre 10 e 15 dias após a IA, e estabelecer a pré-fixação entre 17 a 24 dias após o cio (60). Portanto, estratégias que elevam as concentrações de P4 durante esses períodos são desejadas.

### **3 CONCLUSÃO**

Conclui-se que a fisiologia reprodutiva das búfalas deve ser respeitada na utilização de biotecnologias, cabendo ao profissional a escolha do protocolo hormonal de IATF adequado, respeitando a realidade do rebanho e o objetivo de sua implantação, visando a melhoria genética e o aumento da produtividade de leite e carne.

### **REFERÊNCIAS**

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Pecuária Municipal: Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 04 julho 2017.
2. Bernardes O. Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. Rev Bras Reprod. 2007; 31:293-8.
3. Malhado CHM, Ramos AA, Carneiro PLS, Souza JC, Piccinin A. Parâmetros e tendências da produção de leite em bubalinos da raça Murrah no Brasil. R Bras Zootec. 2007;36:376-9.
4. Mariante AS, Mcmanus C, Mendonça JF. Country report on the state of animal genetic resources. Embrapa Genetic. 2003;1:121-3.
5. Jorge AM, Andrighetto C, Millien DC, Calixto MG, Vargas ADF. Desempenho e eficiência biológica de bubalinos de três grupos genéticos terminados em



- confinamento e abatidos em diferentes estádios de maturidade. *R Bras Zootec.* 2006;35:252-7.
6. Baruselli PS, Carvalho NAT. Reproduction Management and artificial insemination in buffalo. In: *Proceedings of 1 Buffalo Symposium of Americas; 2002, Belém, PA; 2002.* p.119-143.
  7. Vale WG. *Bubalinos: fisiologia e patologia da reprodução.* Campinas: Fundação Cargil;1988.
  8. Oba E, Souza MIL. Avanços na reprodução de bovinos e bubalinos. Contribuição ao estudo dos bubalinos: período de 1972-2001: palestras. Botucatu: FMVZ/UNESP; 2003.
  9. Baruselli, PS, Carvalho NAT, Henriquez CHP, Amaral R, Nichi M. Synchronization of ovulation for timed artificial insemination during the off breeding season in the buffalo. In: *Proceedings of 1 Buffalo Symposium of Americas; 2002, Belém, PA; 2002.* p. 418-420.
  10. Carvalho NAT, Soares JG, Porto Filho RM, Gimenes LU, Souza DC, Nichi M, Sales JS, Baruselli PS. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a timed artificial insemination protocol in buffalo during the nonbreeding season. *Theriogenology.* 2013;32:423-8.
  11. Gerdes, L, Werner JC, Colozza MT, Carvalho DD, De Schammas EA. Avaliação de características agronômicas e morfológicas das gramíneas forrageiras Marandu, Setária e Tanzânia aos 35 dias de crescimento nas estações do ano. *R Bras Zootec.* 2000;29:947-54.
  12. Bittman EL, Karsch FJ. Nightly duration of pineal melatonin secretion determines the reproductive response to inhibitory day lengths in the ewe. *Biol Reprod.* 1984;30:585-93.
  13. Baruselli PS, Mucciolo RG, Visintin JA, Viana WG, Arruda RP, Madureira EH, Oliveira CA, Molero Filho JR. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology.* 1997;47:1531-47.
  14. Drost M. Bubaline versus bovine reproduction. *Theriogenology.* 2007;68:447-49.
  15. Taneja M, Ali A, Singh G. Ovarian follicular dynamics in water buffalo. *Theriogenology.* 1996;46:121-30.
  16. Barkawi AH, Hafez YM, Ibrahim SA, Ashour G, El-Asheeri AK, Ghanem N. Characteristics of ovarian follicular dynamics throughout the estrous cycle of Egyptian buffaloes. *Anim Reprod Sci.* 2009;110:326-34.
  17. Gimenes LU, Sá Filho MF, Carvalho NAT, Vanucci FS, Reichert RH, Sartorelli ES, Barros CM, Baruselli P.S. Ultrasonographic and endocrine aspects of follicle deviation, and acquisition of ovulatory capacity in buffalo (*Bubalus bubalis*) heifers. *Anim Reprod Sci.* 2011;123:175-9.

18. Santiago CA, Voge JL, Aad PY, Allen DT, Stein DR, Malayer JR, Spicer LJ. Pregnancy associated plasma-protein A and insulin like growth factor binding protein mRNA's in granulosa cells of dominant and subordinate follicles of preovulatory cattle. *Domest Anim Endocrinol*. 2005;28:46-63.
19. Vale WG. Reproducción en hembras bufalinas: inseminación artificial y reproducción asistida. *Tecnol Marcha*. 2011;24:5-18.
20. Fitz TA, Mayan MH, Sawyer HR, Niswender GD. Characterization of two steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum. *Biol Reprod*. 1982;27:703-11.
21. Brito LF, Satrapa R, Marson EP, Kastelic JP. Efficacy of PGF(2alpha) to synchronize estrus in water buffalo cows (*Bubalus bubalis*) is dependent upon plasma progesterone concentration, corpus luteum size and ovarian follicular status before treatment. *Anim Reprod Sci* 2002;73:23-35.
22. Roy KS, Prakash BS. Plasma progesterone, oestradiol-17 and total oestrogen profiles in relation to oestrous behaviour during induced ovulation in Murrah buffalo heifers. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2009;93:486-95.
23. Varughese EE, Brar PS, Honparkhe M, Ghuman SPS. Correlation of Blood Flow of the Preovulatory Follicle to its Diameter and Endocrine Profile in Dairy Buffalo *Reprod Domest Anim*. 2014;49:140-4.
24. Barile VL. Technologies related with the artificial insemination in buffalo. *J. Buff. Sci*. 2012;1:139-46.
25. Drost M, Cripe WS, Richter AR. Oestrus detection in buffaloes (*Bubalus bubalis*): use of an androgenized female. *Buffalo Bull*. 1985;1:159-61.
26. Glatzel PS, Ali A, Gilles M, Fidelak C. Follicular development during four stages of the oestrous cycle of beef cattle. *J Anim Sci*. 2000;49:1261-9.
27. Ali A, Abdel-Razek AK, Bdel-Ghaffar AS, Glatzel PS. Ovarian Follicular Dynamics in Buffalo Cows (*Bubalus bubalis*). *Reprod Domest Anim*. 2003;38:214-8.
28. Baruselli PS, Soares JG, Gimenes LU, Monteiro BM, Olazarri MJ, Carvalho NAT. Control of Buffalo Follicular Dynamics for Artificial Insemination, Superovulation and *In Vitro* Embryo Production. *Buffalo Bull*. 2013;32:160-76.
29. Singh I, Balhara AK. New approaches in buffalo artificial insemination programs with special reference to India. *Theriogenology*. 2016;86:194-9.
30. Oba, E. Tópicos atualizados ligados à reprodução na espécie bubalina. In: *Sanidade e Produtividade em Búfalos*. Ed. Por Juan Molero Filho e col. Jaboticabal, FUNEP. 1993. p.202. 1993.

31. Jainudeen MR, Hafez ESE. Cattle and buffalo. In: Hafez ESE, editor. *Reproduction in farm animals*. 6th ed., Philadelphia: Lea and Febiger. 1993. p.315-29.
32. Singh J, Nanda AS, Adams GP. The reproductive pattern and efficiency of female buffaloes. *Anim Reprod Sci*. 2000;61:593-604.
33. Ohashi OM. Estrous detection in buffalo cow. *Buffalo J*. 1994;10:61-4.
34. Baruselli PS, Bernandes O, Barufi FB, Braga D, Araujo D, Tonathi H. Calving distribution throughout the year in buffalo raised all over Brazil. In: *Proceedings of the 6th World Buffalo Congress; Book of the Congress; Maracaibo, Venezuela; 2004*.p. 234-40.
35. Zicarelli L. Reproductive seasonality in buffalo. In: *Proceedings, Third Course on Biotechnology of Reproduction in Buffaloes, Caserta, Italy. October 6–10;1997*. p. 29-52.
36. Campanile G, Gasparri B, Vecchio D, Neglia G, Senatore EM, Bella A. Pregnancy rates following AI with sexed semen in Mediterranean Italian buffalo heifers (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*. 2011;76:500-6.
37. Neglia G, Natale A, Esposito G, Salzillo F, Adinolfi L, Campanile G. Effect of prostaglandin F2a at the time of AI on progesterone levels and pregnancy rate in synchronized Italian Mediterranean buffaloes. *Theriogenology*. 2008;69:953-60.
38. Vecchio D, Rossi P, Neglia G, Longobardi V, Salzano A, Bifulco G. Comparison of two synchronization protocols for timed artificial insemination in acyclic Italian Mediterranean Buffalo cows out of the breeding season. In: *Proceedings of the 10th World Buffalo Congress, Phuket Thailand. May 6-8; 2013*. p. 42.
39. Russo M, Vecchio D, Neglia G, Pacelli C, Prandi A, Gasparri B. Corpus luteum function and pregnancy outcome in buffaloes during the transition period from breeding to non-breeding season. *Reprod Domest Anim*. 2010;45:988-91.
40. Baruselli PS, Carvalho NAT, Gimenes LU, Crepaldi GA, Fixed-time artificial insemination in buffalo. *Ital J Anim Sci*. 2007;6:107-18.
41. Carvalho NAT, Soares JG, Reis EL, Vannucci FS, Sales JNS, Baruselli PS. Use of Different Progestagens for Ovulation Synchronization and TAI in Buffaloes during the Non Breeding Season. *Buffalo Bull*. 2013;32:527-31.
42. De Rensis F, Ronci G, Guarneri P, Nguyen BX, Presicce GA, Huszenicza G. Conception rate after fixed time insemination following ovsynch protocol with and without progesterone supplementation in cyclic and non-cyclic Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*. 2005;63:1824-31.
43. Murugavel K, Antoine D, Raju MS, López-Gatius F. The effect of addition of equine chorionic gonadotropin to a progesterone-based estrous synchronization

protocol in buffaloes (*Bubalus bubalis*) under tropical conditions. *Theriogenology* 2009;71:1120-6.

44. Kumar PR, Singh SK, Kharche SD, Govindaraju CS, Behera BK, Shukla SN, Kumar H, Agarwal SK. Anestrus in cattle and buffalo: Indian perspective. *Advance in Animal and Veterinary Science*. 2014;2:124-38.
45. Barkawi AK, Bedeir LH, EL Wardani MA. Sexual behavior of Egyptian buffaloes in post-partum period. *Buffalo J*. 1993;9:225-36.
46. Rossi P, Vecchio D, Neglia G, Di Palo R, Gasparrini B, D'occhio MJ. Seasonal fluctuations in the response of Italian Mediterranean buffaloes to synchronization of ovulation and timed artificial insemination. *Theriogenology*. 2014;82:132-7.
47. Campanile G, Neglia G, D'occhio MJ. Embryonic and foetal loss in River buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*. 2016;86:207-13.
48. Berber RCA, Madureira EH, Baruselli PS. Comparison of two ovsynch protocols (GnRH vs. LH) for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*. 2002;57:1421-30.
49. Baruselli PS, Madureira EH, Barnabe VH, Barnabe RC, Berber RCA. Evaluation of synchronization of ovulation for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Braz. J Vet Res Anim Sci*. 2003;40:431-42.
50. Cirit Ü, Ak K, Ileri IK. New strategies to improve the efficiency of the Ovsynch protocol in primiparous dairy cows. *B Vet I Pulawy*. 2007;51:47-51.
51. Mirmahmoudi R, Prakash BS. The endocrine changes, timing of ovulation and efficacy of the Doublesynch protocol in the Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Gen Comp Endocr*. 2012;177:153-9.
52. Mohan K, Sarkar M, Prakash BS. Efficiency of Heatsynch protocol in estrus synchronization, ovulation and conception of dairy buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Asian-Austral J Anim Sc*. 2009;22:774-80.
53. Mirmahmoudi R, Souri M, Prakash BS. Comparison of endocrine changes, timing of ovulations, ovarian follicular growth, and efficacy associated with Estradoublesynch and Heatsynch protocols in Murrah buffalo cows (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*. 2014;82:1012-20.
54. Haider MS, Hassan M, Khan AS, Husnain A, Bilal M, Pursley JR, AHMAD N. Effect of timing of insemination after CIDR removal with or without GnRH on pregnancy rates in Nili-Ravi buffalo. *Anim Reprod Sci*. 2015;163:24-9.
55. Carvalho NAT, Soares JG, Souza DC, Maio JRG, Sales JNS, Martins BJ. Ovulation synchronization with EB or GnRH in buffalo TAI during the non breeding season. *Anim Reprod*. 2012;9:523.
56. Moura AJDR. Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de

progesterona (CID-R®) associado a estrógeno e prostaglandina F<sub>2</sub> α em búfalas (*Bubalus bubalis*) tratadas em estações reprodutivas distintas [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

57. Porto Filho RM. Sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) durante estação reprodutiva desfavorável em fêmeas bubalinas [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2004.
58. Sales JN, Carvalho JB, Crepaldi GA, Cipriano RS, Jacomini JO, Maio JR, Souza JC, Nogueira GP, Baruselli PS. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*. 2012;78:510-6.
59. Monteiro BM, Souza DC, Vasconcellos GSFM, Corrêa TB, Vecchio D, Sá Filho MF. Ovarian responses of dairy buffalo cows to timed artificial insemination protocol, using new or used progesterone devices, during the breeding season (autumn–winter). *Anim Sci J*. 2016;87:13-20.
60. Campanile G, Neglia G. Embryonic mortality in buffalo cows. *Ital J Anim Sci*. 2010;6:119-29.

## INSENSIBILIZAÇÃO NO ABATE DE BOVINOS DE CORTE

Ana Paula Araújo Moreira<sup>1</sup>  
Elaine Regina Vasconcelos de Oliveira<sup>2</sup>  
Luiz Gustavo Bicas Barbosa<sup>1</sup>  
Marina Testa de Moura Carvalho<sup>1</sup>  
Leticia Sorregot de Souza<sup>1</sup>  
Carolina Toledo dos Santos<sup>3</sup>  
Roberto de Oliveira Roça<sup>3</sup>

### RESUMO

Nos dias atuais, há uma grande preocupação com o bem-estar animal provindo do consumidor que procura informações sobre o produto consumido. Além disso, é necessário garantir condições dignas aos animais assegurando-lhes um abate indolor e sem sofrimento, fazendo necessário um investimento em mão de obra capacitada e treinamento. A insensibilização é um dos pontos importantes na cadeia de um abate por influenciar diretamente na qualidade final do produto e do bem-estar animal. Para uma boa insensibilização é necessária mão de obra capacitada e treinada além de uma infraestrutura que cumpra com as normas exigidas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portanto, essa revisão tem como objetivo reunir informações sobre o bem-estar, instalações no frigorífico e de um método de insensibilização bem-sucedida visando mostrar a importância deste contexto para uma carne de qualidade.

**Palavras chave:** Abate humanitário, bovinos, bem-estar animal.

### INSENSIBILIZATION IN SLAUGHTER OF LIVESTOCK

#### ABSTRACT

Nowadays, there is great concern about the welfare of the consumer. Stemmed animal increasingly demand information about the product consumed. Moreover, it is necessary to ensure decent conditions for animals assuring them a painless and painlessly slaughter for this should be an investment in skilled labor and training. The desensitization is an important point in the chain of a slaughter for influencing the final quality of the product and animal welfare. For good desensitization is necessary skilled labor and trained as well as an infrastructure that meets the standards required by the Ministry of Agriculture. Therefore, this review aims to gather current information published on welfare, build of slaughterhouse and a successful desensitization order to show the importance of such matters in the current market standard.

**Key words:** animal welfare, humanitarian slaughter, cattle.

---

<sup>1</sup>Zootecnista autônomo.

<sup>2</sup>Programa de graduação em Medicina Veterinária FSP – Faculdade do Sudoeste Paulista. Correspondência: elainervasconcelos@hotmail.com

<sup>3</sup>Departamento de Economia, Sociologia e Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrônomicas - Unesp/Campus de Botucatu.

## INSENSIBILIZACIÓN EN EL ABATE DE BOVINOS DE CORTE

### RESUMEN

En los días actuales, hay una gran preocupación por el bienestar animal proveniente del consumidor que busca información sobre el producto consumido. Además, es necesario garantizar condiciones dignas a los animales asegurándoles un sacrificio indoloro y sin sufrimiento, haciendo necesario una inversión en mano de obra capacitada y entrenamiento. La insensibilización es uno de los puntos importantes en la cadena de un sacrificio por influir directamente en la calidad final del producto y del bienestar animal. Para una buena insensibilización es necesario mano de obra capacitada y entrenada además de una infraestructura que cumpla con las normas exigidas por el Ministerio de Agricultura Pecuaria y Abastecimiento. Por lo tanto, esta revisión tiene como objetivo reunir informaciones sobre el bienestar, instalaciones en el frigorífico y un método de insensibilización exitosa para mostrar la importancia de este contexto para una carne de calidad.

**Palabras clave:** Abate humanitario, bovinos, bienestar animal.

### 1. INTRODUÇÃO

O Brasil tem o segundo maior rebanho bovino do mundo e é classificado economicamente como primeiro exportador, sendo que essas informações implicam em um aumento no PIB, devido à grande movimentação de capital por essa parte da pecuária (1).

A cadeia de produção bovina de corte tem como objetivo principal a carne para alimentação humana, e fornecer matéria-prima para outras indústrias, como a farmacêutica, cosmetologia, calçados, roupas, ração, higiene e limpeza (2,3).

O manejo racional dos animais garante uma carne de qualidade evitando o aparecimento de carnes que não atendam as características exigidas pelo mercado, o que excluiria a possibilidade de explorar uma carne de qualidade que atribuiria maior retorno financeiro (4).

A conscientização da importância de um manejo tranquilo e com respeito é fundamental em todos os eventos que ocorrem antes do abate do animal. O manejo pré-abate, este inicia-se no embarque dos animais na propriedade e termina com a entrada deste na sala de abate do frigorífico (5).

A consequência de uma manipulação sem assegurar o bem-estar do animal é o estresse no organismo animal, muitas vezes provocando hematomas e contusões e como consequência piora nas características da carne. Quando os eventos deste período são bem orientados, pode-se assegurar o bem-estar do animal reduzindo prejuízos na cadeia de produção (6).

Na fase do transporte é necessário avaliar a densidade do caminhão e realizar o acompanhamento deste durante a viagem, verificando o tempo até o abatedouro, às condições ambientais do dia e da rodovia. Após o desembarque é fundamental que haja um curral de espera para que os animais se acalmem e descansem até as próximas etapas (7). Posteriormente a esse descanso, o animal é conduzido para o e de atordoamento, onde ocorrerá uma insensibilização, para que não haja dor na hora do abate, a movimentação da sala de espera até o box de contenção também exige cuidados com o bem-estar para não causar agitação no animal (8).

O manejo pré-abate é corretamente realizado quando não utilizam choques, varetas, ferrões, pedaços de pau ou qualquer outro material pontiagudo que possa machucar os animais e comprometer a carcaça, para auxiliar na movimentação dos animais é recomendado o uso de bandeiras, tábuas ou chocalhos e sem qualquer tipo de agressão (9).

Também é importante considerar bem-estar do operador para que este trabalhe sob condições dignas, sem fadiga, com acesso a água e períodos de descanso, permitindo a eficácia do trabalho (10). Dentre estas condições, podemos destacar a Norma regulamentadora número 36, que abrange a segurança e saúde no trabalho em empresas de abate e processamento de carne e derivados, que tem como objetivo estabelecer os requisitos mínimos para avaliação, controle e monitoramento dos riscos existentes nas atividades desenvolvidas na indústria de abate e processamento de carnes e derivados destinados ao consumo humano, de forma a garantir permanentemente a segurança, a saúde e a qualidade de vida no trabalho (11).

## **2. O BEM-ESTAR ANIMAL**

O bem-estar animal se refere às condições dos animais no qual se encontram dentro das cinco liberdades. Os animais precisam estar livres de fome e sede, com acesso a água fresca e limpa e dieta que garanta a saúde dos mesmos, livres de desconforto, em uma estrutura que lhes garanta abrigo e conforto (12).

Devem também estar livres de dor e doenças, cuidados de maneira preventiva e com auxílio técnico e/ou tratamento, livres de medo e estresse, uma vez garantido suas condições e tratamento evitam-se sofrimentos mentais e com liberdade para expressar seu comportamento ambiental, possuindo o espaço suficiente, condições de abrigo apropriado e companhia de animais da mesma espécie. Sendo assim, caracterizado por um estado no qual o animal irá se adaptar podendo ou não cumprir suas necessidades fisiológicas e comportamentais (12).

O bem-estar animal deve ser empregado durante todo manejo do animal, dos cuidados com a mãe, com o recém-nascido, crescimento e no manejo pré-abate. Para evitar situações estressantes é fundamental o investimento em treinamento, com pessoas capacitadas e comprometidas, além da fiscalização para comprovar que as técnicas serão empregadas da forma correta (10).

Hoje em dia, há uma grande preocupação do consumidor em relação ao produto e ao abate, deve-se respeitar o animal e as regras de abate para garantir a qualidade do produto e suprir as exigências do consumidor (6).

Podemos citar programas de bem estar animal implementados redor do mundo como a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (13), Programa Nacional de Abate Humanitário (STEPS), Humane Farm Animal Care (14), Advanced Concepts in Animal Welfare (15), além das recentes pesquisas sobre o manejo e currais anti estresse, que considera o comportamento natural do animal na criação de um curral que atenda às necessidades da minimização do estresse do animal antes do abate, facilite o trabalho e, assim, melhore consideravelmente a qualidade da carne, mostrando a preocupação atual com o bem-estar animal na produção (6,16).

## **3. FRIGORÍFICO**

Segundo Costa e Silva (8), o conceito de abate humanitário inicia-se no embarque do animal da propriedade, até a operação de sangria no frigorífico, seguindo procedimentos técnicos e científicos que garantem o bem-estar.



O Ministério da Agricultura tem leis específicas para o manejo sanitário que rege a vida toda do animal (do nascimento até o abate). O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de produtos de origem animal possui um decreto que prevê normas de inspeção industrial em cada etapa de produção. E regulamenta fiscalizações nas mesmas (10,17).

Segundo o Steps (10), para cumprir a qualidade ética no manejo pré-abate devem ser utilizados métodos de manejo pré abate e instalações que reduzam o estresse, além de uma equipe treinada e capacitada, comprometida, atenta e cuidadosa no manejo de bovinos e equipamentos apropriados, com manutenção periódica a serem utilizados devidamente ajustados a espécie e situação e o processo eficaz de insensibilização que induza imediata perda da consciência e sensibilidade de modo que não haja recuperação e, conseqüentemente não haja sofrimento até a morte do animal.

O manejo pré-abate é movido por 3 elementos, sendo eles, animais, pessoas e instalações. A ação humana não pode apresentar comportamento aversivo, isso aumenta o medo dos animais por humanos e gera estresse durante o processo o que dificulta o procedimento, interferindo no produto final (18).

O abate humanitário é definido no embarque, transporte, sendo esse a fase mais estressante do manejo, devido à exposição do animal as condições de clima, asfalto, tempo de viagem, a mistura de lotes e a densidade dentro do caminhão, até a sangria no matadouro (19,20).

Alguns pontos podem ser observados, pois a criação do animal na sua propriedade de origem e sua genética são fatores que influenciam no comportamento e determinam qual o manejo mais adequado para os condutores, visto que, no frigorífico tem-se animais de muitas origens, podendo variar a reação de tais durante a condução sendo necessária a boa observação do funcionário para detectar os níveis de agitação ou calmaria nos animais (10).

Quando os caminhões chegam ao frigorífico, o desembarque deve ser imediato e se não for possível devem ficar em uma área coberta e ventilada para evitar estresse térmico dos animais. Ao desembarcarem os animais são encaminhados para o curral de espera, que deve ter água disponível e algumas plantas frigoríficas possuem aspersão e sombreamento (21).

O desembarque e a condução devem ser feitos de forma não agressiva utilizando estímulos sonoros como chocalho, voz e bandeira. No caso do bastão elétrico, que é somente permitido caso o animal se recuse a andar, deve ser utilizado em último caso, devido ao estresse e a dor ocasionada pelo aparelho. Este deve ser posicionado apenas nos quartos traseiros e acima do jarrete em um tempo máximo de 1 segundo, por uma única vez (8).

Os manejos pré-abate são estressantes para o animal, por isso existe a área de descanso no frigorífico, para recuperação física e mental do animal e completar o tempo de jejum alimentar, que deve ser de no mínimo 24h, isso determina o período no qual os animais vão permanecer na área de descanso (17).

De acordo com o Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA, todos os currais devem dispor de bebedouros de nível constante, construído em alvenaria e aprovados pelo departamento de inspeção de produtos de origem animal (17).

O tempo de espera pode causar alterações de comportamento, que são diretamente ligadas ao estresse. Quando o animal chega ao frigorífico, existe grande curiosidade por parte deste, visto que, é um ambiente novo e estimulante (22).

#### **4. INSTALAÇÕES**

De acordo com o DIPOA as instalações do frigorífico devem suprir as necessidades de bem-estar dos animais, de seus trabalhadores e ambiente. Assim como outros fatores no manejo pré-abate, as instalações visam conforto e bem-estar aos animais, reduzindo angústia e dor, além de facilitar e garantir segurança no trabalho (17,23).

No frigorífico, como já citado são necessários cuidados com desembarcadouro, currais, cercas, bebedouros, iluminação, rodolúvio e pedilúvio, seringa, banheiro de aspersão, box de insensibilização, uso e tratamento da água e do esgoto (17,24).

O desembarcadouro necessita de cercas metálicas, alvenaria ou de madeira, piso antiderrapante e com declive máximo de 25°, os currais espaçamento adequado, o piso deve ser plano e antiderrapante, declive mínimo, para facilitar a higienização e desinfecção, todos os currais devem ter bebedouros com água fresca e suficiente disponível, todos os materiais utilizados nas instalações devem ser de fácil higienização e sem apresentar riscos de ferimento ao animal (17,24).

Antes da insensibilização os animais devem passar por um banho de aspersão localizado na seringa, logo antes da contenção, não pode ter aclive acentuado e devem passar pelo o pedilúvio, reduzindo a quantidade de contaminantes (25). A seringa deve ser feita de alvenaria com paredes revestidas de cimento liso, sem bordas ou extremidades salientes que possam ferir os animais (17,24). Os animais devem permanecer dentro do box de atordoamento por no máximo 1 minuto contando desde a insensibilização até a sangria (26).

O box de insensibilização, deve ser preferivelmente inteiramente metálico, permitindo-se também a construção por concreto armado de superfície lisa e partes metálicas moveis, sendo proibido o uso de madeira e box dentro da sala de abate. Os boxes deverão ser individuais com comprimento total de 2,4 m a 2,7 m de largura interna de 0,8 a 0,95m (máximo) e altura total de 3,4m. Caso o animal caia, se machuque e não consiga se locomover, a insensibilização deverá ser feita no local, onde o mesmo se encontra (17).

Para realização de uma contenção eficiente é necessária à imobilização do animal para garantir que o disparo seja efetuado na posição correta. Para isso existe o box com a contenção de cabeça, que assegura bem-estar, impedindo que o animal faça grandes movimentos, e eleva a cabeça para manejo do operador, o que garante o disparo correto da pistola (27).

## 5. INSENSIBILIZAÇÃO

Após os cuidados com desembarque e higiene, o animal é encaminhado para o box de atordoamento, onde deve permanecer tempo suficiente para a insensibilização, de forma a evitar a agitação dos animais causando desconforto e estresse (26).

Os métodos de insensibilização para abate humanitário no Brasil, regulamentados pela Instrução Normativa nº 3 (28), classificam-se em: Métodos mecânicos (concussão) classificam-se em:

- Percussivo penetrativo: realizado com pistola de dardo cativo, acionado por ar comprimido (pneumáticas) ou cartucho de explosão;

- Percussivo não-penetrativo: apenas realizado por pistolas de dardos de percussão, que causam a concussão com o impacto, sem a penetração do dardo no crânio do animal.

As respostas após o uso do dardo cativo ou de percussão são a queda imediata do animal, respiração rítmica ausente, espasmos musculares nas pernas e nos músculos

traseiros, expressão fixa e virada sem reação no globo ocular e sem nenhuma vocalização, caso alguma dessas características não ocorrer, é necessário um novo disparo. O disparo deve ser feito 40s após a entrada do animal no box, a regulação varia de acordo com o fabricante, porém nunca deve ser regulada abaixo de 165 libras (21,8).

Segundo Roça (19), no Brasil o método mais utilizado é a pistola com embolo penetrante que causa uma grave laceração encefálica e promove inconsciência rápida.

Quando os bovinos são insensibilizados utilizando pistola de dardo cativo penetrante, o dardo atinge a superfície frontal do crânio, e dependendo da região atingida o animal pode se recuperar, por isso a necessidade da sangria logo em seguida a insensibilização (8).

Existe a possibilidade de uma insensibilização sem sucesso. Podemos verificar isso através de sinais do animal, como rotação dos olhos, presença de pedalagem, vocalização, respiração rítmica presente. A falta de eficiência pode ser notada na maioria das vezes antes da sangria, sendo necessário um novo disparo. Quando a percepção acontece após a sangria, é necessário observar a protrusão da língua, no animal içado, que deve estar relaxada. Caso esta não esteja, é sinal de possível retorno de sensibilidade (8). Segundo Grandin (29), os principais reflexos a serem observados são: respiração rítmica, reflexo da córnea e da pálpebra, juntos. Porém o maior indicativo é a presença do reflexo da córnea que o animal pode estar sensível, pois este reflexo é um dos primeiros a cessar quando o atordoamento é bem feito e o primeiro a aparecer quando o animal recobra ou não perde a consciência.

Grande parte da falha do processo é devido à má regulação da pistola. Para a correção, é sempre necessário fazer a calibragem e limpeza da pistola para manter sua eficácia durante o serviço (30).

A capacitação do profissional tem papel fundamental no sucesso da insensibilização, <sup>6</sup> cita uma melhoria após o treinamento do pessoal em relação ao uso da pistola, reduzindo inclusive o tempo entre insensibilização e sangria para menos de 1 minuto. O maior fator negativo para a insensibilização é o bem-estar do próprio funcionário, no qual transfere sua frustração para o animal (9).

## **6. CAPACITAÇÃO PROFISSIONAL**

Um profissional que não realiza o manejo corretamente pode prejudicar toda a cadeia produtiva e prejudicar a qualidade da carne, sendo que os cuidados com o manejo iniciam no nascimento do animal até o abate. O treinamento do funcionário é fundamental para obter um produto final de qualidade e garantir o bem-estar dos animais. O ambiente de trabalho também faz parte da capacitação, devido à dificuldade de operar sob condições adversas de ambiente, sem água e comida, com sol quente, sem ventilação e sem descanso. Portanto é necessário um investimento na estrutura e na mão de obra para garantir o bem-estar humano e animal e visando a qualidade do produto final (10).

A falta de treinamento, capacitação e sensibilização dos operários são fatores que influenciam no manejo pré-abate podendo este ser mal efetuado, a busca pela capacitação dos funcionários dos frigoríficos e parceiros que participam em todos os processos e elos da cadeia produtiva. Deve ser visto como um investimento (21).

Costa e Silva (8) cita o código sanitário para animais terrestre, no qual diz que o manejo de embarque, transporte e desembarque deve ser feito por operadores com experiência e conhecimento do comportamento animal e também afirmam que quando tomada a decisão de transportar animais por via terrestre. O bem-estar é uma questão

primordial e de responsabilidade das pessoas que participam das operações de transporte.

A capacitação para assegurar bem-estar animal depende de quatro elementos: a educação, para ter consciência do bem-estar e sua importância na produção animal, o compromisso, para conseguir ter a participação de todos que estão trabalhando, o treinamento em procedimentos específicos e a comunicação entre diferentes organizações interessadas e preocupadas com o bem-estar (13).

Segundo Leite (6), nesta pesquisa foi testado uma insensibilização com pessoal não treinado e após o treinamento seu trabalho apresentou que é possível obter melhores resultados na insensibilização com pessoal capacitado e bem treinado.

Petrolini (9) detalha que a prática de treinamento não deve somente depender de apresentar boas práticas aos funcionários e sim conscientizar sobre qual o benefício daquele procedimento e como essa conduta afeta diretamente na qualidade da carne. Proporcionar ao funcionário condições de trabalho humanitárias é a chave do sucesso para um programa de bem-estar.

Ainda ressaltando, valorizar o trabalho do operador, tratando-o de igual para igual, pois ele é um administrador de animais e ajuda na determinação a produção e o bem-estar.

## 7. PESQUISAS ATUAIS

Aiolfi (31) fez uma pesquisa em um frigorífico municipal na região do Paraná e descreveu todos os procedimentos desde a inspeção *ante-mortem* até procedimentos higiênicos sanitários e concluiu que a qualidade da carne que chega ao consumidor, sofre grandes influências do manejo até a forma como é efetuado o abate.

No estudo de Bertoloni (7), foi analisado o bem-estar e taxas de hematomas em 3415 bovinos nelores transportados em três diferentes tipos de carretas (tipo *truck*, carreta baixa e *double deck*) e diferentes distâncias. Como resultado verificaram que o caminhão tipo *truck* e carreta baixa apresentaram melhores resultados, a partir disso pode-se dizer que são necessárias novas pesquisas para analisar a capacitação de funcionários na eficácia desses tratamentos.

Bertoloni & Andreolla (27) realizaram uma pesquisa verificando a eficácia do box de contenção mecânico no atordoamento de bovinos, analisando 800 animais machos, atordoados com pistola pneumática em dois sistemas de contenção (automatizado e mecânico) e concluíram que o box automatizado apresentou maior bem-estar e maior eficácia na contenção e insensibilização dos bovinos devido ao menor uso de disparos.

Costa (22) analisou dois tempos de espera nos currais de frigoríficos no bem-estar e na qualidade da carne no Uruguai, foram utilizados 30 novilhos, um tratamento foi de 3 horas e o outro de 12 horas, a conclusão a partir dos 2 tempos de espera foi que a qualidade da carne não foi alterada, porém o bem-estar do grupo de menor tempo de espera não foi explorado, devido pouco tempo para descanso.

Roça (19) avaliou diferentes tempos de jejum pré-abate e qual sua reatividade nos bovinos, indicadores de estresse e a influência final na carne, utilizando 33 novilhos, classificando a reatividade numa escala de 0 a 5, sendo 0 o menos reativo e 5 o mais reativo, e separados em 4 períodos diferentes de jejum. Os animais menos reativos apresentaram melhores características de maciez, coloração e PH da carne, já o jejum não influenciou características na qualidade da carne.

Leite (6) examinou a influência do manejo pré-abate de bovinos na indústria sobre os parâmetros de bem estar animal e os impactos no pH 24h pós morte, a partir de 320 fêmeas, através do atordoamento, analisou vocalizações, escorregões e quedas e número

de disparos e concluiu que o manejo pré-abate no matadouro frigorífico influencia no bem estar animal, porque a irregularidade de manutenção de equipamentos e instalações, mão de obra não qualificada e supervisão ineficiente provocam falhas nos processos de atordoamento, sangria e pH 24 horas, com perda da qualidade da carne.

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O bem-estar animal é fundamentado em muitos componentes, desde o nascimento do animal até na hora do abate. Há grande preocupação com o bem-estar animal de uma forma geral, e ainda é necessário grandes ajustes práticos na área para obtenção de resultados melhores e significantes, de forma a atingir o consumidor e melhorar a produção.

Nesse caminho encontramos a mão de obra humana que é peça chave para sucesso do processo, portanto são fundamentais o treinamento e a capacitação de funcionários. Entre outros elementos, as instalações são de grande valia, facilitando o manejo e oferecendo conforto animal e humano.

No Brasil, apesar do grande movimento do mercado ainda há muito a se aperfeiçoar para se adequar aos padrões de bem-estar e é necessário um investimento tanto na fiscalização quanto do proprietário para cumprimento da legislação.

A insensibilização bem efetuada garante uma sangria indolor, ausentando sofrimento ao senciente animal e assegura um produto final de qualidade, porém, ainda preciso muitas pesquisas e treinamento, provando que é de suma importância a insensibilização animal correta, evitando a dor e sofrimento dos mesmos nas etapas a seguir ao box de atordoamento.

## 9. REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Exportação. [publicação online] 2014 [Acesso em 19 nov. 2015]. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/animal/exportacao>
2. Quadros DG. Apostila Técnica do Curso: Sistemas de produção de bovinos de corte, de Extensão da Universidade do Estado da Bahia. [Publicação online] 2005 [Acesso em 15 fev 2016]. Disponível em [http://www.neppa.uneb.br/textos/publicacoes/cursos/sistemas\\_producao\\_gado\\_corte.pdf](http://www.neppa.uneb.br/textos/publicacoes/cursos/sistemas_producao_gado_corte.pdf)
3. Martins R, Nachiluk K, Bueno CRF, Freitas SM de. O biodiesel de sebo bovino no Brasil. *Informações Econômicas*. 2011;41(5):56-70.
4. Gross MSM. Principais causas de devoluções de carne bovina resfriada a vácuo em uma central de distribuição no Rio Grande do Sul [dissertação]. Porto Alegre: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2015.
5. Miranda DL, Carvalho JM, Thomé KM. Bem-estar animal na produção de carne bovina brasileira. *Informações Econômicas*. 2013;43(2):46-56.
6. Leite CR, Nascimento MRBM de, Santana DO de, Guimarães EC, Morais HR. Influência do manejo pré-abate de bovinos na indústria sobre os parâmetros de

bem-estar animal e impactos no pH 24 horas post mortem. *Bioscience Journal*. 2015;31(1):194-203.

7. Bertoloni W, Silva JL da, Abreu JS de Andreolla DL. Bem-estar e taxa de hematomas de bovinos transportados em diferentes distâncias e modelos de carroceria no estado do Mato Grosso - Brasil. *Rev. bras. Saúde prod. anim.* 2012;13(3):850-9.
8. Costa e Silva EV. Abate humanitário e o bem-estar animal em bovinos. Porto Alegre: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária
9. Petrolini MS. Influência do bem-estar animal na qualidade da carne bovina. Ituverava: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas.
10. World Animal Protection. Advanced concepts in animal welfare. [Publicação online] 2012 [Acesso em 07 mar 2016]. Disponível em [www.worldanimalprotection.ca/](http://www.worldanimalprotection.ca/)
11. Brasil. NR 36 Segurança e saúde no trabalho em empresas de abate e processamento de carnes e derivados. Ministério do trabalho. [Publicação online] 2006 [Acesso em 26 ago 2017]. Disponível em <http://trabalho.gov.br/images/Documentos/SST/NR/NR36.pdf>
12. Costa e Silva B V. et al. Estratégias para avaliar bem-estar animal em animais em reprodução. *Ciência Veterinária Tropical*. 2010;13(1):20-8.
13. Organização das nações unidas para agricultura e alimentação. Capacitação para implementar boas práticas de bem-estar animal. [Publicação online] 2008 [Acesso em 8 mar. 2016]. Disponível em [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Desenvolvimento\\_Sustentavel/Producao-Integrada-Pecuaria/FAO\\_Capacitacao para BEA.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Desenvolvimento_Sustentavel/Producao-Integrada-Pecuaria/FAO_Capacitacao_para_BEa.pdf)
14. Humane farm animal care. Animal care standards. [Publicação online] 2003 [Acesso em 29 jan 2016]. Disponível em <http://www.certifiedhumane.com>
15. World animal protection. Advanced concepts in animal welfare. [Publicação online] 2016 [Acesso em 07 mar 2016]. Disponível em <http://www.worldanimalprotection.ca/>
16. Grandin T. The design and construction of facilities for handling cattle. *Livest Prod Sci.* 1997;49:103-19.
17. Brasil. Decreto nº. 30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. *Diário Oficial da União*. [Publicação online] 1952 [Acesso em 01 mar 2015]. Disponível em [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/1950-1969/D30691.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1950-1969/D30691.htm)

18. Moura SV. Reatividade animal e indicadores fisiológicos de estresse: avaliação das suas relações com a qualidade final da carne bovina em distintos períodos de jejum pré-abate [dissertação]. Pelotas: Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Pelotas, 2011.
19. Roça RO. Abate humanitário: o ritual Kasher e os métodos e insensibilização de bovinos [tese]. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista; 1999.
20. Russi LS, Rosa MS da, Barbalho PC, Costa e Silva EV, Zúccari CESN. Etologia aplicada em bovinos. *Revista de Etologia*. 2011;10(1):45-53.
21. Morelato A, Ternoski M. Abate humanitário de bovinos: emprego de técnicas adequadas como garantia de bem-estar animal. Tuiuti: Faculdade de Ciências Biológicas e de Saúde, Universidade Tuiuti do Paraná. Trabalho de Conclusão de Curso Pós-Graduação Lato Sensu em Produção de Bovino de Corte; 2010.
22. Costa FO. Efeitos do tempo de espera em currais de frigorífico no bem-estar e na qualidade da carne de bovinos [dissertação]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; 2013.
23. Peres LA. Boas práticas de fabricação em matadouros de bovinos. Porto Alegre: Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso especialização em Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal.
24. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Inspeção de carnes, padronização de técnicas, instalações e equipamentos. I - bovinos - currais e seus anexos, sala de matança. MADIPOA - DICAR - Divisão de Inspeção de Carnes e Derivados. [Publicação online] 1971 [Acesso em 01 mar 2015]. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/image/Animal/manual\\_carnes.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/image/Animal/manual_carnes.pdf)
25. Braga JS, Paranhos da Costa MJR, Borges TD, Pellecchia AJR, Barreto ERL, Páscoa, AG. Tempo de permanência de bovinos no chuveiro de aspersão em frigoríficos: estudo de casos sobre o gasto de água. In: Anais do Simpósio de sustentabilidade e ciência animal; 2013, Pirassununga. São Paulo: Universidade de São Paulo.
26. Trecenti AS, Zappa V. Abate humanitário: revisão de literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*. 2013;11(21):1-12.
27. Bertoloni W, Andreolla D. Eficácia do sistema de contenção (automatizado e mecânico) no atordoamento de bovinos. *Ciênc. rural*. 2010;40(8):1821-7.
28. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 3, de 17 de janeiro de 2000. Aprova o regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue. *Diário Oficial da União*. [Publicação online] 2000 [Acesso em 01 mar 2015]. Disponível em:

[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Desenvolvimento\\_Sustentavel/Producao-Integrada-Pecuaria/IN%2003 %20de%202000.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Desenvolvimento_Sustentavel/Producao-Integrada-Pecuaria/IN%2003%20de%202000.pdf)

29. Grandin T. Recommended ritual slaughter practices to improve animal welfare and employee safety. [publicação online]; 1999 [acesso em 01 mar 2015]. Disponível em: [www.grandin.com/ritual/ritual.slaughter.tips.html](http://www.grandin.com/ritual/ritual.slaughter.tips.html).1999.
30. Almeida LAM. Manejo no pré-abate de bovinos: aspectos comportamentais e perdas econômicas por contusões [dissertação]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; 2005.
31. Aiolfi AL. Abate de bovinos em frigorífico no município de União da Vitória - PR. Curitiba: Departamento de Ciências Animais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso especialização em Defesa Sanitária e Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal.



## MATURAÇÃO OOCITÁRIA EM BOVINOS: EFEITO DOS ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS

Jennifer Cardoso Couto<sup>1</sup>,  
Gabriela Azenha Milani Soriano<sup>1</sup>,  
Claudia Maria Bertan Membrive<sup>2</sup>,  
Ines Cristina Giometti<sup>1</sup>  
Caliê Castilho<sup>1\*</sup>

### RESUMO

Objetivou-se com a presente revisão descrever os eventos que compõe a maturação de oócitos bovinos, pois esta é uma fase crucial da produção *in vitro* de embriões (PIVE) e o efeito da adição de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) nos meios de cultivo ou na alimentação de bovinos. Dentre os diversos, o ácido linolênico (C18:3; ômega-3) e linoléico (C18:2; ômega-6) são os mais importantes no contexto reprodutivo. A PIVE é uma biotécnica reprodutiva em que todo o processo ocorre mediante etapas sincrônicas, sendo maturação *in vitro* (MIV), fertilização *in vitro* (FIV) e cultivo de embriões *in vitro* (CIV) e para que todo o processo obtenha sucesso é necessária que haja interação e sincronismo entre as etapas cuja maturação oocitária é uma fase essencial e limitante para a PIVE, visto que é através da maturação nuclear e citoplasmática que ocorre o controle sistêmico de todo potencial de desenvolvimento oocitário e, conseqüentemente garantia do desenvolvimento embrionário.

**Palavras-chave:** oócito, produção embrionária, folículo, biotécnica reprodutiva.

### OOCYTE MATURATION IN CATTLE: THE EFFECT OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS

#### ABSTRACT

The objective of this review was to describe the events that compose the maturation of bovine oocytes, as this is a crucial phase of *in vitro* embryo production (IVP) and the effect of the addition of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) on culture media or in feed for cattle. Among them, linolenic acid (C18: 3; omega-3) and linoleic acid (C18: 2; omega-6) are the most important in the reproductive context. IVP is a reproductive biotechnology in which the whole process takes place through synchronic stages, being *in vitro* maturation (IVM), *in vitro* fertilization (IVF) and *in vitro* embryo culture (IVC) and for the whole process to be successful it is necessary that there is interaction and synchronism between the stages whose oocyte maturation is the essential and limiting phase for IVP since it is through nuclear and cytoplasmic maturation that the systemic control of any oocyte development potential occurs and consequently warranty of embryonic development.

**Keywords:** oocyte, embryonic production, follicle, reproductive biotechnology.

---

<sup>1</sup>Universidade do Oeste Paulista – Mestrado em Ciência Animal – Presidente Prudente-SP

<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista – Dracena - SP

Contato principal para correspondência: calie@unoeste.br

## MATURACIÓN OOCITARIA EN BOVINOS: EFECTO DE LOS ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS

### RESUMEN

En el presente trabajo se describen los eventos que componen la maduración de ovocitos bovinos, pues esta es una fase crucial de la producción *in vitro* de embriones (PIVE) y el efecto de la adición de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en los medios de cultivo o En la alimentación de bovinos. Entre los diversos, el ácido linolénico (C18: 3, omega-3) y linoleico (C18: 2, omega-6) son los más importantes en el contexto reproductivo. La PIVE es una biotécnica reproductiva en que todo el proceso ocurre mediante etapas sincrónicas, siendo maduración *in vitro* (MIV), fertilización *in vitro* (FIV) y cultivo de embriones *in vitro* (CIV) y para que todo el proceso obtenga éxito es necesario que haya interacción y sincronismo entre las etapas cuya maduración oocitaria es la fase esencial y limitante para la PIVE, ya que es a través de la maduración nuclear y citoplasmática que ocurre el control sistémico de todo potencial de desarrollo oocitario y por consiguiente, garantía del desarrollo embrionario.

**Palabras clave:** ovócito, producción embrionária, folículo, biotécnica reproductiva.

### INTRODUÇÃO

Em 2015, o Brasil liderou o ranking de maior exportador de carne bovina e tem recebido grande atenção devido ao modelo de criação extensiva e ao potencial de incremento na produção, estimando 217.550.000 animais, o país possui o segundo maior rebanho bovino, sendo 80% destes destinados à produção de carne, assim, o rebanho nacional apresenta uma produção de carne/animal abatido aquém da necessária gerando uma deficiência na produção pecuária caracterizada pela baixa eficiência reprodutiva que está associada, entre outros fatores, à baixa qualidade genética do rebanho (1). A eficiência reprodutiva necessita ser priorizada para proporcionar o aumento nos índices de produtividade com animais de alta qualidade genética e sem necessariamente aumentar o número das matrizes, deste modo considera-se a importância do melhoramento genético obtido com o uso das biotécnicas aplicadas à reprodução.

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) é uma biotécnica reprodutiva muito importante para pesquisa e produção comercial de embriões e todo o processo ocorre mediante etapas sincrônicas, sendo maturação *in vitro* (MIV), fertilização *in vitro* (FIV) e cultivo de embriões *in vitro* (CIV). A maturação oocitária (MIV) consiste numa etapa crucial e limitante para a produção de embriões *in vitro*, uma vez que o potencial de desenvolvimento oocitário e embrionário está diretamente relacionado à adequada maturação citoplasmática e nuclear (2).

Os oócitos podem ser obtidos *in vivo* por meio da aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU-PICK-UP) ou de ovários de abatedouro. No entanto, em ambos os casos ocorre perda de comunicação celular entre o complexo *cumulus*-oócito (COCs) o que confere retomada espontânea da meiose e dessincroniza todo o processo de maturação oocitária, dificultando a produção *in vitro* do embrião (3,4).

A análise do fluido folicular revelou que os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) das famílias ômega 6 (ácido linoleico) e 3 (ácido linolênico) são os lipídeos mais abundantes neste meio, sendo o ácido linoléico encontrado em maior quantidade que o

ácido linolênico, desta forma, os mesmos são importantes na performance reprodutiva das fêmeas bovinas (5,6).

## **MATURAÇÃO OOCITÁRIA**

A maturação oocitária nos mamíferos consiste na conversão de oócitos imaturos plenamente crescidos e inclusos nos folículos antrais em oócitos maduros com competência para serem fecundados.

Na maior parte dos mamíferos, ainda na vida intrauterina os oócitos iniciam a divisão meiótica após intensas e sucessivas mitoses, formando a população de oogônias, assim habitam o ambiente ovariano das fêmeas até o momento do nascimento em que já possuem determinado número de células reprodutoras em seus ovários e a partir de então se inicia a meiose I, o que confere a formação dos oócitos primários no processo de foliculogênese. No entanto, esta divisão será bloqueada na fase do diplóteno da prófase I e somente será retomada com o estímulo gonadotrófico no momento da ovulação na puberdade das fêmeas, assim os animais nascem com oócitos primários bloqueados na prófase I (7,8).

O processo de maturação oocitária é caracterizado por eventos nucleares e citoplasmáticos (9). A maturação meiótica confere a progressão nuclear do estágio de diplóteno (Prófase I) do oócito para Meiose II, permanecendo assim até sua ativação ou fecundação. Fatores inibitórios sintetizados pelas células da granulosa e presente no ambiente folicular são responsáveis por interromper a divisão meiótica dos oócitos exatamente no estágio de diplóteno da prófase I, designado morfologicamente como vesícula germinativa (VG) e assim permanecem até a puberdade das fêmeas e a partir deste período, os oócitos serão mobilizados gradualmente até o reinício meiótico (7).

A maturação citoplasmática inclui eventos como: modificações moleculares (10) síntese de proteínas (11), redistribuição das organelas intracelulares (12) e maturação dos mecanismos de liberação do  $Ca_2^+$  (13).

A maturação do oócito é um dos estádios mais importantes para a PIVE de embriões bovinos. O oócito para estar apto a ser fertilizado e alcançar o estágio embrionário deve passar pela maturação nuclear e citoplasmática (14).

Desta forma para que o oócito consiga expressar seu potencial máximo para o desenvolvimento, a maturação oocitária *in vitro* necessita de meios adequados para que o oócito passe por todos os eventos.

## **MATURAÇÃO NUCLEAR *IN VITRO***

A etapa de maturação nuclear nada mais é do que a progressão da meiose a partir do diplóteno da prófase I até a metáfase II. *In vivo* os oócitos retomam a meiose após o pico pré-ovulatório de hormônio luteinizante (LH) (15). No procedimento *in vitro* os oócitos retornam à maturação meiótica quando ocorre remoção dos COCs do ambiente folicular e os mesmos são cultivados em meio adequado (16), levando de 18 a 24 horas para ocorrer maturação nuclear em bovinos (17).

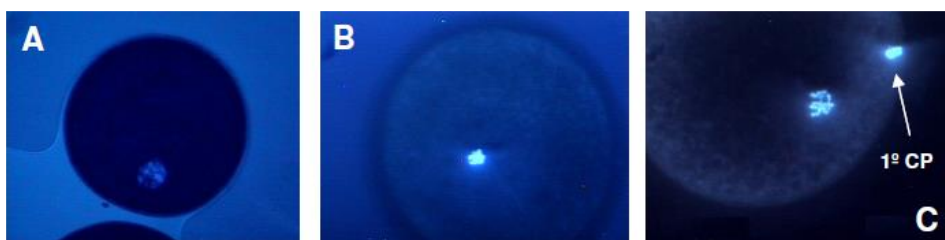
Entre os estádios de prófase I e metáfase II, acontece, a condensação dos cromossomos, e dissolução das membranas, assim o envelope nuclear é desfeito (GVBD), caracterizando o início da maturação nuclear e ao término da primeira divisão meiótica, o citoplasma é dividido assimetricamente gerando duas células sendo uma pequena, denominada como corpúsculo polar e outra maior, designada oócito secundário e assim permanecerá até ser fecundado (4). O LH contribui na maturação folicular final e ativação oocitária para que ocorra a retomada da meiose e a progressão

do oócito para a metáfase (MII) da segunda meiose (18) e o reinício da meiose é marcada pela expansão das células do *cumulus* na superfície do oócito (19).

Ao ser removido do folículo, o oócito perde a comunicação com as junções GAP do *cumulus* e conseqüentemente a interrupção da transferência de fatores inibidores da quebra da vesícula germinativa (GVBD), o que resulta na retomada espontânea da meiose, independentemente de seu estágio de maturidade citoplasmática (20).

O sucesso da PIVE de embriões está totalmente relacionado a taxa de sucesso da MIV, o qual é fator limitante para todo o processo (21). Desta forma são adotadas estratégias de cultivo que proporcionam o desenvolvimento oocitário buscando semelhança com o ambiente folicular. Para isso, são utilizadas fontes protéicas como soro e albumina sérica bovina, além dos hormônios LH e FSH, sistemas tampões, além de fatores de crescimento (4,22,24).

O bloqueio meiótico e a cinética da maturação nuclear são avaliados por meio de uma técnica de coloração, denominada HOECHST 33342, em 8h, 16h e 24h após o início da MIV, onde os oócitos são classificados de acordo com seu estágio (VG, MI e MII). Esta análise é feita por microscopia de epifluorescência, sendo designados oócitos em VG, os que estiverem cromossomos descondensados; MI quando apresentar cromossomos condensados, e MII quando estiver presente a condensação dos cromossomos e formação da placa metafásica, além da extrusão do 1º corpúsculo polar (figura 1) (25).



**Figura 1.** Fases de maturação nuclear em oócitos bovinos observadas em microscopia de epifluorescência. A) oócitos em VG: cromossomos descondensados; B) oócitos em MI: cromossomos condensados; C) oócitos em MII: cromossomos condensados, formação da placa metafásica e extrusão do 1º corpúsculo polar (25).

O percentual de embriões que se desenvolve a partir de oócitos maturados e fecundados *in vitro* é inferior àquele obtido *in vivo*, isso em decorrência de problemas no processo de maturação citoplasmática, também denominada capacitação oocitária (17). Portanto, para que o oócito consiga expressar seu potencial máximo para o desenvolvimento embrionário, além da maturação nuclear é necessário que ocorra maturação citoplasmática e que estes eventos sejam sincrônicos.

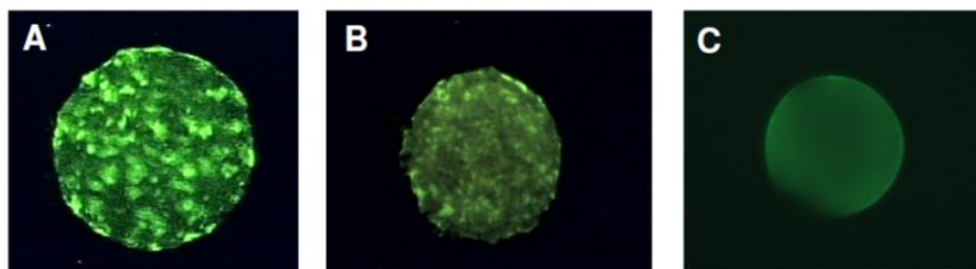
## MATURAÇÃO CITOPLASMÁTICA

Durante o processo de maturação oocitária, além das alterações nucleares, é necessário que ocorra reorganização estrutural nesta célula para assim permitir seu subsequente desenvolvimento, desta forma tem-se a maturação citoplasmática que consiste em alterações metabólicas e estruturais que potencializam a capacidade oocitária para fecundação e início de do desenvolvimento embrionário (12).

As alterações que ocorrem durante a maturação citoplasmática envolvem a reorganização estrutural das organelas intracelulares, como por exemplo, a migração dos grânulos corticais e reposicionamento das mitocôndrias com o objetivo de bloquear

a poliespermia, além de contribuir com a descondensação espermática, formação do pronúcleo pós-fertilização e desenvolvimento embrionário inicial (26).

Os grânulos corticais (GC) encontram-se distribuídos por todo citoplasma celular em oócitos imaturos e conforme a célula passa pelo processo de maturação, os mesmos migram para o córtex e no final do processo se encontrarão na periferia celular, assim é possível avaliar o estágio da maturação de acordo com os grânulos corticais (27-29). A cinética da maturação citoplasmática é avaliada por uma coloração específica que através da epifluorescência visualiza a distribuição dos GC no interior dos oócitos que se dá por meio de grumos ou *clusters*. Assim, grânulos dispersos em toda a célula determinam um oócito imaturo, quando distribuídos periféricamente e parcialmente em *clusters* indicam maturidade parcial. Grânulos corticais totalmente situados na periferia do oócito revelam que o mesmo está maturo (30,31).



**Figura 2.** Fases da maturação citoplasmática em oócitos bovinos, observados em microscopia de epifluorescência. A) GC dispostos em *clusters* no interior do oócito (grumos): oócito imaturo; B) GC dispostos no córtex e medula do oócito: parcialmente maturo; C) GC dispostos somente no córtex do oócito: estágio maturo (25).

Os grânulos corticais são organelas derivadas do complexo de Golgi e sua migração para a periferia do oócito é fundamental para garantir a fecundação e o possível desenvolvimento embrionário (32). Seu conteúdo é constituído de uma população de moléculas que inclui proteases, glicosidases, enzimas e proteínas estruturais, as quais contribuem na modificação da matriz extracelular (zona pelúcida) existente nos oócitos a fim de oferecer uma barreira física e bioquímica para o bloqueio da polispermia (28). Conforme a maturação progride os grânulos migram para o córtex e quando o oócito atinge o estágio de M II, os GC estão distribuídos completamente na periferia do oócito, próximos à membrana plasmática (18,33). O transporte de cálcio do meio extracelular para o meio intracelular, que ocorre com a fusão espermatozoide-oócito é um dos sinais responsáveis pela exocitose dos grânulos corticais e a reação cortical que é caracterizada pelo enrijecimento da zona pelúcida e bloqueio a poliespermia (34).

Através da fecundação ou estímulo artificial (ativação partenogênica) o oócito retoma seu desenvolvimento (35). Desta forma durante a maturação citoplasmática, as alterações metabólicas e estruturais que ocorrem na célula, permitem o reinício do ciclo meiótico, e a extrusão do segundo corpúsculo polar, formando os pronúcleos e inicia-se o processo de clivagem (35,36). Sendo assim o espermatozoide promove alterações morfológicas e bioquímicas no interior do oócito que são fundamentais para a retomada da meiose e o subsequente desenvolvimento embrionário (37,38).

Se a maturação oocitária *in vitro* ocorrer de modo assíncrono entre seus eventos nucleares e citoplasmáticos, as taxas de desenvolvimento embrionário tornam-se baixas (39). A inadequada maturação oocitária seja no núcleo ou citoplasma inviabiliza a fecundação e potencializa a ocorrência de poliespermia, partenogênese e bloqueio do desenvolvimento embrionário (40).

## ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS

Os AGPI são divididos em duas famílias: ômega 3 e ômega 6, e diferem entre si na posição da última dupla ligação em relação a localização do radical metil da molécula, ambos, ômega 3 e 6 são ácidos graxos essenciais, ou seja, não são produzidos pelo organismo (41). Possuem as funções de melhorar a fluidez das membranas biológicas, além de regular a sinalização de receptores e a expressão gênica (42,45).

O ácido linoléico conjugado (CLA) é um ácido graxo poli-insaturado de cadeia longa presente em altas concentrações no líquido folicular, este composto está presente principalmente em óleos vegetais e é um representante da família n-6, é convertido no organismo em ácido araquidônico que é precursor das prostaglandinas dienóicas como Prostaglandina F2 $\alpha$  que quando adicionado ao meio MIV pode influenciar na competência oocitária e no desenvolvimento embrionário até o estágio de blastocisto (41).

O ácido linolênico (ALA) é um AGPI de cadeia longa, pertencente à família n-3, pode ser encontrado em cloroplastos de leguminosas, gramíneas e linhaça, utiliza as mesmas enzimas que o ácido linoléico em sua metabolização, sendo elas: elongase e dessaturase, responsáveis por converter o ácido linoleico conjugado (CLA) em ácido araquidônico e o ácido linolênico (ALA) em eicosapentaenoico, precursores de prostaglandinas trienóicas, como Prostaglandina F3 $\alpha$  (42). O ALA é produzido pelos folículos ovarianos e está presente no fluido folicular das fêmeas bovinas possuindo grande importância nas funções reprodutivas como ovulação, estro e sobrevivência do embrião, influenciando assim a maturação oocitária regulando a quebra da vesícula germinativa e controlando presumivelmente o crescimento e o desenvolvimento dos oócitos até o estágio de blastocisto (46).

Dentre os fatores que exercem influência na reprodução de fêmeas bovinas, a nutrição tem um papel reconhecidamente importante por modificar a performance reprodutiva. O efeito dos ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) fornecidos na dieta sobre a reprodução pode ser parcialmente mediado por alterações na composição destes no fluido folicular e no microambiente que cerca o complexo *cumulus*-oócito (COCs) durante o desenvolvimento e maturação folicular (47,48). Além disso, outro mecanismo associado à melhoria da concepção pela suplementação com AGPI é a necessidade do embrião por ácidos graxos essenciais, o que pode estar associado à melhoria da qualidade dos embriões e o desenvolvimento embrionário (49,50). Entretanto, os AGPI inseridos na dieta, ao passarem pelo rúmen são transformados na sua maioria em ácidos graxos saturados através do processo de biohidrogenação desempenhado pelos microorganismos ruminais, assim como uma alternativa à suplementação nutricional, sugere-se a adição direta de AGPI no meio de cultivo de oócitos e embriões produzidos *in vitro*, visto que não passará pela transformação ruminal, e desta forma poderá ser mais bem aproveitado pelos oócitos (51).

A análise do fluido folicular revelou que os AGPI das famílias ômega 6 (ácido linoleico) e 3 (ácido linolênico) são os lipídeos mais abundantes neste meio sendo o ácido linoléico encontrado em maior quantidade que o ácido linolênico (5). Portanto, os AGPI estão envolvidos na maturação do oócito e na competência oocitária até o estágio de blastocisto (52).

A concentração de ácido linoleico diminui significativamente com o aumento do diâmetro folicular (6). Isto sugere que o ácido linoleico possui um papel na regulação da maturação oocitária e altas concentrações pode ser um fator que contribui para a parada

do oócito em estágio de VG (53). Portanto, um fator importante a ser considerado ao suplementar os meios de PIVE com AGPI é a dosagem utilizada.

A adição de 100  $\mu\text{M}$  de CLA em meio MIV e CIV de oócitos bovinos não alterou a maturação do oócito nem as taxas de produção de blastocitos, mas aumentou a porcentagem de sobrevivência embrionária após o aquecimento dos embriões vitrificados (54). O mesmo foi observado adicionando 100  $\mu\text{M}$  de ácido linoléico no meio de cultivo de embriões bovinos, onde a taxa de blastocisto foi menor que o controle, porém houve redução no conteúdo de lipídios intracitoplasmático e aumento na criotolerância (55). Em oócitos bovinos a adição de 50  $\mu\text{M}$  de ácido linoléico (ALA) durante a maturação aumentou o número de oócitos no estágio MII e o desenvolvimento subsequente do embrião, enquanto doses maiores foram prejudiciais, e este efeito benéfico foi mediado diretamente através da via MAPK e indiretamente através da síntese de PGE2 (56). A adição de 200  $\mu\text{M}$  de ALA ao meio MIV de oócitos de ovelhas pré-púberes teve efeito negativo na maturação e expansão das células do *cumulus*. Já as concentrações de 50 e 100  $\mu\text{M}$  de ALA resultaram em melhora na formação dos pronúcleos e qualidade dos blastocistos produzidos (57). Em outro estudo alta concentração de CLA (200  $\mu\text{M}$ ) no meio de maturação de oócitos ovinos inibiu o desenvolvimento embrionário e foi associado com aumento na expressão relativa de RNAm do gene Bax e por outro lado, ainda em ovinos, a adição de 100  $\mu\text{M}$  de ALA ao meio MIV teve efeito benéfico na competência oocitária, aumentando a taxa de blastocistos provavelmente devido a alteração nos genes implicados com apoptose (44,45).

Os ácidos graxos demonstraram impacto positivo em vários estudos sobre a eficiência reprodutiva da fêmea bovina (50,58,59). Inibição da produção de prostaglandina e atraso da luteólise (50), desenvolvimento de folículo e corpo lúteo (CL) maiores (60), melhora na vitrificação (54) e no desenvolvimento embrionário (47) são alguns dos efeitos positivos encontrados na literatura. Esses efeitos podem estar relacionados à maturação oocitária, por induzirem alteração no ambiente folicular nas fêmeas que são suplementadas *in vivo* ou *in vitro* quando adicionados ao meio de maturação oocitária.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A maturação oocitária é uma etapa crucial para o sucesso do desenvolvimento *in vitro* de oócitos recuperados de fêmeas bovinas tornando-se um grande desafio para a PIVE, pois a maturação assíncrona afeta a competência oocitária prejudicando as etapas posteriores desta biotécnica, gerando reduzidas taxas de blastocistos. Mecanismos bioquímicos complexos envolvem esta etapa da PIV e necessitam ser mais bem compreendidos para aperfeiçoar os índices de produção embrionária *in vitro*.

## REFERÊNCIAS

1. Anuário da pecuária brasileira. Anualpec. São Paulo: Informa Economics FNP, 2015.
2. Crocomo LF, Marques Filho WC, Alvarenga FCL, Bicudo SD. Aspectos bioquímicos e ultraestruturais da maturação oocitária. Vet. e Zootec. 2011;18:4:542-52.
3. Pincus G, Enzmann E. The comparative behavior of mammalian eggs *in vivo* and *in vitro*. I. The activation of ovarian eggs. J Exp Med. 1935;62:665-75.

4. Gottardi FP, Mingoti GZ. Maturação de oócitos bovinos e influência na aquisição da competência para o desenvolvimento do embrião. *Rev Bras Reprod Anim.* 2009;33:2:82-94.
5. Bender K, Walsh S, Evans AC, Fair T, Brennan L. Concentrations in follicular fluid may explain differences in fertility between heifers and lactating cows. *Reprod.* 2010;139:1047-55.
6. Homa ST, Brown CA. Changes in linoleic acid during follicular development and inhibition of spontaneous breakdown of germinal vesicles in cumulus-free bovine oocytes. *J Reprod Fertil.* 1992;94:153-60.
7. Wani NA, Wani GM, Khan MZ, Salahudin S. Effect of oocyte harvesting techniques on *in vitro* maturation and *in vitro* fertilization in sheep. *Small Rumin Res.* 2000; 36:63-7.
8. Hurk VDR, Zhao J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. *Theriogenology.* 2005;63:1717-51.
9. Fissore RA, Kurokawa M, Knott J, Zhang M, Smyth J. Mechanisms underlying oocyte activation and postovulatory ageing. *Reproduction.* 2002;124:745-754.
10. Kubelka M, Motlik J, Schultz RM, Pavlok A. Butyrolactone I reversibly inhibits meiotic maturation of bovine oocytes, without influencing chromosome condensation activity. *Biol Reprod.* 2000;62:292-302.
11. Sirard MA, Richard F, Mayes M. Controlling meiotic resumption in bovine oocytes: a review. *Theriogenology.* 1998;49:483-97.
12. Stojkovic M, Machado SA, Sotojkovic P, Zakhartchenko V, Hutzler P, Gonçalves PB, et al. Mitochondrial distribution and adenosine triphosphate content of bovine oocytes before and after *in vitro* maturation: correlation with morphological criteria and developmental capacity after *in vitro* fertilization and culture. *Biol Reprod.* 2001;64:904-9.
13. Wang W, Day BN, Wu G. How does polyspermy happen in mammalian oocytes? *Microsc Res Tech.* 2003;61:335-41.
14. Krisher, RL. The effect of oocyte quality on development. *Anim. Sci. J.* 2004;82:14-23.
15. Fair T. Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence. *Anim Reprod Sci.* 2003;78:203-16.
16. Gordon I. Laboratory production of cattle embryos. Wallingford: CAB International, 1994. p.640.



17. Bertagnolli AC, Gonçalves PBD, Giometti IC, Costa JFC, Oliveira IDV, Gonçalves KP, et al. Interação entre células do cumulus e atividade da proteína quinase C em diferentes fases da maturação nuclear de oócitos bovinos. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2004;56:488-96.
18. Wessel PR, Dode MAN, Rodovalho NC, Leguizamon G. Nuclear maturation kinetics of zebu oocytes in presence or absence of hormones. *Arq. Fac. Vet. UFRGS.* 1998;26:205.
19. Peng XR, Hsueh AJW, Lapolt PS, Bjersing L, Ny T. Localization of luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acid expression in ovarian cell types during follicle development and ovulation. *Endocrinology.* 1991;129:3200-7.
20. Byskov AG, Andersen CY, Nordholm L, Thogersen H, Xia G, Wassaman O, et al. Chemical structure of sterols that activate oocyte meiosis. *Nature.* 1995;375:559-62.
21. Blondin P, Coenen K, Guilbault LA, Sirard MA. *In vitro* production of bovine embryos: developmental competence is acquired before maturation. *Theriogenology.* 1997;47:1061-75.
22. Younis AI, Brackett BG. Thyroid stimulating hormone enhancement of bovine oocyte maturation *in vitro*. *Mol Reprod Dev.* 1992;2:44-51
23. Mingoti GZ, Garcia JM, Rosa e Silva A.A.M. Steroidogenesis in cumulus cells of bovine cumulus-oocyte-complexes matured *in vitro* with BSA and different concentrations of steroids. *Anim Reprod Sci.* 2002;69:175-86.
24. Good NE, Winget GD, Winter. W, Connolly TN, Izawa S, Singh RM. Hydrogen ion buffers for biological research. *Biochemistry.* 1966;5:467-77.
25. Barreto LSS. Avaliação dos efeitos da inibição da maturação nuclear e de antioxidantes sobre a maturação oocitária, fecundação e desenvolvimento embrionário bovino *in vitro*. [dissertação]. Jaboticabal: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade “Júlio de Mesquita Filho”; 2007.
26. Mayes M, Sirard MA. The influence of cumulus-oocyte complex morphology and meiotic inhibitors on the kinetics of nuclear maturation in cattle. *Theriogenology.* 2001;55:911-22.
27. Connors SA, Kanatsu-Shinohara M, Schultz RM, Kopf, GS. Involvement of the cytoskeleton in the movement of cortical granules during oocyte maturation, and cortical granule anchoring in mouse eggs. *Dev Biol.* 1998;200:103-5.
28. Wessel GM, Brooks JM, Green E, Haley S, Voronina E, Wong J et al. The biology of Cortical Granules. *Int Rev Cytol.* 2001;209:117-206.
29. Velilla E, Izquierdo D, Ridriguez-Gonzales E, Lopes-Bejar M, Vidal F, Paramio MT. Distribution of prepubertal and adult goat oocyte cortical granules during

- meiotic maturation and fertilization: ultrastructural and cytochemical study. *Mol Reprod Dev.* 2004;68:507-14.
30. Hosoe M, Shioya Y. Distribution of cortical granules in bovine oocytes classified by cumulus complex. *Zygote.* 1997;5:71-6.
  31. Méo SC. Ativação partenogenética e desenvolvimento embrionário inicial de oócitos bovinos tratados com estrôncio, ionomicina e 6-dimetilaminopurina. [dissertação]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias “Júlio de Mesquita Filho”, Universidade Estadual Paulista, 2002.
  32. Ferreira EM, Vireque AA, Adona PR, Meirelles FV, Ferriani RA, Navarro PAAS. Cytoplasmic maturation of bovine oocytes: Structural and biochemical modifications and acquisition of developmental competence. *Theriogenology.* 2008;71:836-48.
  33. Thibault C, Szöllösi D, Gérard M. Mammalian oocyte maturation. *Reprod Nutr Dev.* 1987;27:865-96.
  34. Wang W, Day BN, Wu G. How does polyspermy happen in mammalian oocytes? *Microsc Res Tech.* 2003;61:335-41.
  35. Kupker W, Schulze W, Driedrich K. Ultrastructure of gametes. 1998;49:112-7.
  36. White KL, Yue C. Intracellular receptors and agents that induce activation in bovine oocytes. *Theriogenology.* 1996;45:91-100.
  37. Moore T, Reik W. Genetic conflict in early development: parental imprinting in normal and abnormal growth. *Rev Reprod.* 1996;1(2):73-7.
  38. Mann MR, Bartolomei MS. Epigenetic reprogramming in the mammalian embryo: struggle of the clones. *Genome Biology.* 2002;3:1003.1-1003.4.
  39. Masui Y, Clarke J. Oocyte Maturation. *International Review of Cytology.* 1979;57:185- 282.
  40. Mingoti GZ. Aspectos técnicos da produção in vitro de embriões bovinos. In: *Tópicos Avançados em Biotecnologia da Reprodução*; 2005; Jaboticabal-SP. Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão; 2005.
  41. Spector AA. Essentiality of fatty acidmings. *Lipids, Champaign.* 1999;34:S1-S3.
  42. Fouladi-Nashta AA, Wonnacott K, Guieterrez CG, Gong JG, Sinclair KD, Garnsworthy PC, Webb R. Oocyte quality in lactating dairy cows fed on high levels of n-3 and n-6 fatty acids. *Reproduction .* 2009;138:771-81.
  43. Al Darwich A, Perreau C, Petit MH, Papillier P, Dupon TJ, Guillaume D, et al. Effect of PUFA on embryocryoresistence, gene expression and AMP $\alpha$  phosphorylation in IVF-derived bovine embryos. Prostaglandins and other lipid mediators. 2010;3:30-6.

44. Veshkini A. Linolenic Acid Improves Oocyte Developmental Competence and Decreases Apoptosis of *in vitro*-Produced Blastocysts in Goat et al. *Zygote*. 2015;24:537-48.
45. Ebrahim Aminie DVM, Asadpour R, Roshangar L, Jafari-Joozani R. Effect of linoleic acid supplementation on *in vitro* maturation, embryo development and apoptotic related gene expression in ovine. *Int J Reprod BioMed*. 2016;14: 255-62.
46. Wathes DC, Abayasekara DR, Aitken RJ. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biol. Reprod*. 2007;7:190-201.
47. Fouladi-Nashta AA, Gutierrez CG, Gong JG, Garnsworthy PC, Webb R. Impact of Dietary Fatty Acids on Oocyte Quality and Development in Lactating Dairy Cows. *Biol Reprod*. 2007;77: 9- 17.
48. Childs S, Carter S, Lynch CO, Sreenan JM, Lonergan P, Hennessy AA, et al. Embryo yield and quality following dietary supplementation of beef heifers with n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA). *Theriogenology*. 2008;70:992-1003.
49. Cerri RLA, Bruno RGS, Chebel RC, Galvao KN, Rutigliano H, Juchem SO, et al. Effect of fat sources differing in fatty acid profile on fertilization rate and embryo quality in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*. 2004;287:97.
50. Staples CR, Burke JM, Thatcher WW. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J Dairy Sci*. 1998;8:856-71.
51. Juchem SO. Lipid digestion and metabolism in dairy cows: effects on production, reproduction and health. [dissertação]. Davis: University of California, 2007.
52. Pereira RM, Baptista MC, Vasques MI, Horta AEM, Portugal PV, Bessa RJB, et al. Cryosurvival of bovine blastocysts is enhanced by culture with trans -10 cis-12 conjugated linoleic acid (10t, 12c CLA). *Anim Reprod Sci*. 2007;98:293-301.
53. Marei WF, Wathes DC, Fouladi-Nashta AA. Impact of linoleic acid on bovine oocyte maturation and embryo development. *Soc Reprod Fertil*. 2010;139:979-88.
54. Leão BCS, Rocha-Frigoni NAS, Cabral EC, Coelho MB, Ferreira CR, Eberlin MN, et al. Improved embryonic cryosurvival observed after *in vitro* supplementation with conjugated linoleic acid is related to changes in the membrane lipid profile. *Theriogenology*. 2015;84:127-36.
55. Accorsi MF, Leão BCS, Rocha-Frigoni NAS, Perri SHV, Mingoti GZ. Reduction in cytoplasmic lipid content in bovine embryos cultured *in vitro* with linoleic acid in semi-defined medium is correlated with increases in cryotolerance. *Zygote*. 2016; 24:485-94.

56. Marei WF, Wathes DC, Fouladi-Nashta AA. The effect of linolenic acid on bovine oocyte maturation and development. *Biol Repro.* 2009;81:1064-72.
57. GhaffarilalehV, Fouladi-Nashta AA, Paramio MT. Effect of  $\alpha$ -linolenic acid on oocyte maturation and embryo development of prepubertal sheep oocytes. *Theriogenology.* 2014; 82:686-96.
58. Sklan D, Moallem U, Folman Y. Effect of feeding calcium soaps of fatty acids on production and reproductive responses in high producing lactating cows. *J. Dairy Sci.*1991;74:510-7.
59. Garcia-Bojalil CM, Staples CR, Risco CA, Savio JD, Tatcher WW. Protein Degradability and Calcium Salts of Long-Chain Fatty Acids in the Diets of Lactating Dairy Cows: Reproductive Responses. *J. Dairy Sci.*1998;81:1385-95.
60. Vasconcelos JL, Sartori R, Oliveira HN, Guenther JG, Wiltbank MC. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rates. *Theriogenology.* 2001; 56: 307-14.

## PREDIÇÕES DO CONSUMO DE MATÉRIA SECA EM BOVINOS DE CORTE

Aline Maria Soares Ferreira<sup>1</sup>  
Simone Pedro da Silva<sup>2</sup>  
Carina Ubirajara de Faria<sup>3</sup>

### RESUMO

A nutrição animal se inicia com a ingestão do alimento, compreender esse consumo é de fundamental importância, pois essa variável afeta diretamente o custo de produção através do desempenho animal e inúmeros são os fatores que a afetam, dentre eles podemos destacar aspectos relacionados ao alimento, animal, ambiente e/ou manejo. Apesar da complexidade de gerar equações empíricas para estimar o consumo, os sistemas nutricionais como National Research Council (NRC), que utiliza como banco de dados animais predominantemente *Bos taurus*, e BR-Corte para animais zebuínos e mestiços, tem trabalhado para aprimorar suas equações e devem ser utilizados como um guia geral, adaptando-se a realidade de cada sistema. O objetivo deste trabalho será descrever os fatores que afetam o consumo, as diferentes formas de mensurar o consumo em bovinos em confinamento e as últimas versões das equações de predição de consumo de matéria seca desenvolvidas pelos sistemas nutricionais BR-Corte e NRC.

**Palavras-Chave:** confinamento, equações, mensuração, nutrição.

### PREDICTIONS OF DRY MATTER INTAKE IN BEEF CATTLE

#### ABSTRACT

Animal nutrition begins with the ingestion, understanding this process is of fundamental importance, since this variable directly affects the cost of production through animal performance and countless factors that affect it, among them we can highlight aspects related to feed, animal, environment and/or management. Despite the complexity of generating empirical equations to estimate intake, nutritional systems such as the National Research Council (NRC), which uses predominantly *Bos taurus*, and BR-Corte animals for zebu and crossbred cattle have been working to improve their equations and should be used as a general guide, adapting to the reality of each system. The objective of this work will be to describe the factors that affect the intake, the different forms of measurement of the intake in feedlot and the last versions of the equations of prediction of dry matter intake developed by nutritional systems BR-Corte and NRC

**Keywords:** feedlot, equations, measurement, nutrition.

---

<sup>1</sup>Pós-graduanda em Ciências Veterinárias, FAMEV – UFU/ Uberlândia - MG

<sup>2</sup>Docente em Nutrição Animal e Nutrição de Ruminantes, FAMEV – UFU/ Uberlândia - MG

<sup>3</sup>Docente em Melhoramento Genético Animal e Orientadora no Programa de Pós-Graduação, FAMEV – UFU/ Uberlândia – MG

## PREDICIONES DEL CONSUMO DE MATERIA SECA EN BOVINOS DE CORTE

### RESUMEN

La nutrición animal se inicia con la ingestión del alimento, comprender ese consumo es de fundamental importancia, pues esa variable afecta directamente el costo de producción a través del desempeño animal e innumerables son los factores que la afectan, entre ellos podemos destacar aspectos relacionados al alimento, animal, ambiente y/o manejo. A pesar de la complejidad de generar ecuaciones empíricas para estimar el consumo, los sistemas nutricionales como National Research Council (NRC), que utiliza como base de datos animales predominantemente *Bos taurus*, y BR-Corte para animales cebuínos y mestizos, ha trabajado para perfeccionar sus ecuaciones y deben ser utilizados como guía general, adaptando la realidad de cada sistema. El objetivo de este trabajo será describir los factores que afectan el consumo, las diferentes formas de medir el consumo en bovinos en confinamiento y las últimas versiones de las ecuaciones de predicción de consumo de materia seca desarrolladas por los sistemas nutricionales BR-Corte y NRC.

**Palabras claves:** confinamiento, ecuaciones, medición, nutrición.

### INTRODUÇÃO

O consumo de matéria seca (CMS) é a variável mais importante que afeta o desempenho animal. Segundo Mertens (1) 60 a 90% das variações no desempenho animal são explicadas pelo consumo e somente 10 a 40% por efeitos atribuídos às características de valor nutritivo do alimento, como a digestibilidade. Ou seja, para buscar maximizar o desempenho animal é necessário conhecer o consumo dos alimentos, uma variável extremamente difícil de estimar através de modelos matemáticos, pois são inúmeros os fatores que a afetam.

Apesar da complexidade de gerar equações empíricas para estimar o consumo (2), os sistemas nutricionais como National Research Council (NRC), Agricultural and Food Research Council (AFRC), Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPs) e BR-Corte tem trabalhado no sentido de aprimorar suas equações. Nesse sentido, é importante ressaltar que os sistemas americanos e britânicos desenvolveram equações para prever o consumo utilizando como banco de dados animais predominantemente *Bos taurus*. No Brasil, o grupo genético predominante é de zebuínos com grande número de animais da raça Nelore, no qual o sistema BR-Corte, desenvolvido por pesquisadores da Universidade Federal de Viçosa (UFV), desenvolveu modelos para estimar consumo em animais zebuínos e mestiços (3).

Algumas pesquisas foram realizadas no Brasil, no sentido de quantificar o consumo de alimentos em animais *Bos taurus*, *Bos indicus* e seus mestiços (4,5,6). Sendo que o consumo alimentar distinto entre animais taurinos e zebuínos mantidos em confinamento foram evidenciados por Almeida et al. (7) e Machado Neto et al. (5) que encontraram consumo inferior em animais zebuínos comparados aos taurinos.

Além disso, é importante levar em consideração que muitos modelos de predição de consumo foram desenvolvidos com banco de dados de animais confinados individualmente e é possível que o manejo alimentar em baias individuais possa ser prejudicial aos resultados experimentais voltados às variáveis de consumo e desempenho animal, em função do estresse causado pelo manejo de contenção, além do

comprometimento do padrão natural de consumo em grupo, uma vez que, os bovinos são influenciados por padrões sociais de comportamento (8).

Neste sentido, objetivou-se com essa revisão descrever os principais fatores que afetam o consumo, as diferentes formas de mensuração dessa variável em confinamento e as últimas versões das equações de previsão de consumo de matéria seca (CMS) desenvolvidas pelos sistemas nutricionais BR-Corte e NRC.

## **REFERENCIAL TEÓRICO**

### **1. Importância de conhecer o consumo de alimentos**

A nutrição animal se inicia com a ingestão do alimento, compreender esse consumo é de fundamental importância, pois essa variável afeta diretamente o custo de produção. A quantidade total de nutrientes que o animal recebe para crescimento, saúde e produção são dependentes da relação entre o balanceamento de dietas, manejo nutricional e o consumo voluntário dos alimentos pelos animais (9).

O conhecimento da ingestão diária de alimentos pelos animais é o primeiro passo na formulação de uma dieta, pois o CMS constitui o ponto determinante do ingresso de nutrientes, principalmente de energia e proteína, necessários para o atendimento das exigências de manutenção e produção animal (6). Além disso, a quantidade total de nutrientes absorvidos vai depender da sua digestibilidade que está relacionada com a taxa de digestão e a taxa de passagem. Estudo realizado por Dias et al. (10) mostrou que a digestibilidade diminuiu com o aumento no consumo devido principalmente a maior taxa de passagem da digesta no trato gastrointestinal.

Além da importância de se conhecer o consumo de alimentos para formulação de rações também é relevante à obtenção dessa variável para o planejamento zootécnico de um sistema de produção, no qual é possível determinar o tamanho da área de pastagens em sistemas extensivos e semi-intensivos de criação e para o estabelecimento de culturas de milho e sorgo para a ensilagem, bem como no controle de estoques de alimentos (8).

### **2. Fatores que afetam o consumo**

Os fatores que interferem no consumo e no desempenho animal são inúmeros e complexos e ainda não estão totalmente compreendidos (11). No entanto, é possível separar os principais elementos que influenciam o consumo em relação aos aspectos relacionados ao alimento, animal, ambiente e/ou manejo, ou seja, as condições de alimentação (Figura 1).

Os multifatores que afetam o consumo, de maneira geral, são citados pelas suas interações entre a dieta, o animal, o ambiente e manejo, podendo também ser separados em fatores neuro-hormonais, psicogênicos, ambientais, dietéticos e de manejo (9). Fatores esses que irão determinar o perfil ingestivo de um animal em uma dada situação.

A composição bromatológica, densidade energética, digestibilidade da matéria orgânica, fermentação, taxa de passagem e palatabilidade, variáveis referentes às características do alimento, podem ser consideradas de modo independente (11), ou com interações e variações de acordo com a idade, sexo, peso corporal, condições corporais, estado fisiológico e comportamental dos animais. Possibilitando ainda considerar interações e variações por fatores relacionados ao ambiente, como fatores de correção do consumo, dados através de condições de manejo e adversidades do clima (2).

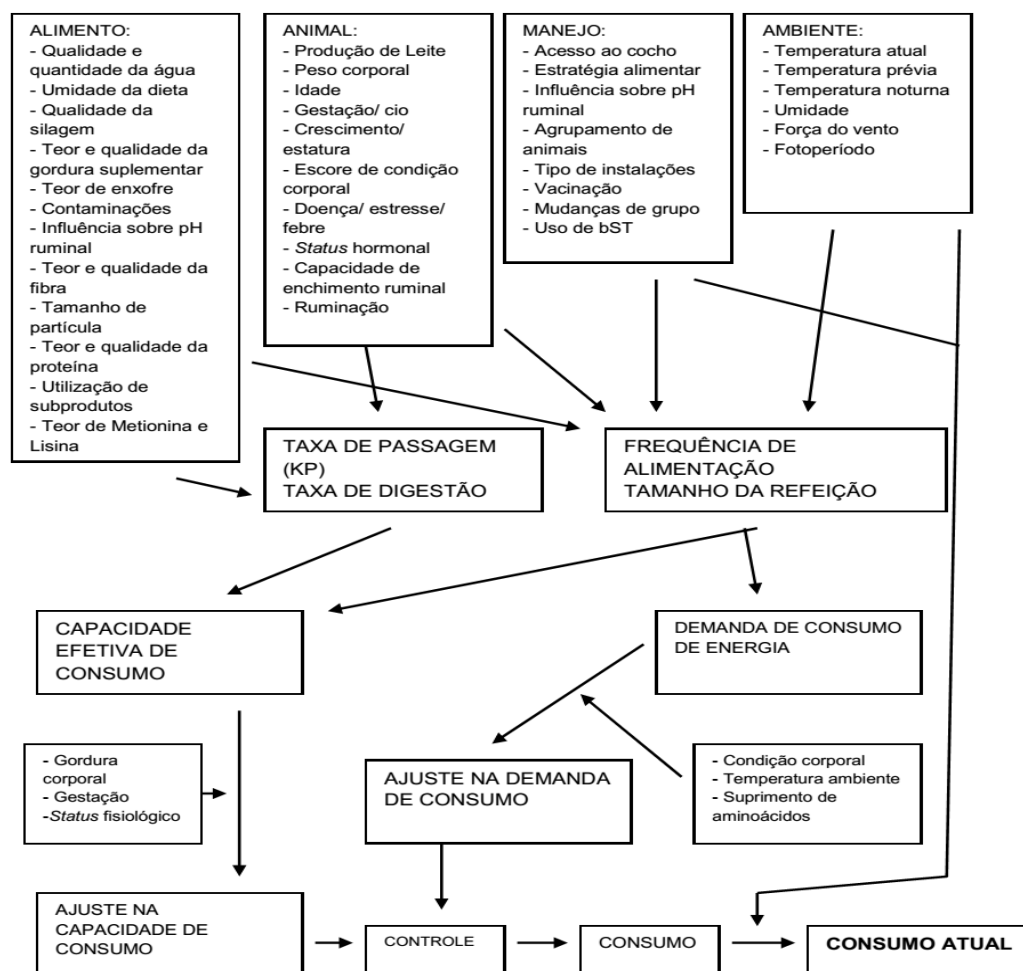


Figura 1. Controle do consumo de alimentos e fatores que afetam o consumo (12).

## 2.1. Fatores relacionados à dieta

O teor de fibra em detergente neutro (FDN) da dieta é um dos principais determinantes da regulação física do consumo, tornando-se possivelmente o fator que mais afeta o CMS à medida que o requerimento energético do animal e o efeito de enchimento das dietas aumentam (13). Para animais que têm altas exigências energéticas, a distensão ruminal tem um efeito maior, pois o animal precisa ingerir grande quantidade de nutrientes para atender às suas necessidades, não podendo assim, atingir o nível de consumo necessário em função da limitação na capacidade volumétrica do rúmen. A ingestão de alimento de baixa digestibilidade afeta negativamente o consumo em razão da menor taxa de passagem pelo trato digestivo (9). O rúmen-retículo e o abomaso possuem receptores que regulam o CMS em relação ao volume e peso do alimento neles retido. Assim a baixa taxa de digestão da fração FDN, é o principal fator associado ao efeito de enchimento (saciedade) ou regulação física do consumo e é influenciada pelo avanço do desenvolvimento das plantas (2).

Por outro lado, o uso de dietas que possuem alta digestibilidade, como os concentrados, a regulação do CMS é em função dos requerimentos de energia do animal, regulado por mecanismos fisiológico, até o ponto que o consumo de energia se fará constante e o CMS começar a decrescer (9, 2). Segundo Mertens (14), em



ruminantes o limite mais baixo de consumo é definido pela ração de densidade energética mais alta, desde que não prejudique a fermentação ruminal, não cause acidose ou anorexia, nem ocorra uma queda significativa na gordura do leite (Figura 2).

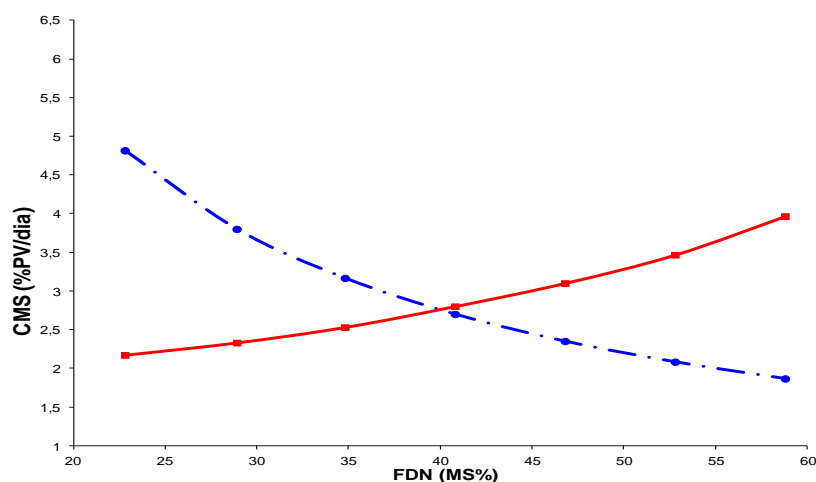


Figura 2. Fatores envolvidos na regulação do consumo em ruminantes (14).

A aplicação prática desse conceito de regulação de consumo proposto por Mertens (14) consiste em buscar oferecer dietas aos ruminantes em que se possa introduzir o máximo de fibra sem causar repleção, mas que seja suficiente para atender a demanda energética do animal. Sendo que em sistemas de produção de bovinos de corte em confinamento o desafio é manter alto o consumo de energia sem causar distúrbios digestivos, principalmente acidose ruminal, pela falta de fibra no rúmen. Por outro lado, na produção de bovinos de corte a pasto, o desafio é tentar aumentar o consumo de energia, buscando reduzir o teor de fibra na dieta.

Outros fatores relacionados ao alimento como o uso de gordura e teor de proteína bruta também podem afetar o consumo pelos animais. Segundo Berchielli et al. (9) o uso de gordura como fonte de energia, facilita a mistura e apresentação dos alimentos, porém possui certo limite, próximo de 7% na dieta de ruminantes, pois altera negativamente a fermentação e digestibilidade da fibra, uma vez que, ocasiona impedimento físico nas partículas alimentares e dificulta o acesso dos microrganismos. Além disso, os lipídeos principalmente os constituídos por ácidos graxos insaturados são tóxicos aos microrganismos ruminais. Bassi et al. (15), analisou grãos de oleaginosas na alimentação de novilhos zebuínos e constatou que o consumo de matéria seca e ganho médio diário foram menores quando utilizou-se dietas contendo caroço de algodão moído, onde a inclusão disponibilizou alto nível de gordura afetando a digestibilidade da fibra.

Com relação ao teor de proteína bruta da dieta em afetar o consumo, ao se fornecer dietas deficientes em proteína (inferior a 7 - 8%) aos ruminantes ocorre alteração da atividade microbiana do rúmen por déficit de nitrogênio que é necessário às bactérias ruminais e, conseqüentemente, redução na taxa de digestão da fibra e diminuição no consumo de alimentos (3). O efeito da suplementação com nitrogênio proteico ou não protéico (ureia) é positivo sobre a utilização e consumo de forrageiras de baixa qualidade como descreveram Silva et al. (16) e Cardozo (17), porém níveis elevados de nitrogênio não protéico podem induzir à toxidez pelo excesso de liberação de amônia, reduzindo também o consumo (9).

Outro fator a ser considerado é o comportamento do animal em recusar certos tipos de alimento pelo seu odor, sabor e textura. A palatabilidade reforça o conceito de

que os ruminantes aprendem a associar as consequências após comerem um alimento e usar essas preferências e aversões no momento de selecioná-los (18).

## 2.2. Fatores relacionados ao animal

A aceitabilidade a determinada dieta que muitos pensavam ser uma característica do alimento é visto como uma função individual do animal, através da associação pós-ingestiva do alimento com suas propriedades sensoriais (9), onde as porções mais palatáveis são frequentemente ingeridas primeiro, variando entre as diferentes espécies e a disponibilidade do alimento, de modo que, animais famintos são menos seletivos.

Com o avanço das tecnologias e a seleção genética dos animais observaram-se a influência do potencial genético no consumo de matéria seca, expresso pela especialização desses animais para alta produção, apontando diferenças entre as raças e seus cruzamentos. Alguns trabalhos desenvolvidos no Brasil verificaram diferenças no CMS entre animais *Bos taurus*, *Bos indicus* e seus mestiços (19,20) com valores inferiores de CMS em animais zebuínos, comparados aos taurinos. Ainda segundo Marcondes et al. (4) em experimento com animais Nelores e mestiços (Nelore-Angus e Nelore-Simental) o CMS e o consumo de demais nutrientes, exceto fibra em detergente neutro, foi maior nas dietas com alto nível de concentrado e superior em animais mestiços em relação aos animais puros.

A idade dos animais também influencia o consumo, para animais de mesma idade a quantidade de matéria seca ingerida por dia (g/dia) eleva-se com o aumento do peso corporal. Essa elevação no consumo resulta do aumento das necessidades energéticas e é permitida graças ao aumento da capacidade do estômago. Entretanto, o consumo em relação ao peso corporal (%PC) diminui, porque animais menores têm maiores taxas metabólicas e necessitam de maior consumo de nutrientes para atender sua maior exigência (9). Segundo Suarez (11) os principais componentes do peso corporal de um animal são órgãos, vísceras, ossos, músculos e gordura (intermuscular, interna, subcutânea e intramuscular), respectivamente nessa sequência de desenvolvimento, no qual a musculatura é o componente de maior importância econômica, ao passo que o peso dos órgãos e vísceras é de grande magnitude fisiológica. O CMS em dietas de baixa digestibilidade é diretamente proporcional à capacidade do rúmen e, portanto, ao tamanho do animal (9). Animais em crescimento apresentam CMS estreitamente ligada ao peso corporal, à taxa de ganho de peso e a composição da dieta (11).

A composição corporal, especialmente a porcentagem de gordura também afeta o consumo de alimentos pelos ruminantes (21). O ruminante apresenta ao nascimento menos de 5% de gordura corporal, a qual posteriormente aumenta com o incremento do peso, até atingir, em animais adultos, entre 20 e 30% do peso de corpo vazio (22). A partir do aumento na proporção de gordura na carcaça o CMS começa a declinar, o NRC (21) sugere que o CMS diminui cerca de 2,7% para cada 1% de aumento na gordura corporal.

Diferenças no consumo entre classes sexuais distintas são evidentes. Machos não castrados, castrados e fêmeas possuem exigências nutricionais diferentes (21). Além disso, apresentam curvas de crescimentos modificadas por ação de hormônios relacionados ao sexo, que podem acarretar diferenças nos níveis de consumo. De forma geral, machos inteiros apresentam maior consumo absoluto de matéria seca do que machos castrados e fêmeas, justamente para sustentar seu maior ganho de peso.

Ainda segundo os fatores relacionados aos animais que afetam o CMS, diferenças entre raças também são perceptíveis. Bovinos de raças distintas possuem couro, pelos e quantidade de gordura subcutânea particulares, que são características que o animal

desenvolve para sobreviver em determinadas regiões com suas condições climáticas. Animais não adaptados ao frio têm menor capacidade de gerar calor do que os adaptados e inversamente, os animais que possuem dificuldade de dissipar calor tendem a reduzir o CMS (9).

### **2.3. Fatores relacionados ao ambiente e manejo**

Segundo o NRC (23) todos os animais homeotérmicos apresentam consumo de alimento inversamente proporcional à temperatura do ambiente, como mecanismo regulador de sua temperatura corporal. Assim, o animal diminui o consumo de alimento, quando a temperatura é alta, e aumenta o consumo e o requerimento energético da dieta, quando a temperatura é baixa.

Em regiões onde o estresse térmico é predominante, o uso de sombrites em confinamentos ou de árvores em áreas abertas pode influenciar positivamente o CMS pelos animais. Segundo estudo desenvolvido por Marques et al. (24), machos inteiros mestiços em área sombreada apresentaram maior CMS em relação aos animais em área não sombreada, com maior ingestão no período da manhã e atividade de ruminação no período da tarde.

A ocorrência de alguns elementos climáticos, como vento e chuva, afeta o CMS pelos ruminantes. A chuva pode ocasionar o aparecimento de lama nos animais em confinamento e isso gerar desconforto, podendo inibir o consumo. Conforme o NRC (2) em casos de acúmulo de lama leve (10 a 20 cm de espessura de lama) ou grave (30 a 60 cm de espessura de lama) a redução no consumo varia de 15% a 30%, respectivamente e eventos de chuva esporádicos podem diminuir o CMS entre 10 a 30%, sendo que, quando combinada com altas temperaturas, pode ocasionar aumento de deterioração do alimento em função do crescimento de fungos o que pode diminuir a palatabilidade da ração e acarretar em maior queda no consumo.

Outros fatores de manejo tais como disponibilidade de água e alimento, espaçamento do cocho, entre outros, também exercem influência sobre o consumo. A qualidade e a quantidade de água adequada regulam o consumo de ração, facilitando a mastigação e deglutição de alimentos secos, além de ser percussor das reações energéticas nas células corporais. Se a ingestão de água for limitada, o consumo de matéria seca e o ganho de peso diminuem (9).

Para a maximização do CMS também deve ser levada em consideração a disponibilidade e acesso a dieta fornecida, evitando competição dos animais por alimento. Geralmente animais adultos possuem a tendência de exercer dominância sobre os animais mais jovens, o que pode gerar competição por espaço nos cochos. Assim é importante assegurar adequado espaço na linha de cocho (aproximadamente 50 a 70 cm/cabeça) reduzindo a possibilidade de competição e estresse nos animais mais submissos (25).

Além de todos os fatores relacionados ao ambiente e manejo descritos anteriormente que afetam o consumo pelos animais é importante ressaltar o efeito que existe sobre o consumo em animais que passaram por algum período de restrição alimentar, sendo que após esse período, os ruminantes tendem a apresentar maior consumo de alimento durante a fase de alimentação posterior (2,9). Segundo o NRC (2) para bovinos de corte este aumento do consumo pode chegar a 30%, sendo uma das explicações para o ganho compensatório observado após um período de redução alimentar.

### **3. Mensuração do consumo por bovinos em confinamento**

A determinação do consumo individual de bovinos é uma prática complexa e de difícil manejo, porém necessária para se conhecer os animais mais eficientes dentro de determinado grupo, uma vez que, a literatura indica que animais com mesmo ganho de peso podem ter consumos distintos, o que afeta diretamente a lucratividade da atividade. Sainz & Paulino (26) verificaram que bovinos com ganho médio diário semelhante de 1,5 kg, apresentaram variações no CMS de 7,43 e 9,22 kg/dia.

As mensurações do consumo individual por bovinos em confinamento podem ser realizadas através do confinamento dos animais em baias individuais ou em baias coletivas com utilização de indicadores ou através de sistemas de alimentação eletrônicos (27,28).

O CMS em baias individuais é avaliado diariamente através da diferença na mensuração do alimento fornecido (volumoso e concentrado) e sobras encontradas no cocho, aproximadamente 24 horas depois do fornecimento. Porém, questiona-se sua utilização, devido os bovinos serem animais gregários, ou seja, em ambiente natural, andam sempre em grupo, fator que pode ocasionar aumento do estresse animal, e consequente redução no CMS e na produtividade (8). Outro fator citado por Marcondes (27) esta relacionado ao temperamento de algumas raças, como a Nelore em que os animais possuem temperamento agressivo em relação a outras raças, o que pode dificultar a condução do experimento e favorecer ao aumento do estresse.

Segundo Cruz et al. (29) os efeitos do tipo de baia parecem ser mais evidentes quando os animais são alimentados apenas uma vez por dia, mostrando que a utilização de baias individuais não prejudica o desempenho dos animais, desde que eles sejam estimulados ao consumo pelo menos duas vezes por dia.

O uso de baias coletivas permite aos bovinos exercer seu comportamento natural de viver em grupos, no entanto, para obtenção de estimativas de CMS individual é necessário utilizar indicadores ou em sistemas de alimentação eletrônicos. O método dos indicadores baseia-se no emprego de uma substância de referência que mesmo ingerida na dieta é recuperada totalmente nas fezes (8). Entre os indicadores existentes, o óxido crômico, Lignina, fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e LIPE® (lignina de madeira moída extraída de *Eucalyptus grandis*) tem sido os mais empregados por apresentarem custos relativamente baixos quando comparado com uso de sistemas de alimentação eletrônicos, porém durante o manejo às probabilidades maiores de erros do que em sistemas automatizados (27).

Marcondes et al. (27) avaliaram o uso de dois indicadores para estimar o consumo de concentrado (óxido crômico (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) e dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>)), dois indicadores para estimar o consumo de volumoso (FDNi e FDAi) e LIPE® para estimar a produção fecal em animais Nelore, e concluíram sua eficiência para estimar o consumo dos animais, denominando essa metodologia como o método dos três indicadores, sendo muito utilizada em estudos de nutrição de ruminantes, principalmente em bovinos criados a pasto.

Dentre os sistemas eletrônicos disponíveis em baias coletivas podemos citar o Calan Gates, GrowSafe e o Intergado, ambas permitem a realização de difíceis mensurações de forma rápida, acurada, individual e por 24 horas por dia, auxiliando na seleção de animais de maior eficiência alimentar e consequentemente favorecendo os estudos na nutrição e produção animal, porém de alto custo (28).

O Calan Gates é um sistema criado pela empresa americana American Calan, onde os animais que possuem colares magnetizados (*transponders*) abrem cochos exclusivos, através de um sistema de reconhecimento eletrônico que permite aos

pesquisadores distribuir dietas individuais a animais alojados em grupo (30). Porém, existe a necessidade de pesagem das sobras e do alimento fornecido e também de treinamento inicial dos animais, sendo que em casos de problemas elétricos o animal fica impossibilitado de acessar os cochos (31). Além desses problemas é muito comum que animais dominantes consigam ter acesso ao cocho dos animais subordinados (28).

O GrowSafe, sistema de fabricação canadense, mede o consumo de alimento individual e permitir identificar a duração e frequência de alimentação do animal. Os componentes do sistema de alimentação GrowSafe detectam a presença ou ausência do animal no cocho por meio de uma antena de leitura, estrategicamente instalada dentro do cocho, que identifica o *transponder* pela tecnologia SIRF (sistema de identificação por rádio frequência), geralmente colocado nos brincos (28,32).

Ambos os sistemas de alimentação eletrônicos Calan Gate e Growsafe são produzidos no exterior e isso acarreta em aumento no custo de produção desses produtos (28,30,32). Para buscar reduzir os custos para implementação desses sistemas, no Brasil começou-se a comercializar o Intergado que tem funcionalidades semelhantes ao GrowSafe, registrando dados de consumo diário (Kg/dia), consumo por visitas ao cocho, taxa de consumo (gramas/minuto) e frequência de visitas ao cocho (33).

O Intergado possui versões com cochos e bebedouros, apoiados sobre células de carga que possibilitam o registro automático da quantidade de alimento e água ingeridos, sendo que uma versão possui plataformas estrategicamente instaladas em conjunto com os bebedouros, permitindo a pesagem corporal voluntária dos animais (33). O sistema Intergado em relação ao GrowSafe apresenta vantagens com a possibilidade da pesagem contínua dos animais e informações de ingestão de água, através da versão bebedouro, além da acessibilidade para aquisição aos produtores brasileiros, pela produção deste equipamento no país (32,33).

#### **4. Sistemas nutricionais e os modelos de predição do consumo de matéria seca por bovinos de corte**

O entendimento dos fatores que regulam a ingestão de matéria seca, discutidos anteriormente, podem gerar informações importantes para serem utilizadas nos modelos de predição de consumo, possibilitando formular dietas mais eficientes. A predição do consumo voluntário dos animais chama atenção, não somente pelo impacto no desempenho, nos requerimentos nutricionais, na economia e produção, mas também pela redução na emissão de contaminantes ao meio ambiente (8).

Um modelo de predição de CMS é uma representação simplificada do complexo sistema de ingestão voluntária de alimentos (34). Como os fatores que regulam o consumo em ruminantes não estão completamente entendidos, modelos para prever o consumo são empíricos por natureza (2) e devem ser utilizados como um guia geral adaptando-se a realidade de cada sistema.

Os modelos de predições do CMS para bovinos citados pelo NRC, por exemplo, são eficientes quando consideramos raça, sexo, taxa de ganho de peso e condições ambiente semelhante à base de dados utilizada nesse sistema, entretanto, ainda é necessário gerar dados para reajustar modelos a determinadas condições, principalmente em condições tropicais, utilizando-se da mensuração do consumo individual do animal para validação dessas equações (8). Valadares Filho et al. (8) afirmaram que as equações do National Research Council - NRC são inadequadas para prever o CMS de bovinos de corte em confinamento quando alimentados em condições tropicais por ser um sistema apropriado a condições de clima temperado e animais *Bos taurus*. Nesse sentido, o sistema BR-Corte foi desenvolvido e validado por Valadares Filho et al.

(3,8,35), para ser mais apropriado aos bovinos de corte (animais *Bos indicus* e mestiços) criados em condições tropicais.

#### 4.1. Sistema NRC (2000) e NRC (2016)

As equações de predição de CMS para bovinos em confinamento presentes no NRC (2000) relacionaram o consumo de alimentos com o peso corporal inicial e a concentração energética da dieta, através de duas equações (2):

$$\text{CMS (kg/dia)} = 4,54 + 0,0125 * \text{PC} \quad (\text{I})$$

$$\text{CMS (Mcal/dia)} = \text{PCj}^{0,75} * (0,2435 * \text{ELM}_{(\text{dieta})} - (0,0466 * \text{ELM}_{(\text{dieta})}^2) - 0,1128) \quad (\text{II})$$

onde PC: peso corporal inicial;  $\text{PCj}^{0,75}$ : peso corporal metabólico médio em jejum;  $\text{ELM}_{(\text{dieta})}$ : concentração de energia líquida de manutenção da dieta (Mcal/Kg MS da dieta).

Ajustando, pelo tamanho médio, para animais ao sobreano (novilhos/novilhas) na segunda equação, usando-se - 0,0869 ao em vez de - 0,1128. Sendo necessário ainda acrescentar multiplicadores para ajustes no CMS em relação à raça, peso corporal, uso de anabolizantes, temperatura e presença de lama no animal (Tabela 1.0).

**Tabela 1.** Fatores de Ajuste para Ingestão de Matéria Seca.

Fator de ajuste	Multiplicador
Raça: Holandês	1,08
Cruzado	1,04
Gordura Corporal:	
21,3 (to 350 kg)	1,00
23,8 (400 kg)	0,97
26,5 (450 kg)	0,90
29,0 (500 kg)	0,82
31,5 (550 kg)	0,73
Implante anabólico (ADTV)	1,00
Nenhum estimulante anabólico	0,94
Temperatura, °C	
> 35, sem refrigeração noturna	0,65
> 35, com refrigeração noturna	0,90
25 to 35	0,90
15 to 25	1,00
5 to 15	1,03
- 5 to 5	1,05
- 15 to - 5	1,07
< -15	1,16
Lama: Nenhum	1,00
Suave (10-20 cm)	0,85
Grave (30-60 cm)	0,70

Adaptado do NRC (2).

As equações presentes no NRC (2000) foram relatadas por alguns estudos por subestimar ou superestimar o CMS, dependendo das condições dietéticas e dos animais (36, 37). Patterson et al. (36) avaliaram a capacidade dessas equações para predizer

consumo usando dados de sete estudos e cinquenta e quatro dietas, e observaram que o modelo superestimou o consumo quando bovinos foram alimentados com dietas de baixa qualidade e apresentou consumo imprevisível com dietas de alta qualidade.

A partir da conclusão desse e outros estudos, Anele et al. (38) desenvolveram novas equações para prever o CMS de bovinos de corte em crescimento e terminação para um período de alimentação a partir das mesmas variáveis utilizadas na versão anterior, peso corporal e concentração de energia líquida da dieta. Esses autores também consideraram a abordagem alternativa de calcular o CMS requerido (CMSR) para atingir um nível especificado de desempenho, método este semelhante ao utilizado por Tedeschi et al. (39), para determinar em Mcal a energia líquida da manutenção requerida (ELm requerida) e energia líquida do ganho requerido (ELg requerida) para um dado peso corporal e ganho médio diário (40):

$$\text{CMS (\%PC)} = 1,2425 + 1,9218 * \text{ELm}_{(\text{dieta})} - 0,7259 * \text{ELm}_{(\text{dieta})}^2 \quad (\text{III})$$

$$\text{CMSR (kg/dia)} = (\text{ELm requerida (Mcal/dia)} / \text{ELm dieta (Mcal/kg MS dieta)}) + \text{ELg requerida (Mcal/dia)} / \text{ELg dieta (Mcal/kg MS dieta)} \quad (\text{IV})$$

onde ELm requerida =  $0,0077 * \text{PCj}^{0,75}$ ; ELg requerida =  $0,0635 * \text{EBW}^{0,75} * \text{EBG}^{1,0097}$  (onde EBW =  $0,891 * \text{PCj}$  e EBG =  $0,956 * \text{GMD}$ ).

Sendo importante realizar os ajustes para previsões com uso de dietas com ELm  $\leq 0,95$  Mcal/kg de MS para o divisor 0,95 (40) e também considerar os fatores de ajustes propostos pelo NRC (2000) (Tabela 1). Além de, nesta última versão (2016), recomendar para ajuste de classe sexual o uso das equações descritas por McMeniman et al. (41), para estimar o CMS de bovinos em confinamento alimentados com dietas de alto grão ( $\geq 2,06$  NEm e  $\geq 1,4$  NEd):

$$\text{Novilhos: CMS (kg/d)} = 3,830 + 0,0143 * \text{IPCj} \quad (\text{V})$$

$$\text{Novilhas: CMS (kg/d)} = 3,184 + 0,01536 * \text{IPCj} \quad (\text{VI})$$

onde IPCj = peso médio em jejum inicial.

Embora possa ser útil em alguns aspectos recomendar uma equação única para aplicar em todas as situações, a avaliação estatística das previsões de CMS sugere que os usuários avaliem quais equações fornecem melhores ajustes com os dados observados (40).

#### 4.2. Sistema BR-CORTE (2010) e BR-CORTE (2016)

No Brasil os bovinos de corte predominantemente criados são zebuínos, o BR-Corte, descrito por Valadares Filho et al. (3,8,35), desenvolveram equações para estimar o CMS de bovinos confinados em condições tropicais, baseadas no ganho médio diário e no peso corporal médio, variáveis estas mais fáceis de serem obtidas em condições práticas.

O BR-Corte em sua segunda edição (2010) (35) utilizou-se da meta-análise para interagir o estudo e efeitos aleatórios das interações gerando modelos de previsão mais precisos e acurados para animais Nelore e mestiços:

Zebuínos puros (Nelore):

$$\text{CMS} = -2,7878 + 0,08789 * \text{PC}^{0,75} + 5,0487 * \text{GMD} - 1,6835 * \text{GMD}^2 \quad (\text{VII})$$

Zebuínos cruzados com taurinos de corte:

$$\text{CMS} = -2,6098 + 0,08844 * \text{PC}^{0,75} + 4,4672 * \text{GMD} - 1,3579 * \text{GMD}^2 \quad (\text{VIII})$$

onde  $\text{PC}^{0,75}$  = peso corporal médio metabólico ( $\text{kg}^{0,75}$ ); GMD = ganho de peso médio diário (kg/dia).

A partir da significância da carne brasileira ser oriunda de bovinos machos provenientes de rebanhos leiteiros, criados como gado de corte, houve a necessidade de atualizar o banco de dados separando três grupos genéticos, gerando novos modelos para estimar CMS, descrita no BR-Corte 2016 (3):

Zebuínos puros (Nelore):

$$\text{CMS} = -1,7824 + 0,07765 * \text{PC}^{0,75} + 4,0415 * \text{GMD} - 0,8973 * \text{GMD}^2 \quad (\text{IX})$$

Cruzados com taurinos de corte:

$$\text{CMS} = -0,6273 + 0,06453 * \text{PC}^{0,75} + 3,871 * \text{GMD} - 0,614 * \text{GMD}^2 \quad (\text{X})$$

Cruzados com taurinos de leite:

$$\text{CMS} = -2,8836 + 0,08435 * \text{PC}^{0,75} + 4,5145 * \text{GMD} - 0,9631 * \text{GMD}^2 \quad (\text{XI})$$

onde  $\text{PC}^{0,75}$  = peso corporal médio metabólico ( $\text{kg}^{0,75}$ ); GMD = ganho de peso médio diário (kg/dia).

O coeficiente negativo para a variável  $\text{GMD}^2$  (kg/dia), observado em todas as equações ajustadas, indicou que as estimativas para CMS apresentam um platô, por estar diretamente relacionada com a concentração de energia das dietas utilizadas (3). Partindo do princípio de que para alcançar GMD máximo, a concentração energética da dieta deverá estar alta, inibindo o CMS (1) que o NRC propôs equações que incluíram as variáveis ELM e  $\text{ELM}^2$ , no entanto há dificuldades para se determinar a ELM antes de saber quais alimentos irão compor a dieta.

Alternativamente, na 3ª versão BR-Corte (3) foram sugeridas equações quando se conhece o teor de concentrado a ser usado na formulação da dieta:

Zebuínos:

$$\text{CMS} = -1,303 + 0,0029 * \text{NC} - 0,00005 * \text{NC}^2 + 0,0843 * \text{PC}^{0,75} + 2,243 * \text{GMD} - 0,271 * \text{GMD}^2 \quad (\text{XII})$$

Cruzados de corte:

$$\text{CMS} = -4,8196 + 0,0081 * \text{NC} - 0,00011 * \text{NC}^2 + 0,1239 * \text{PC}^{0,75} + 2,8189 * \text{GMD} - 0,775 * \text{GMD}^2 \quad (\text{XIII})$$

onde NC = teor de concentrado na dieta (% da MS total da dieta).

De forma geral, as amplitudes totais das diferentes variáveis presentes no banco de dados utilizado para o desenvolvimento das equações de predição do CMS no BR-Corte representaram amplamente as características dos bovinos brasileiros confinados (3).



## CONCLUSÃO

O entendimento dos fatores que regulam o consumo de matéria seca geram informações importantes, possibilitando formular dietas mais eficientes, com impactos diretos no desempenho e produção dos animais. Ressaltando que os modelos de predição de CMS são representações simplificadas do complexo sistema de ingestão voluntária de alimentos e devem ser utilizados como um guia geral, adaptando-se a realidade de cada sistema.

## REFERÊNCIAS

1. Mertens DR. Regulation of forage intake. In: Fahey Junior GC, Collins M, Mertens DR, Moser LE. Forage Quality, Evaluation and Utilization. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America, 1994, p. 450-493.
2. National Research Council – NRC. Nutrient requirements of beef cattle. 7 ed. Washington: D.C.; 2000. 234 p.
3. Valadares Filho SC, Costa e Silva LF, Lopes AS, Prados LF, Chizotti ML, Machado PAS, et al. BR-CORTE 3.0. Cálculo de exigências nutricionais, formulação de dietas e predição de desempenho de zebuínos puros e cruzados. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2016.
4. Marcondes MI, Valadares Filho SC, Oliveira IM, Paulino PVR, Valadares RFD, Detmann E. Eficiência alimentar de bovinos puros e mestiços recebendo alto ou baixo nível de concentrado. R Bras Zootec. 2011;40(6):1313-1324.
5. Machado Neto OR, Ladeira MM, Gonçalves TM, Lopes LS, Oliveira DM, Lima RR. Performance and carcass traits of Nellore and Red Norte steers finished in feedlot. R Bras Zootec. 2011;40(5):1080-1087.
6. Ribeiro JS, Ladeira MM, Machado Neto OR, Campos FR. Consumo alimentar e sua predição pelos sistemas NRC, CNCPS e BR-CORTE, para tourinhos zebuínos confinados. Rev Ciênc Agron. 2012;43(4):802-810.
7. Almeida R, Lanna DPD. Influence of genotype on performance and dry matter intake by feedlot steers in Brazil. In: World Conference on Animal Production, 9.; Reunião Da Associação Latino Americana de Produção Animal, 18., 2003. Porto Alegre. Proceedings... Porto Alegre: Associação Latino Americana de Produção Animal; 2003. p. 84.
8. Valadares Filho SC, Paulino PVR, Magalhães KA. Exigências nutricionais de zebuínos e tabelas de composição de alimentos BR-Corte. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2006.
9. Berchielli TT, Pires AV, Oliveira SG. Nutrição de Ruminantes. 2ª Edição. Jaboticabal - SP: FUNEP – Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão; 2011.

10. Dias RS, Patino HO, López S, Prates E, Swanson KC, France J. Relationships between chewing behavior, digestibility and digesta passage kinetics in steers fed restricted and ad libitum levels of oat hay. *J Anim Sci.* 2011;89(6):1873-1880.
11. Suarez SLB. Fatores envolvidos no consumo de matéria seca [dissertação]. Viçosa - MG: Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa; 2014.
12. Roseler DK. Dry matter intake of dairy cattle: prediction, performance and profit. In: Tri-State Dairy Nutrition Conference; 1998, Fort Wayne, Indiana. Proceedings... Fort Wayne, IN: T-SNC; 1998. p.97-121.
13. Allen MS. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2000;83(7):1598-1624.
14. Mertens DR. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulação de rações. In: Simpósio Internacional de Ruminantes; 1992, Lavras - MG. Anais... Lavras: UFLA; 1992. p.188-219.
15. Bassi MS, Ladeira MM, Chizzotti ML, Chizzotti FHM, Oliveira DM, Machado Neto OR, et al. Grãos de oleaginosas na alimentação de novilhos zebuínos: consumo, digestibilidade e desempenho. *R Bras Zootec.* 2012;41(2):353-359.
16. Silva VL, Borges I, Araújo AR, Costa HHA, Alves Filho FM, Frutuoso FIA, et al. Efeito do tratamento químico sobre a digestibilidade de volumosos e subprodutos agroindustriais. *Acta Kariri Pesquisa e desenvolvimento.* 2016;1(1):29-37.
17. Cardozo MA. Avaliação da forragem tropical *in vitro* em função da suplementação com compostos nitrogenados e ou amido [dissertação]. Viçosa - MG: Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa; 2016.
18. Forbes JM, Provenza FD. Integration of learning and metabolic signals into a theory of dietary choice and food intake. In: CRONJÉ P, assoc. editors. *Ruminant Physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction.* CAB International, 2000. p. 3-19.
19. Ribeiro JS. Consumo e desempenho de grupos genéticos zebuínos confinados [dissertação]. Lavras - MG: Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Lavras; 2008.
20. Machado Neto OR. Consumo, desempenho e características de carcaça de novilhos nelore e red norte terminados em confinamento e avaliação de sistemas de exigências nutricionais [dissertação]. Lavras: Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Lavras; 2008.
21. National Research Council - NRC. Nutrient requirements of beef cattle. Washington: D.C.; 1987. 85 p.

22. Di Marco ON. Crecimiento y repuesta animal. Mar del Plata: Asociación Argentina de Producción Animal; 1993. 129 p.
23. National Research Council -NRC. Effect of environment on nutrient requirements of domestic animals. Washington: National Academy of Science; 1981. 152 p.
24. Marques JÁ, Caldas Neto SF, Groff AM, Simonelli SM, Corasa J, Romero L, et al. Comportamento de bovinos mestiços em confinamento com e sem acesso a sombra durante o período de verão. Campo digital. 2006;1(1):54-59.
25. Santos JEP, Santos FAP. Novas Estratégias no Manejo e Alimentação de Vacas Pré-Parto. 1998 [Acesso 01 mar. 2017]. Disponível em: <<http://www.nupel.uem.br/pos-ppz/eduardo-preparto.pdf>>.
26. Sainz, RD, Paulino PVR. Residual feed intake in beef cattle. In: SAINS RD (Org.). Proceedings of the sierra foothill research & extension center: beef & range field day. v.1. Browns Valley: UCDAVIS, 2004. p. 5-8.
27. Marcondes MI, Valadares Filho SC, Paulino PVR, Detmann E, Paulino MF, Diniz LL, et al. Consumo de desempenho de animais alimentados individualmente ou em grupo e características de carcaça de animais Nelore de três classes sexuais. R Bras Zootec. 2008;37(12):2243-2250.
28. Baldassini WA, Santos ACR, Feltrin GB, Coutinho MAS, Guimarães AL, Mercadante MEZ, et al. Equipamentos, instalações e protocolos de mensuração de consumo de matéria seca em bovinos. Sci Agrar Paran. 2016;15(1):5-14.
29. Cruz GD, Rodríguez- Sánchez JA, Oltjen JW, Sainz RD. Performance, residual feed intake, digestibility, carcass traits, and profitability of Angus-Hereford steers housed in individual or group pens. J Anim Sci. 2014;88:324-329.
30. American Calan. [200-] [Acesso 28 mar. 2017]. Disponível em: <<http://americancalan.com/>>
31. Cole NA. Intake Control Systems. 1995 [Acesso 28 mar. 2017]. Disponível em: <[http://beefextension.com/proceedings/feed\\_intake95/feed\\_intake95\\_21.pdf](http://beefextension.com/proceedings/feed_intake95/feed_intake95_21.pdf)>.
32. Growsafe Systems LTD. [200-] [Acesso 28 mar. 2017]. Disponível em: <<http://www.growsafe.com/>>.
33. Intergado. [200-] [Acesso 28 mar. 2017]. Disponível em: <<http://intergado.com.br/>>.
34. Keady T, Mayne C, Kilpatrick D. An evaluation of five models commonly used to predict food intake of lactating dairy cattle. Livest. Prod. Sci. 2004;89:129-38.
35. Valadares Filho SC, Marcondes MI, Chizzotti ML, Paulino, PVR. Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados BR-CORTE. 2.ed.Viçosa - MG: UFV, DZO; 2010. 193 p.

36. Patterson T, Klopfenstein TJ, Milton T, Brink DR. Evaluation of the 1996 beef cattle NRC model predictions of intake and gain for calves fed low or medium energy density diets. In: Nebraska Beef Cattle Report, Paper 362; 2000, Lincoln: University of Nebraska; 2000. p.26-29.
37. McMeniman JP, Defoor PJ, Galyean ML. Evaluation of the National Research Council (1996) dry matter intake prediction equations and relationships between intake and performance by feedlot cattle. *J Anim Sci.* 2009;87:1138-1146.
38. Anele UY, Domby EM, Galyean ML. Predicting dry matter intake by growing and finishing beef cattle: Evaluation of current methods and equation development. *J Anim Sci.* 2014;92:2660-2667.
39. Tedeschi LO, Fox DG, Guiroy PJ. A decision support system to improve individual cattle management.1. A mechanistic, dynamic model for animal growth. *Agricultural Systems.* 2004;79:171-204.
40. National Research Council – NRC. Nutrient requirements of beef cattle. Washington: Eighth Revised Edition; 2016. 494 p.
41. McMeniman JP, Tedeschi LO, Defoor PJ, Galyean ML. Development and evaluation of feeding-period average dry matter intake prediction equations from a commercial feedlot data base. *J Anim Sci.* 2010;88:3009-3017.

## **SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E OVULAÇÃO COM PROGESTERONA EM OVELHAS**

Gabriela Azenha Milani Soriano <sup>1,\*</sup>

Felipe Rydygier de Ruediger<sup>2</sup>

Caliê Castilho<sup>1</sup>

### **RESUMO**

Com a atual expansão da criação de ovinos no Brasil e a necessidade de melhoramento genético dos rebanhos, a alternativa mais benéfica disponível é a inseminação artificial (IA), sendo sua adoção facilitada pelo uso concomitante da sincronização do estro e ovulação visando à inseminação artificial em tempo fixo (IATF). O ciclo estral nas ovelhas tem duração de 17 dias, que se divide em fase luteal e fase folicular. A ovelha é uma poliéstrica estacional caracterizado por períodos de atividade sexual durante os dias curtos (outono e inverno) com ciclos regulares. Durante os dias longos (primavera-verão), a atividade sexual diminui com os animais apresentando desde completo anestro até irregularidade dos ciclos. Para escolha da técnica de sincronização deve ser considerada a estacionalidade reprodutiva dos ovinos, uma vez que, dependendo da época do ano, será peculiar a técnica a ser empregada. Existem basicamente dois conjuntos de métodos de manipulação do ciclo estral em ovinos, um natural, o chamado efeito macho, outro que inclui métodos artificiais, que empregam progestágenos e as prostaglandinas. Progesterona e progestágenos são amplamente utilizados para sincronização do estro em ovelhas. Em ovinos: as esponjas vaginais de liberação lenta impregnadas com 50 mg MAP são muito utilizadas e existe também o dispositivo intravaginal de liberação de drogas (CIDR<sup>®</sup>).

**Palavras-chave:** CIDR, estradiol, eCG.

### **ESTRUS AND OVULATION SYNCHRONIZATION WITH PROGESTERONE IN SHEEP**

#### **ABSTRACT**

With the current expansion of sheep farming in Brazil and the need for genetic improvement of livestock, the most beneficial alternative available is artificial insemination (AI), and its adoption was facilitated by concomitant use of synchronization of estrus and ovulation in order to time artificial insemination fixed (IATF). The estrous cycle in sheep lasts 17 days, which is divided into luteal phase and follicular phase. The sheep is an animal with reproductive seasonality characterized by periods of sexual activity during the short days (autumn and winter) with regular cycles. During the long days (spring-summer), sexual activity decreases with animals displaying complete anestrus up from irregularity of cycles. To choose the synchronization technique, the reproductive seasonality of the sheep should be considered, since, depending on the time of year, the technique to be used will be

---

<sup>1</sup> Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente (UNOESTE), SP, Brazil

<sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brazil

\* Autor correspondente: e-mail: soriano\_gabi@hotmail.com

peculiar. There are basically two methods of manipulating the estrous cycle in sheep, a natural one, the so-called male effect, another that includes artificial methods that employ progestogens and prostaglandins. Progesterone and progestagens are widely used for synchronization of oestrus in ewes. In sheep: vaginal sponges impregnated with slow-release 50 mg MAP are widely used and there is also the intravaginal drug delivery device (CIDR®).

**Keywords:** CIDR, estradiol, eCG.

## **SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO Y OVULACIÓN CON PROGESTERONA EN OVEJAS**

### **RESUMEN**

Con la actual expansión de la cría de ovinos en Brasil y la necesidad de mejoramiento genético de los rebaños, la alternativa más beneficiosa disponible es la inseminación artificial (IA), siendo su adopción facilitada por el uso concomitante de la sincronización del estro y la ovulación visando la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). El ciclo estral en las ovejas tiene una duración de 17 días, que se divide en fase luteal y fase folicular. La oveja es poliésica estacional caracterizado por períodos de actividad sexual durante los días cortos (otoño e invierno) con ciclos regulares. Durante los días largos (primavera-verano), la actividad sexual disminuye con los animales presentando desde completo anestro hasta irregularidad de los ciclos. Para elegir la técnica de sincronización debe ser considerada la estacionalidad reproductiva de los ovinos, ya que, dependiendo de la época del año, será peculiar la técnica a ser empleada. Hay básicamente dos métodos de manipulación del ciclo estral en ovinos, un natural, el llamado efecto macho, otro que incluye métodos artificiales, que emplean progestágenos y las prostaglandinas. Progesterona y progestágenos son ampliamente utilizados para la sincronización del estro en ovejas. En ovinos: las esponjas vaginales de liberación lenta impregnadas con 50 mg MAP son muy utilizadas y existe también el dispositivo intravaginal de liberación de drogas (CIDR®).

**Palabras clave:** CIDR, estradiol, eCG.

### **1. INTRODUÇÃO**

A ovinocultura está presente em praticamente todos os continentes e a ampla difusão da espécie se deve principalmente ao seu poder de adaptação a diferentes climas, relevos e vegetações (1).

A carne ovina é um produto com grande potencial, precisando ser melhor explorada (2). O Brasil continua importando carne de ovinos (3) apesar de ter uma população de 18.410 milhões de ovinos distribuídos por todo o país - 3,8% desses animais pertencentes a região Sudeste (4). Segundo Bezerra (5) o Brasil é o oitavo produtor mundial de ovinos.

O hábito de consumo da carne ovina ainda é pequeno (consumo de 0,70 kg/pessoa/ano) (4), contudo este hábito vem mudando lentamente nos últimos anos. Com isso, o melhoramento genético dos rebanhos é necessário sendo a inseminação artificial a alternativa mais poderosa disponível (6).

A sincronização da ovulação é uma biotécnica reprodutiva que permite aumentar a produtividade de ovinos, aumentando a frequência de partos, concentração da

inseminação e da parição em épocas do ano desejáveis dentro dos sistemas de produção, e redução na mortalidade perinatal em cordeiros (7,8).

Existem vários protocolos de sincronização da ovulação. Os mais utilizados em ovelhas baseiam-se, principalmente, no controle da duração do corpo lúteo com prostaglandina ou tratamentos com progestágeno ou progesterona associados à gonadotrofina coriônica equina (eCG) com aumento na resposta ovulatória, taxa de concepção e prolificidade (9,10).

Tratamentos tradicionais para sincronização da ovulação em ovelhas têm consistido em esponjas contendo progesterona mantidas por 12 a 14 dias (11). Entretanto, não foram observadas diferenças entre dispositivos de progesterona mantidos entre nove ou 14 dias para manifestação do estro ou taxa de prenhez em ovelhas (12).

Levando-se em consideração as informações publicadas pelos autores supracitados, justifica-se estudar os protocolos de sincronização do estro e ovulação com progesterona em ovelhas.

O objetivo do presente trabalho é apresentar uma compilação de trabalhos que abordam a sincronização do estro e ovulação com progesterona em ovelhas.

## **2. DESENVOLVIMENTO DO ASSUNTO**

### **Padrão de atividade reprodutiva**

A ovelha é uma poliéstrica estacional, com ciclos ovulatórios normais que ocorrem no outono e inverno. Durante os dias longos (primavera-verão), a atividade sexual diminui e os animais apresentam desde completo anestro até irregularidade dos ciclos (13).

A estação reprodutiva varia de acordo com a extensão do dia, a raça e a nutrição. Essa estacionalidade é governada pelo fotoperíodo com a atividade do ciclo estral começando durante o período em que diminui a duração de luz (14). A melatonina é secretada somente na escuridão e, portanto, a duração da secreção difere entre os dias longos e curtos (15).

Embora a estação reprodutiva seja regulada pelo fotoperíodo, a inibição do aumento da frequência de LH tônico através do estradiol é a principal inibidora da ciclicidade no final da estação (16). Durante o anestro estacional da ovelha somente o estradiol é capaz de reduzir a frequência dos pulsos de LH (GNRH) devido à interação com baixas concentrações de melatonina presentes (17).

Nas zonas tropicais, onde a variação de luminosidade é menor, a tendência dos ovinos locais é reproduzir-se durante o ano todo. A puberdade varia de acordo com a raça e nível nutricional fornecido, e ocorre em ovelhas com 4-8 meses de idade, pesando 25 a 35 kg de peso vivo, ou seja, 60-80% do peso do animal adulto (18).

O padrão de atividade reprodutiva nas ovelhas adultas não prenhes é composto por dois ritmos distintos. O primeiro deles é um ciclo estral longo de 17 dias. O segundo é um ritmo anual de ciclicidade ovariana caracterizado por uma pausa, temporada-dependente (anestro) e restauração (época de reprodução) de ciclos ovulatórios ovarianos (19,20). O comprimento do ciclo estral em ovinos é consistente durante toda a estação de reprodução. Existem somente pequenas diferenças na duração do ciclo estral, normalmente um dia superior, entre diferentes raças de ovelhas e um efeito muito pequeno da idade (13).

O ciclo estral se divide em fase luteal que se estende desde o dia dois (estro= dia 0) até dia 13, e em fase folicular que compreende o dia 14 até o dia um (21). O estro

dura cerca de 24 a 36 horas na ovelha. O pico de LH ocorre dentro de 4-8 horas depois do início do estro e a ovulação aproximadamente 24 horas após o início do pico de LH ou em torno de 32 horas após o início do estro (22).

### **O padrão de ondas de desenvolvimento do folículo antral das ovelhas**

Existem tipicamente três ou quatro ondas de desenvolvimento folicular durante o intervalo inter-ovulatório. Este padrão de desenvolvimento folicular antral está intimamente associado a aumentos periódicos diários das concentrações séricas de (FSH) (23,24). Picos diários e transitórios de aumentos nas concentrações de FSH ocorrem pouco antes de emergência da onda folicular (25,26).

A partir dos estudos das relações entre o padrão secretório de FSH e emergência da onda em ovelhas, parece que o FSH controla principalmente a fase inicial de crescimento de folículos antrais, mas o subsequente desenvolvimento folicular e atresia são independentes de flutuações de FSH (24,27).

Em ovelhas, na onda folicular, 1-4 folículos atingem o estágio final de desenvolvimento. Os folículos antrais da última onda e penúltima onda do ciclo estral ovulam simultaneamente em ovelhas prolíficas (28,29). O fato que mais do que um folículo adquira a capacidade de atingir um tamanho ovulatório em uma única onda e os folículos de duas ondas consecutivas ovularem ao mesmo tempo sugerem que a dominância folicular é fraca ou ausente na ovelha (30).

### **Luteogênese, função luteal e regressão luteal**

O corpo lúteo (CL) do ciclo estral da ovelha é formado principalmente pela ação do hormônio luteinizante (LH) (31). Entre três e quatro dias depois da ovulação, o CL da fêmea ovina tem 6-8mm de diâmetro, e atinge o seu diâmetro máximo de 11-14 mm aproximadamente 6 dias mais tarde (28).

O CL da ovelha é composto de quatro principais tipos de células: células luteais pequenas, células luteais grandes, fibroblastos e células capilares endoteliais (32). As células da granulosa dão origem às células luteais grandes, e as da teca às células luteais pequenas (17,31).

A atrofia luteal em ovelhas ocorre abruptamente, durante dois a três dias, entre os dias 12 e 15 após ovulação (32). A prostaglandina  $F2\alpha$  ( $PGF2\alpha$ ) secretada pela glândula endometrial uterina, é o fator luteolítico em ruminantes (33). A  $PGF2\alpha$  é transportada para o local da lise, passando da veia uterina que esta anastomosada com a artéria ovariana, por um mecanismo de contracorrente (34). Ela é produzida pelo endométrio durante todo o ciclo estral, mas sua concentração máxima é atingida no momento da luteólise de cada espécie (35).

### **Métodos de sincronização e indução do estro em ovinos**

Sincronizar o estro e, assim, a ovulação cria a oportunidade de usar inseminação artificial (IA) em ovelhas utilizando sêmen congelado e descongelado de carneiros superiores e aumentar a eficiência geral dos programas de melhorias genéticas (36).

Em termos práticos, é importante diferenciar sincronização de indução de estros. A sincronização consiste em encurtar ou prolongar o ciclo estral através da utilização de hormônios ou associações hormonais que induzam a luteólise ou prolonguem a vida do corpo lúteo. De maneira que um grupo de fêmeas entre em estro e/ou ovule durante um curto período de tempo ou, até mesmo, num único dia. Ao contrário, a indução de estros



consiste em induzir o estro em fêmeas que estejam em anestro, através da utilização de hormônios ou práticas de manejo. Para escolha da técnica de sincronização deve ser considerada a estacionalidade reprodutiva dos ovinos, uma vez que, dependendo da época do ano, será peculiar a técnica a ser empregada (17).

Existem basicamente dois métodos de manipulação do ciclo estral em ovinos: um natural, o chamado efeito macho, outro que inclui métodos artificiais, que empregam progestágenos e as prostaglandinas (14,17).

### **Efeito macho**

Durante a estação reprodutiva ou próximo ao seu início, é possível empregar apenas o método natural que é o chamado efeito macho ou efeito carneiro (37).

Após a separação de ovelhas em anestro por cerca de 15 dias, quando os machos são novamente introduzidos no rebanho, as fêmeas ovulam em um período de 24 a 60 horas. Esse procedimento é de muita utilidade quando se deseja antecipar a manifestação de estro de um rebanho em torno de um mês antes do início efetivo da estação reprodutiva. Visto que, em momentos de anestro mais profundos o percentual de ovelhas que respondem com manifestação de estro é baixo (17).

O mecanismo é desencadeado pela ação dos chamados feromônios que através do olfato atingem o tálamo, hipotálamo e determinam a liberação de LH pela hipófise anterior e por estímulos visuais relacionados à presença física dos machos (38).

Pelo menos, duas possibilidades podem ser constatadas na atuação do mecanismo do efeito macho. A primeira é a formação de um corpo lúteo com atividade normal e manifestação de estro cerca de 19 a 21 dias após a exposição aos carneiros; a segunda, mais frequente, após o pico de LH, há indução de um corpo lúteo hipofuncional (de vida curta) que determina novo pico de LH em sete dias, resultando na manifestação de estro 27 dias após a exposição aos machos. Os ciclos curtos podem ser evitados pela associação de um progestágeno previamente à exposição aos machos, dessa forma, pode ser obtido o pico de LH no terceiro dia e manifestação sequencial de estro com possibilidade de retorno dentro de 21 dias (39). Em ovelhas em anestro, a aplicação de progesterona usando dispositivos CIDR durante cinco dias antes da introdução do macho é suficiente para induzir o estro fértil (40).

## **MÉTODOS HORMONAIS**

### **Progesterona**

O desenvolvimento da sincronização de estro com esponjas vaginais contendo análogos sintéticos da progesterona nos anos 60, foi denominado a "técnica das esponjas" (41).

Para a sincronização do estro em ovelhas pode ser utilizado as esponjas vaginais de liberação lenta impregnadas com 50 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP). Existe também o dispositivo intravaginal de liberação de drogas (CIDR<sup>®</sup>) que contém 0,4 g de progesterona natural (7), de utilização similar à esponja de progestágeno, porém causa menos vaginite com o seu uso do que as esponjas, e pode ser reutilizado após higienização (21,42).

Os protocolos de sincronização de estro iniciais que utilizavam progesterona/progestágenos dependiam de tratamentos a longo prazo (> 10 dias), com implantes e inserções intravaginais. Isto resultou em menores concentrações de

esteróides no final do período de tratamento e taxas de concepção correspondentemente menores (43).

Progesterona exógena ou análoga a exemplo do MAP, quando administrada por 12 a 14 dias permite regressão do corpo lúteo, não ocorrendo o estro e a ovulação até que a progesterona exógena seja removida (44).

A aplicação de tratamentos de longa duração por 12 a 14 dias durante o anestro estacional parece ser totalmente desnecessária, devido à grande informação existente da dinâmica folicular em pequenos ruminantes. A partir de vários estudos utilizando protocolo de curta duração conclui-se que eles podem ser utilizados para indução do estro associado ao eCG durante o anestro estacional permitindo maior flexibilidade no trabalho a campo (21).

A utilização de protocolo de curta duração, utilizando diferentes progestágenos e eCG, foi eficaz na sincronização do estro e ovulação sem afetar as taxas de prenhez durante e fora da estação reprodutiva (45,47). De acordo com Rubianes & Menchaca (48) a utilização de progestágenos por um curto período assegura a presença de folículos grandes e jovens disponíveis no momento da ovulação na maioria das cabras.

O pré-tratamento com progesterona em cordeiras pode servir para induzir a puberdade em animais em anestro peripubertal como foi relatado no gado (49). Ademais, inibe a luteólise prematura diminuindo os níveis de receptores de ocitocina no endométrio, protege o corpo lúteo garantindo um CL totalmente funcional e desenvolvido (50) e retarda a onda de LH permitindo uma melhor maturação do folículo ovulatório e subsequente CL com função normal (51).

Aparentemente, o pré-tratamento de progesterona aumenta a proporção de animais com parição de primeiro serviço, aumentando a percentagem de animais no cio imediatamente depois do tratamento e, em alguns casos aumentando a taxa de concepção (40).

### **PGF2 $\alpha$ seus análogos sintéticos**

Durante a década de 70, foi acumulado um grande volume de informações sobre as prostaglandinas e suas ações. As prostaglandinas foram inicialmente detectadas no líquido seminal de carneiros, possivelmente secretadas pela próstata, daí a denominação de prostaglandinas (17).

A PGF2 $\alpha$  ou seus análogos sintéticos induzem lise do corpo lúteo (CL), diminuindo a concentração plasmática de progesterona com conseqüente aumento do estradiol, manifestação de cio e indução do pico de LH (18). Em ovelhas quando se administra prostaglandina a porcentagem de animais que apresentam manifestações de estro dentro de três a quatro dias é de 60-70% (21). Porém, um fator limitante para o uso das prostaglandinas é que as ovelhas estejam ciclando e apresentem um corpo lúteo funcional nos seus ovários, ou seja, estejam entre os dias cinco a 14<sup>o</sup> do ciclo (52).

Para obtenção de uma maior taxa de estro, é necessário a associação do progestágeno com a PGF2 $\alpha$  (10). Isso é justificado pelo fato de a PGF2 $\alpha$  e seus análogos produzirem efeito somente em gêmeas que apresentam corpo lúteo responsivo à sua ação, o que não ocorre normalmente no início da estação reprodutiva, quando nem todas as gêmeas estão no estro ou ciclando (53). A utilização de CIDR cinco dias antes de injeções de prostaglandinas resultou em estro sincronizado, uma maior concepção e taxas de prenhes em ovelhas que iniciaram ciclos estrais antes do tratamento (40).

### **Gonadotrofina coriônica equina**

O eCG é um hormônio glicoproteico utilizado para indução da ovulação em animais em anestro, durante a estação reprodutiva e na inseminação artificial em ovelhas (54). Essa gonadotrofina tem função semelhante ao FSH e LH, aumenta a ocorrência e velocidade da ovulação, favorece a fertilidade, aumenta a resposta das fêmeas ovinas à sincronização do estro, reduz o intervalo entre a remoção do implante e ovulação, e aumenta a incidência de partos gemelares (55).

Em ovelhas cíclicas a administração de eCG após o tratamento com progestágenos pode compensar os efeitos deletérios do tratamento longo com progestágenos na dinâmica folicular recrutando novos folículos e diminuindo o problema de baixa fertilidade (56).

Para realizar a sincronização do estro durante o anestro estacional, é necessário que o progestágeno seja acompanhado de eCG, o qual atua induzindo desenvolvimento de folículos durante os períodos de inatividade hipotalâmico-hipofisária. Esse procedimento permite cobrições ou inseminações no período de anestro, onde 80 e 90% das ovelhas ovulam entre 48 e 80 h após a retirada dos pessários, com concentração das ovulações entre 60 e 64 h (17).

### **3. CONCLUSÃO**

Progestágenos são métodos hormonais eficientes para sincronização do estro em ovelhas, podendo ser utilizados dentro da estação de monta e acompanhados de eCG fora da estação de monta. Atualmente vários trabalhos comprovam que tratamentos de curta duração com progesterona para sincronização do estro são tão eficientes como tratamentos de longa duração, com a vantagem de permitirem a reutilização e consequente diminuição nos custos do protocolo.

### **REFERÊNCIAS**

1. Viana JGA. Panorama Geral da ovinocultura no mundo e no Brasil. Rev Ovinos. 2008;4(12).
2. Madruga MS, Sousa WH, Rosales MD, Cunha MDG, Ramos JLF. Qualidade da carne de cordeiros Santa Inês terminados em diferentes dietas. R Bras Zootec. 2005; 344(1):309-15.
3. FAO. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. Estatísticas FAO, 2007. Disponível em: <[www.fao.org](http://www.fao.org)>. Acesso em: 10 de abril 2017.
4. IBGE. Brasil em Síntese. Agropecuária. Efetivos da pecuária. 2015. Disponível em: <<http://brasilemsintese.ibge.gov.br/agropecuaria/efetivos-da-pecuaria.html>>. Acesso em: 20 abril 2017.
5. Bezerra JA. Revolução Sertaneja. Rev Globo Rural. 2004;20(228): 20-6.
6. Simplício AAA. Caprino-ovinocultura na visão do agronegócio. Revista CFMV. 2001; 24(7);15-8.

7. Knights M, Hoehn T, Lewis PE, Inskip EK. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. *J Anim Sci.* 2001;79:1120-31.
8. Knights M, Maze TD, Bridges PJ, Lewis PE, Inskip EK. Short term treatment with a controlled internal drug releasing (CIDR) device and FSH to induce fertile estrus and increase prolificacy in anestrus ewes. *Theriogenology.* 2001;55:1181-91.
9. Martemucci G, D'alessandro AG. Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF $2\alpha$ , GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. *Anim Reprod Sci.* 2011;123:32-9.
10. Barret DMW, Bartlewski PM, Batista-Arteaga M, Symington A, Bawlings NC. Ultrassound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 UI of eCG following a 12 day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding season in ewe. *Theriogenology.* 2004;61(2):311-27.
11. Evans ACO, Flynn JD, Quinn KM, Duffy P, Quinn P, Madgwick S, Crosby TF, Boland MP, Beard AP. Ovulation of aged follicles does not affect embryo quality or fertility after a 14-day progestagen estrous synchronization protocol in ewes. *Theriogenology.* 2001;56(5):923-36.
12. Castilho C, Almeida MF, Costa MZ, Cesare AG, Filho LRA. Protocolos de indução e sincronização do estro em ovelhas. *Ciênc Anim Bras.* 2013;14(1):91-7.
13. Goodman RL. Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. In: Knobil E, Neill JD. *The Physiology of Reproduction.* 2<sup>a</sup> ed. New York: Raven Press; 1994. p.660-93.
14. Boland MP, Crosby FO, Callachan D. Artificial control of the breeding season in ewes. *Ir Vet J.* 1990;43:2-6.
15. Karsch FJ, Malpoux B, Wayne NL, Robinson JE. Characteristics of the melatonin signal that provide the photoperiodic code for timing seasonal reproduction in the ewe. *Reprod Nutr Dev.* 1988;28:459-72.
16. Tamanini C, Crowder MEE, Nett TM. Effects of estradiol and progesterone on pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized ewes. *Acta endocrinol.* 1986;11:172-8.
17. Moraes JCF, Souza CJH, Gonçalves PBD. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. IN: Gonçalves PBD, Figueiredo JR, Freitas VJF. *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal.* São Paulo: Varela; 2002. p.25-41.
18. Hafez B, Hafez ESE. *Reprodução animal.* 7<sup>a</sup> ed. Barueri: Manole; 2004. p.173-8.
19. Rosa HJD, Bryant MJ. Seasonality of reproduction in sheep. *Small Rumin Res.* 2003;48:155-71.

20. Rawlings NC, Bartlewski PM. Clinical reproductive physiology of ewes. In: Youngquist RS, Threlfall WR. *Current Therapy in Large Animal*. 2<sup>a</sup> ed. St. Louis: Elsevier Inc; 2007.
21. Rubianes E, Beard A, Dierschke DJ, Bartlewski P, Adams GP, Rawlings NC. Endocrine and ultrasound evaluation of the response to PGF2 $\alpha$  and GnRH given at different stages of the luteal phase in cyclic ewes. *Theriogenology*. 1997;48:1093-104.
22. Souza CJH, Moraes JCE, Chagas LM. Effect of the Booroola gene on time of ovulation and ovulatory dynamics. *Anim Reprod Sci*. 1994;37:7-13.
23. Evans ACO, Duffy P, Hynes N, Boland MP. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology*. 2000;53:699-715.
24. Duggavathi R, Bartlewski PM, Barrett DMW, Rawlings NC. Use of high-resolution transrectal ultrasonography to assess changes in numbers of small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of follicular waves in cyclic ewes. *Theriogenology*. 2003; 60:495-510.
25. Evans ACO. Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reprod Domest Anim*. 2003;38:240-6.
26. Seekallu SV, Toosi BM, Duggavathi R, Barrett DMW, Davies KL, Waldner C, Rawlings NC. Ovarian antral follicular dynamics in sheep revisited: comparison among estrous cycles with three or four follicular waves. *Theriogenology*, 2010;73:670-80.
27. Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC. An ultrasound-aided study of temporal relationships between the patterns of LH/FSH secretion, development of ovulatory-sized antral follicles and formation of corpora lutea in ewes. *Theriogenology*. 2000;54:229-45.
28. Bartlewski PM, Beard AP, Cook SJ, Chandolia RK, Honaramooz A, Rawlings NC. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *J Reprod Fertil*. 1999;115:111-24.
29. Gibbons JR, Kot K, Thomas DL, Wiltbank MC, Ginther OJ. Follicular and FSH dynamics in ewes with a history of high and low ovulation rates. *Theriogenology*. 1999;52:1005-20.
30. Duggavathi R, Bartlewski PM, Agg E, Flint S, Barrett DMW, Rawlings NC. The Effect of the Manipulation of Follicle-Stimulating Hormone (FSH)-Peak Characteristics on Follicular Wave Dynamics in Sheep: Does an Ovarian-Independent Endogenous Rhythm in FSH Secretion Exist? *Biol Reprod*. 2005;72(6):1466-74.

31. Niswender GD, Juengal JL, Silva PJ, Rollyson MK, Mcintosh EW. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev.* 2000;80:21-9.
32. Farin CE, Sawyer HR, Niswender GD. Analysis of cell types in the corpus luteum of the sheep. *J Reprod Fertil.* 1989;37:181-7.
33. Mann GE, Payne JH, Lamming GE. Hormonal regulation of oxytocin-induced prostaglandin F<sub>2</sub> secretion by the bovine and ovine uterus in vivo. *Domest Anim Endocrinol.* 2001;21:127-41.
34. Einer-Jensen N, Hunter RHF. Counter-current transfer in reproductive biology. *J Reprod Fertil.* 2005;129:9-18.
35. Douglas RH, Ginther OJ. Luteolysis following a single injection of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  in sheep. *J Anim Sci.* 1973;37:990-3.
36. Cline MA, Ralston JN, Seals RC, Lewis GS. Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotropin or P. G. 600 to estrus and ovulation in ewes. *J Anim Sci.* 2001;79(3):589-94.
37. Martin GB, Oldham CM, Cognie Y. The physiological responses of anovulatory ewes to introduction of rams - A review. *Livest Sci.* 1986;15:219-47.
38. Rosa HJD, Junipeer DT, Bryante MJ. The effect of exposure to oestrous ewes on rams behaviour, plasma testosterone concentration and ability to stimulate ovulation in seasonally anoestrous ewes. *Appl Anim Behav Sci.* 2000;67:293-305.
39. Filho AM. *Reprodução dos Animais e Inseminação Artificial.* 6 ed. Porto Alegre: Sulina; 1975.
40. Dixon AB, Knights M, Pate JL, Lewis PE, Inskip EK. Reproductive performance of ewes after 5-day treatment with intravaginal inserts containing progesterone in combination with injection of prostaglandin F<sub>2</sub>. *Reprod Domest Anim.* 2006;41:142-8.
41. Robinson TJ. *The control of the ovarian cycle in the sheep.* 1<sup>a</sup> ed. Sydney: University Press; 1967. p.258.
42. Gordon I. *Controlled Reproduction in Sheep and Goats.* New York: CAB International; 1997. p.450.
43. Vinales C, Forsberg M, Banchero G, Rubianes E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology,* 2001;55:993-1004.
44. Thwaites CJ. Exogenous progesterone and oestrous cycle length in the ewe. *J Anim Sci.* 1971;77:147-8.

45. Ungerfeld R, Rubianes E. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Rumin Res.* 2002;46(1):63-6.
46. Ustuner B, Gunay U, Nur Z, Ustuner H. Effects of long and short-term progestagen treatments combined with PMSG on oestrus synchronization and fertility in Awassi ewes during the breeding season. *Acta Vet Brno.* 2007;76(3):391-7.
47. Castilho C, Almeida MFA, Giometti IC, Costa MZ, Filho LRA, Cesare AG. Uso de benzoato de estradiol para induzir ovulação em Protocolo de curta duração para Inseminação Artificial em tempo fixo em ovelhas *Semin Cienc Agrar.* 2015;36:1419-24.
48. Rubianes E, Menchaca A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Anim Reprod Sci.* 2003;78(3-4):271-87.
49. Gonzalez-Padilla E, Ruiz R, Lefever D, Denham A, Wiltbank JN. Puberty in beef heifers. III. Induction of fertile estrus. *J Anim Sci.* 1975;40:1110-8.
50. Oldham CM, Pearce DT, Gray SJ. Progesterone priming and age of ewe affect the life-span of corpora lutea induced in the seasonally anovulatory Merino ewe by the 'ram effect'. *J Reprod Fertil.* 1985;75:29-33.
51. Sumbung FP, Williamson P, Carson RS. Response of prepubertal ewes primed with monensin or progesterone to administration of FSH. *J Reprod Fertil.* 1987;81:317-25.
52. Hoppe KF, Slyter AL. Effects of prostaglandin dosage on synchronizing ovine estrous using a modified single injection regimen. *Theriogenology.* 1989;31:1191-1200.
53. Uribe-Velásquez LF, Oba E, Lara-Herrera LC, Souza MIL, Villa-Velásquez H, Trinca LA, Fernandes CAC. Respostas endócrinas e ovarianas associadas com o folículo dominante da primeira onda folicular em ovelhas sincronizadas com CIDR ou PGF $2\alpha$ . *R Bras Zootec.* 2002;31:944-53.
54. Rubianes E, Castro T, Carbajal B. Effect of high progesterone levels during the growing phase of the dominant follicle of wave 1 in ultrasonically monitored ewes. *Can J Anim Sci.* 1996;76:473-75.
55. Combarrous Y, Salesse R, Garnier J. Physico-chemical properties of pregnant mare serum gonadotropin. *Biochim Biophys Acta.* 1981;667:267-76.
56. Zeleke M, Greyling LMJ, Schwalbach T, Erasmus JA. Effect of progestagen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in dorper ewes during the transition period. *Small Rumin Res.* 2005;56(1-3):47-53.

## SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES E OS EFEITOS NA PRODUÇÃO DE BOVINOS DE CORTE

Letícia Marques da Fonseca<sup>1</sup>  
Aline Maria Soares Ferreira<sup>2</sup>  
Dulio Henrique Abrão Gomide<sup>3</sup>  
Simone Pedro da Silva<sup>4</sup>

### RESUMO

Os lipídeos são substâncias orgânicas insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos que possui como principal função o fornecimento de energia ao metabolismo animal, sua disponibilidade em quantidade e qualidade está diretamente relacionado aos variados tipos de alimentos (carne e leite) e suas composições, bem como a forma em que será disponibilizada nas dietas dos animais. Ainda, sobre a utilização de lipídeos em dietas de bovinos de corte existe crescente preocupação da população em relação a deposição de gordura na carne e o perfil de ácidos graxos nestes alimentos, diretamente relacionados ao consumo e saúde humana. Dada à importância do tema, a presente revisão tem como objetivo descrever os efeitos das diferentes fontes de lipídios na alimentação de ruminantes, a dinâmica e biohidrogenação ruminal, deposição e perfis de ácidos graxos na carne, bem como atual tendência de mercado sobre o CLA.

**Palavras-chave:** Ácidos graxos, CLA, gorduras, óleos, carne.

### LIPID SUPPLEMENTATION IN RUMINANTS FEEDING AND EFFECTS ON BEEF CATTLE PRODUCTION

#### ABSTRACT

Lipids are organic substances that are insoluble in water and are soluble in organic solvents. The main function is the energy supply to animal metabolism, their availability in quantity and quality is directly related to the various types of food (meat and milk) and its compositions, as well as the way in which they are available in the diets of the animals. Also, on the use of lipids in diets of beef cattle there is a growing concern of the population regarding the deposition of fat in the meat and the profile of fatty acids in these foods, directly related to consumption and human health. Due to the importance of the theme, the present work aims to describe the effects of different sources of supplementary lipids in ruminant feed, ruminal dynamics and biohydrogenation, deposition and fatty acid profiles in meat, as well as the current market trend on the CLA.

---

<sup>1</sup>Graduando em Medicina Veterinária, FAMEV - UFU/ Uberlândia - MG. leticiavetufu80@gmail.com

<sup>2</sup>Pós-graduanda em Ciências Veterinárias, FAMEV - UFU/ Uberlândia - MG. alinemsferreira@hotmail.com

<sup>3</sup>Graduando em Medicina Veterinária, FAMEV - UFU/ Uberlândia - MG. duliohenrique@hotmail.com

<sup>4</sup>Docente em Nutrição Animal e Nutrição de Ruminantes, FAMEV - UFU/ Uberlândia - MG. simone.psilva@hotmail.com



**Keywords:** Fatty acids, CLA, fats, oils, meat.

## **SUPLEMENTACIÓN LIPÍDICA EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES Y LOS EFECTOS EN LA PRODUCCIÓN DE GANADO DE CORTE**

### **RESUMEN**

Los lípidos son sustancias orgánicas insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos que tienen como principal función el suministro de energía al metabolismo animal, su disponibilidad en cantidad y calidad está directamente relacionada con los variados tipos de alimentos (carne y leche) y sus composiciones, así como la forma en que estará disponible en las dietas de los animales. Además, sobre la utilización de lípidos en dietas de ganado de corte existe creciente preocupación de la población en relación a la deposición de grasa en la carne y el perfil de ácidos grasos en estos alimentos, directamente relacionados al consumo y la salud humana. Dada la importancia del tema, el presente trabajo tiene como objetivo describir los efectos de las diferentes fuentes de lípidos suplementarios en la alimentación de rumiantes, la dinámica y biohidrogenación ruminal, su deposición y perfiles de ácidos grasos en la calidad de la carne, así como la actual tendencia de mercado sobre CLA.

**Palabras claves:** Ácidos grasos, CLA, grasas, aceites, carne.

### **INTRODUÇÃO**

A pecuária de corte é um dos setores mais importantes do agronegócio, e sua contribuição na economia nacional é relevante. O Brasil é o maior produtor e maior exportador mundial de carne bovina, cerca de 7,37 milhões de cabeças foram abatidas sob algum tipo de serviço de inspeção sanitária e 247 mil toneladas de carne *in natura* foram exportadas no 1º trimestre de 2017 (1). Apesar de ser o maior exportador de carne bovina, a qualidade da carne produzida é considerada regular pelo mercado internacional, tendo como atrativo o preço baixo, mas sem vantagens na qualidade (2). Além disso, a produção é baseada em sistema extensivo, sendo o grupo genético mais utilizado o *Bos taurus indicus*, pelas suas características de adaptação ao clima. Segundo ABIEC (3) a atividade pecuária brasileira apresenta reduzida lucratividade por animal e por área, demonstrando a necessidade da intensificação dos sistemas de produção, tanto no pasto como no confinamento, uma vez que o aumento da densidade energética das dietas pode ser obtido através do uso de concentrados, processamento de grãos e/ou por meio de suplementação com lipídeos.

No entanto, a elevação da proporção de alimentos concentrados nas dietas aumentam as possibilidades de ocorrência de distúrbios metabólicos, como a acidose ruminal, sendo nestes casos, o uso de suplementação com lipídios uma estratégia nutricional interessante, que além de aumentar energeticamente a qualidade da dieta e a eficiência dos animais, contribui direta e indiretamente na fermentação ruminal, na produção de ácidos graxos de cadeia curta, na digestibilidade total da dieta, no fornecimento de ácidos graxos essenciais e também na modificação do perfil de ácidos graxos (AG) presentes na carne desses animais (4).

Ainda sobre a utilização de lipídeos nas dietas de bovinos de corte, nos últimos anos tem crescido a preocupação dos consumidores em relação à quantidade de gordura na carne e perfil de ácidos graxos encontrados nestes alimentos, pois estão diretamente relacionados ao consumo de alimentos saudáveis e a saúde humana. Segundo Martin et

al. (5) e Tanaka (6), os ácidos graxos essenciais desempenham importantes funções na estrutura das membranas celulares e nos processos metabólicos, como por exemplo, o ômega-3 (ácido  $\alpha$ -linolênico (C18:3 n-3)), responsável pela prevenção e tratamento de doenças do coração, câncer, artrite e mal de Alzheimer. Também o ômega-6 (ácido linoleico (C18:2 n-6)), possui importante papel fisiológico com funções estruturais das membranas celulares, permeabilidade de vasos, reação inflamatória e funções plaquetárias. Ademais, os ácidos linoleicos conjugados (CLA - C18:2 *cis*-9 *trans*- 11) possuem efeitos anticarcinogênicos, antiteratogênicos e imunoestimulantes.

Também nos últimos anos tem aumentado a preocupação com relação ao meio ambiente, no qual tem se buscado sistemas de produção animal cada vez mais sustentáveis. Nesse sentido, a suplementação lipídica na alimentação de ruminantes pode ser uma estratégia utilizada para reduzir a emissão de metano, uma vez que, a utilização de diferentes fontes lipídicas pode reduzir a emissão de metano através do aumento na proporção molar de propionato, no qual, a via de formação desse ácido graxo volátil utiliza H<sub>2</sub> (hidrogênio) do ambiente ruminal e com isso reduz a disponibilidade de H<sub>2</sub> para ser utilizada pelas *archaea* e bactérias para produção de metano (7).

A presente revisão tem como objetivo descrever os efeitos das diferentes fontes de lipídios suplementares na alimentação de ruminantes, a dinâmica e biohidrogenação ruminal, bem como os perfis de ácidos graxos presentes na carne bovina e a atual tendência de mercado pela presença de CLA e os seus benefícios na saúde humana.

## REVISÃO DE LITERATURA

### 1. Lipídeos e Funções

Os lipídeos são substâncias orgânicas insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos, sua principal função no metabolismo animal é o fornecimento de energia (8). Um grama de lipídio fornece 9,45 kcal/g de energia, enquanto que os carboidratos e proteínas fornecem, respectivamente, 4,15 e 5,65 kcal/g, um valor 2,25 vezes maior quando comparados (4).

Os principais constituintes dos lipídeos incluem ácidos graxos, glicerol, fósforo o que constitui os triglicerídeos e fosfolipídeos (8). Os ácidos graxos são classificados segundo o tamanho da cadeia (curto, média e longa) e a presença de insaturações ou não, os quais, ácidos graxos saturados são formados por ligações simples entre os carbonos, apresentam-se sólidos em temperatura ambiente e são encontrados em fontes de origem animal (gorduras), já os ácidos graxos insaturados possuem uma ou mais ligações duplas entre os carbonos, geralmente estão na forma líquidos em temperatura ambiente e são encontrados em alta concentração em óleos de origem vegetal (4). Ainda, segundo Berchielli et al. (4) a energia bruta dos ácidos graxos saturados aumenta com o comprimento da cadeia, em contrapartida, ácidos graxos insaturados diminui proporcionalmente o conteúdo de energia a partir do número de ligações duplas que possuem.

Os lipídeos, além de fornecer ácidos graxos essenciais ao organismo, também possuem funções como compostos armazenadores de energia na forma de triglicerídeos; são componentes de membranas celulares, juntamente com as proteínas, formando fosfolipídios e colesterol; possui funções especializadas como precursores de hormônios (melatonina); são responsáveis pelo transporte de vitaminas lipossolúveis (vitaminas A, D, E e K) (4); promovem a redução da emissão de metano (7, 9); além de influenciar na palatabilidade e textura dos alimentos (2).

Os ácidos graxos essenciais são requeridos pelo organismo animal, porém não são sintetizados, devendo ser adquiridos através da dieta, como por exemplo, ômega-3 (ácido  $\alpha$ -linolênico, C18:3 n-3), responsável pela prevenção e tratamento de várias doenças, e ômega-6 (ácido linoleico, C18:2 n-6), que possui importante papel fisiológico como constituinte de membranas celulares, permeabilidade de vasos, reação inflamatória e funções plaquetárias (5, 10).

Em humanos, a relação entre a concentração de ômega-6 e ômega-3 tem efeito benéfico para a saúde humana quando essa fica próxima de 4:1, respectivamente (11). De modo que, dietas baseadas em razões inferiores a 1:1 não são recomendadas, por inibirem a transformação do ácido linoleico (ômega-6) em ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, necessários por manter sob condições normais as membranas celulares, funções cerebrais e transmissão do impulso nervoso. Sendo que razões elevadas resultam na diminuição da produção do ácido eicosapentaenoico o que contribui para o desenvolvimento de doenças alérgicas, inflamatórias e cardiovasculares (5).

Segundo Martin et al. (5) a carne bovina fresca apresenta cerca de 4,1 mg/g de ácidos linoleico (ômega-6) e 0,4 mg/g de ácidos linolênico (ômega-3), encontrados em proporções superiores em carnes de peixes e frangos, ressaltando ainda que as quantidades são dependentes da dieta que esses animais ingerem. Estudos conduzidos por Garcia et al. (12) e Bressan et al. (13) identificaram que bovinos alimentados em pasto apresentam maior concentração de ômega-3 na carne, enquanto que os alimentados com grãos apresentam maior concentração de ômega-6, com razões entre a concentração de ômega-3 e 6 mais benéficas em animais alimentados com pasto.

## **2. Digestão, absorção e metabolismo dos lipídios em ruminantes.**

Os lipídeos constituintes dos alimentos ingeridos pelo animal, ao chegarem ao compartimento ruminal, vão sendo degradados conforme ocorre o processo fermentativo dos demais componentes vegetais, tais como fibras, proteínas e carboidratos, e ao serem liberados no rúmen, principalmente os triglicerídeos, sofrem ação das enzimas lipases que quebram as ligações ésteres e liberam glicerol e ácidos graxos livres (4, 6). O glicerol e açúcares são fermentados até ácidos graxos voláteis (AGV) pelo processo de hidrólise e alguns destes são utilizados por bactérias para a formação de fosfolipídeos, necessários para a parede celular (14). Já os ácidos graxos livres passam pelo processo de biohidrogenação, no qual bactérias inserem hidrogênios nas ligações duplas das cadeias carbônicas, saturando-as (4, 6, 14) e posteriormente seguem para absorção intestinal e deposição nos tecidos (Figura 1).

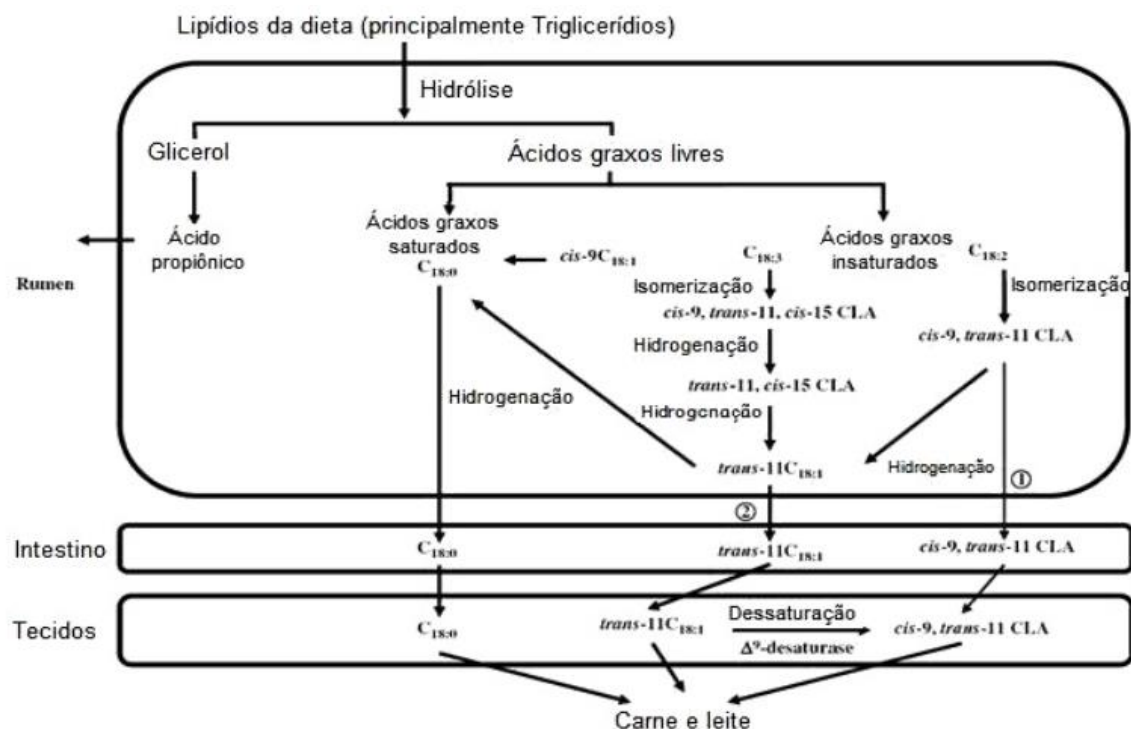


Figura 1. Metabolismo dos lipídios no rúmen e a origem dos ácidos linolênicos conjugados nos produtos de ruminantes (6).

Os principais ácidos graxos insaturados contidos nas dietas de ruminantes são os ácidos linoleico (18:2) e linolênico (18:3), os quais posteriormente à biohidrogenação completa deixam o rúmen na forma de ácido esteárico (18:0). Em situações em que a biohidrogenação dos ácidos graxos ocorre de forma incompleta, alterações resultam na formação de ácidos graxos *trans* (6). Apenas cerca de 10-35% desses ácidos graxos insaturados escapam do processo de biohidrogenação mantendo suas ligações duplas após passagem ruminal (14).

É importante ressaltar que os lipídeos não contribuem em energia para a formação de proteína microbiana, logo é de suma importância que haja o balanceamento nutricional afim de que, quando utilizada gordura na dieta, haja um incremento pelos carboidratos para fornecer tal energia demandada pela microbiota consumidora de glicose (4). Por outro lado, é válido considerar que até 17% dos lipídeos que passam pelo duodeno podem ser advindos da incorporação e produção pela microbiota ruminal (14).

A capacidade metabólica dos microrganismos ruminais na utilização dos lipídios é limitada, e não deve ultrapassar índices superiores a 6% de extrato etéreo (EE)/matéria seca (MS) da dieta para animais adultos e 3% para animais jovens (4). Índices superiores são maléficos para a digestão da fibra, visto que os ácidos graxos, principalmente os insaturados são tóxicos para os microrganismos ruminais, em especial às bactérias celulolíticas, além de que os lipídios também promovem o recobrimento das partículas alimentares dificultando a adesão das bactérias celulolíticas à fibra (14).

De acordo com Mertens (15), o consumo de matéria seca (CMS) é responsável por 60 a 90% das variações de desempenho animal e, conseqüentemente, o peso dentre outras características de carcaça, enquanto 10 a 40% são relacionadas à digestibilidade dos componentes nutritivos. Dessa forma, é importante que ao adicionar fontes lipídicas na dieta, não ocorra influência negativa do CMS, a menos que haja melhoria na conversão e eficiência alimentar.

Ao chegar ao intestino, o bolo alimentar é banhado pela bile e suco pancreático, ocorrendo o processo chamado de lipólise, em que os triglicerídeos são quebrados em diacilgliceróis, monoacilgliceróis e ácidos graxos livres, que ao serem absorvidos vão para o retículo endoplasmático e resintetizados em triacilgliceróis, e alguns são incorporados aos quilomícrons e lipoproteínas de baixa densidade (VLDL), que vão para a circulação sistêmica via corrente linfática (4,14).

A síntese de lipídeos nos ruminantes, ao contrário dos monogástricos, tem como precursor da maioria dos ácidos graxos, o acetato proveniente da fermentação ruminal, e se difere também pelo local da síntese das gorduras, visto que o local de produção é no próprio tecido adiposo dos ruminantes, em quatro sítios distintos, gordura interna (abdominal, renal-inguinal e pélvica), intermuscular (entre os grupos musculares), subcutânea (de cobertura) e intramuscular (marmoreio) (16).

Para a lipogênese, o acetato será convertido à Acetil-Coa, reação catalisada pela Acetil-coa sintetase, enzima de baixíssima ação no fígado e alta ação nos adipócitos, após uma sequência de reações bioquímicas, o primeiro ácido graxo formado é o ácido palmítico, o qual sofre incrementação carbônica, sendo convertido em esteárico e posteriormente dessaturado e convertido à ácido oleico, o qual é o principal ácido graxo da gordura intramuscular. (4, 16)

O termo ácido linoleico conjugado, conhecido como CLA denomina o conjunto de isômeros posicionais e geométricos do ácido octadecadienóico com duplas ligações conjugadas (i.e. duas duplas ligações separadas por uma ligação simples), que podem ser encontradas nas posições dos carbonos 9 e 11, 10 e 12 ou 11 e 13, entre outros, em configurações *cis* e *trans* (10). Segundo Bridi et al. (2) e Tanaka (6), o CLA *cis*-9, *trans*-11 encontrado na gordura da carne de ruminantes é oriundo de duas fontes, primeiramente, pela biohidrogenação parcial do ácido linoléico no rúmen, catalizado pela enzima ácido linoléico catalase, através da ação de microrganismos presentes no rúmen, e uma segunda fonte, é sintetizado nos tecidos animais, a partir do ácido graxo *trans*-vacênico (C18:1 *trans*), pela ação da enzima estearoil coenzima A dessaturase ( $\Delta^9$  dessaturase).

A relação de ômega-6:ômega-3 encontrada nas carnes de ruminantes, especialmente na carne de animais criados a pasto, são particularmente mais equilibradas devido ao consumo abundante de vegetais que contém altos níveis de ácidos graxos poliinsaturados (13, 17), que escapam do rúmen para serem absorvidos no intestino delgado e/ou favorecidos pelo pH ruminal próximo de 6,8, formam sabões de cálcio no rúmen, evitando que ocorra o processo de biohidrogenação (18). Relação esta particularmente desequilibrada em animais confinados, devido à utilização de concentrados com espécies oleaginosas, ricas em ômega-6 (5).

### 3. Fontes lipídicas para os ruminantes

Várias fontes lipídicas vêm sendo utilizadas no Brasil, dentre elas as sementes oleaginosas, tais como grão de soja e caroço de algodão, com elevado conteúdo em triglicerídeos, óleos de origem vegetal, ricos em AG insaturados (óleo de milho, soja, algodão, canola, girassol, amendoim) e AG saturados (óleo de palma e o óleo de coco), e gorduras protegidas (de palma ou de soja), com funções de absorção no intestino delgado, para atender as exigências em energia e possibilitar melhores desempenhos nos animais.

Para nutrição de ruminantes, em função do risco de transmissão da doença da Vaca Louca (Encefalopatia Espongiforme Bovina - EEB), fontes de origem animal,

ricas em ácidos graxos saturados, como o sebo, são proibidas no Brasil, porém, permitidos em outros países (19).

### 3.1. Forragens

O principal sistema de produção de bovinos no Brasil é a pasto, aproximadamente 170 milhões de hectares de pastagens, onde cerca de 70 a 80% são formadas por espécies do gênero *Brachiaria* (20), que possuem lipídeos principalmente na forma de fosfolipídios e galactolipídeos, além de ceras, carotenóides, clorofila, óleos essenciais e outras substâncias solúveis, em teores entre 1,5 a 4% de EE na MS (4,8).

Estudos recentes demonstraram que algumas espécies forrageiras apresentam teores variados e elevados de ácido linoleico e linolênico que podem potencializar a presença de conjuntos de isômeros geométricos de ácido linoleico (CLA) na carne de bovinos produzidos em pasto (12,13,17,21), demonstrando que o consumo deste produto pode impactar positivamente na saúde humana (5).

Bovinos alimentados com dietas exclusivas de pasto apresentam carnes com melhor valor nutricional, pois geram maiores quantidades de ácidos graxos poliinsaturados da classe ômega-3 e antioxidantes, como a vitamina E, que quando presente tende a reduzir as modificações na cor da carne e oxidação lipídica (22).

Menezes et al. (23) relataram que animais terminados exclusivamente em pastagem tropical apresentam carcaça de menor qualidade em relação aos terminados em pastagem com forrageiras de inverno ou em confinamento. Estudo conduzido por Bressan et al. (13) avaliaram o perfil lipídico no músculo *Longissimus thoracis* de bovinos terminados com pasto ou com suplementação de grãos e constataram que a utilização de grãos, aumentou a deposição de gordura intramuscular e apresentou perfis de ácidos inferiores aos animais terminados com pasto. Também foram identificadas diferenças de acordo com o grupo genético dos animais, nos quais animais *Bos indicus* apresentaram maior deposição de CLA do que animais *Bos taurus*.

Rossato et al. (24) ao avaliarem a influência da alimentação a pasto em animais da raça Nelore e Angus, encontraram na gordura intramuscular de animais Nelore maior deposição de ácidos graxos poliinsaturados, bem como, maior deposição de ácidos graxos intermediários da biohidrogenação (C18:1 *trans* e C18:2 *trans* 11), sugerindo possível diferença entre esses animais no metabolismo da biohidrogenação, no qual bovinos Nelore podem ter maior aporte de ácido linoleico e linolênico, seguido de maior produção de ácidos graxos intermediários da biohidrogenação, ou maior quantidade desses ácidos pode escapar do rúmen sem sofrer biohidrogenação, resultando em carne nutricionalmente mais saudável que aos dos animais Angus, com menores percentuais de colesterol e maiores quantidades de ômega-3 e CLA, embora menos macia. Ressaltando, que o perfil de ácidos graxos na carne bovina é influenciado não somente pela alimentação, mas também pelo genótipo, sexo e idade dos animais (25).

### 3.2. Sementes Oleaginosas

A soja é a principal fonte proteica utilizada na alimentação animal (38 a 40% PB), podendo ser utilizada para ruminantes na forma de grão inteiro, casca ou farelo e também estrategicamente utilizada como fonte lipídica com níveis de até 20% de extrato etéreo (26).

As preparações da soja em formas farelada e casca passam pela degradação ruminal, onde a porção lipídica é degradada e modificada pelo processo de

biohidrogenação, havendo certa perda de energia pela atuação das bactérias ruminais (27). Por outro lado, a soja grão na forma crua, tostada ou extrusada se apresenta como uma fonte de extrato etéreo parcialmente protegido da degradação ruminal, devido sua cobertura fibrosa natural da casca, que envolve os grãos oleaginosos, alterando potencialmente a taxa de passagem ruminal e a liberação do óleo no rúmen (28), favorecendo a digestão a nível intestinal com melhor aproveitamento diretamente pelo animal, conhecida como “bypass”.

Cônsolo (27) em estudo avaliando os efeitos de dietas sem o uso de grãos (controle) e com inclusões de 8, 16 e 24% de grão de soja cru integral na matéria seca total de bovinos de corte, observou efeito linear decrescente no CMS, de modo que em dietas com maiores concentrações de grãos os animais tiveram menor aceitabilidade no cocho. Houve crescente consumo de EE de acordo com a inclusão do grão e efeito quadrático no consumo de proteína bruta, com queda linear no pH ruminal e concentrações de nitrogênio amoniacal ruminal maiores para os animais que receberam a dieta controle. Porém, sobre desempenho e atributos de carcaça não foram observados efeitos de acordo com a dieta, afirmando que o grão de soja cru integral pode substituir o farelo de soja em sua totalidade, sem que haja prejuízo.

Segundo Felton & Kerley (29) o uso do grão de soja cru integral na dieta de bovinos mestiços confinados com dieta de alto teor de concentrado apresentou queda no CMS por 58 dias iniciais de confinamento, no entanto essa queda também não refletiu em menor desempenho, mostrando melhoria na conversão alimentar desses animais. Por outro lado, Albro et al. (30) ao suplementar bovinos cruzados com quatro dietas (sem suplementação lipídica, grão de soja cru, grão de soja extrusado e farelo de soja+cevada) observaram aumento no CMS com a inclusão do grão de soja cru e extrusada, resultando em maior ganho de peso médio diário (GMD). É importante ressaltar que a diminuição no consumo de matéria seca, verificada em vários estudos, pode estar relacionada ao aumento da densidade energética da dieta resultando assim no melhor desempenho.

Outra semente oleaginosa muito utilizada na alimentação de bovinos de corte devido seu perfil lipídico é o caroço de algodão. O caroço de algodão é composto por cerca de 23% PB, 45% de FDN, 81% de NDT, e cerca de 20% de EE (26), considerado um produto proteico-energético, o caroço de algodão pode ser oferecido cru, quebrado ou inteiro, sendo esta última característica interessante em dietas com alta proporção de concentrado, por estimular a ruminação (31).

Aferri et al. (32) observaram que a inclusão de 21% de caroço de algodão na dieta de novilhos mestiços não influenciou o peso corporal e rendimento de carcaça. Estudo com bovinos Brangus alimentados com 30% de caroço de algodão houve aumento na espessura de gordura subcutânea, sem aumento na área de olho de lombo, demonstrando que a adição de caroço de algodão aumentou a deposição de gordura (33). Segundo Huerta-Leidenz et al. (34) a adição de 30% de caroço de algodão na alimentação de novilhos da raça Hereford, além de promover aumento nas gorduras perinefricas desses animais, também foram observados pequenos aumentos no teor de ácidos graxos poliinsaturados totais linoleicos

Bassi et al. (35) afirma que a inclusão de caroço de algodão moído em dietas para bovinos em confinamento deve ser feita com cautela, por provocar redução no consumo de matéria seca e no ganho médio diário. No entanto, a eficiência alimentar não é afetada pela adição de oleaginosas na dieta de bovinos de corte quando o nível máximo de extrato etéreo na matéria seca total da dieta não exceder 6%. Sendo importante atentar para a granulometria dos alimentos que irão influenciar diretamente na fermentação ruminal. Neste caso, citado por Bassi et al. (35), o caroço de algodão

moído disponibiliza alta quantidade de lipídeos de forma rápida ao rúmen, excedendo a capacidade das bactérias, favorecendo a ocorrência de distúrbios metabólicos e quedas na produção.

O uso do caroço de algodão em inclusões de 30% na MS da dieta também pode aumentar o teor de oxidação lipídica das carnes, que acarretam descoloração, odores e sabores desagradáveis, além de reduzir o tempo de armazenamento, tornando-se um produto desagradável para o consumidor (36).

Diante dessa preocupação, a associação de caroço de algodão e vitamina E, um potente antioxidante, na alimentação de tourinhos Nelore confinados foi testado sobre a qualidade e as características sensoriais da carne. Foi possível verificar que o teor de ácidos graxos monoinsaturados *trans* e seu principal isômero 18:1-*trans*10 foi mais alto na carne dos animais alimentados com caroço de algodão e vitamina E (4,5%) do que nos animais alimentados somente com caroço de algodão (2,6%), enquanto que a concentração do ácido vacênico (18:1-*trans*11) apresentou situação oposta para estas duas dietas (37). Resultados estes diferentes do encontrado por Juárez et al. (38) em que a vitamina E amenizou o estresse oxidativo, resultando em menor produção de AG *trans*.

Outro fator a ser considerado sobre a utilização do caroço de algodão é devido fator antinutricional gossipol, os quais ruminantes possuem certa capacidade de anular os efeitos tóxicos, através dos microrganismos do rúmen. Porém alguns estudos mostraram redução da fertilidade de reprodutores, redução na qualidade do sêmen, interferência no ciclo estral das fêmeas e interrupção do desenvolvimento embrionário precoce com o uso do caroço de algodão (39), tendo necessária cautela a sua utilização, para essas categorias animais. Segundo Piau Júnior et al. (40), não foram observados efeitos negativos na reprodução e desempenho de novilhas Nelore, desde que o nível de gossipol não ultrapasse 1.500 ppm.

### 3.3. Óleos

Devido à proibição da utilização de alimentos de origem animal na alimentação de ruminantes no Brasil, os óleos de origem vegetal se tornaram a principal fonte de gordura na formulação de dietas de bovinos. Os principais óleos utilizados são de soja, milho, algodão, amendoim, linhaça, dentre outros. Esses óleos promovem inibição da etapa final do processo de biohidrogenação quando em proporções superiores a 6% de EE na MS da dieta total, aumentando significativamente a concentração de ácido vacênico (*trans* 11- C18:1), sendo este, substrato para atuação da enzima  $\Delta^9$  dessaturase (redutase) nos tecidos para síntese endógena de CLA (4,6,10).

Segundo Choi et al. (41), a suplementação com óleo rico em AG saturados (óleo de palma) para ruminantes tende a aumentar o escore de marmoreio e a síntese de lipídeos, a partir de glicose e acetato, sendo 11,7%, 145,2 e 153,45% respectivamente maior que nos animais suplementados com óleo rico em AG insaturados (óleo de soja), além de aumentar em 30,41% o volume dos adipócitos, devido ao alto teor de ácido palmítico na composição dos AG saturados e a rápida conversão em ácido esteárico. Ressaltando ainda a toxicidade dos microrganismos ruminais aos óleos insaturados, como um dos fatores que ocasionaram a redução no ganho médio diário, eficiência alimentar e a ingestão de matéria seca dos animais.

Oliveira et al. (42) utilizaram lipídeos na forma de grãos e óleo de soja em bubalinos e constataram que o óleo de soja influenciou negativamente na digestibilidade da fibra, afirmando que além do nível de extrato etéreo (até 6% EE/MS da dieta), a fonte influencia na digestibilidade e no desempenho animal. Choi et al. (41) sugerem



que a adição de até 3% de lipídios na forma líquida pode ser uma prática razoável em confinamentos bovinos.

Segundo Carvalho et al. (9) a suplementação com óleo de linhaça pode aumentar o fluxo de ácidos graxos insaturados para o duodeno e causar redução da ingestão de matéria seca por prejudicar a fermentação ruminal, contudo não foram observadas redução na ingestão de matéria seca com o uso de óleo de linhaça, como foi constatado com a utilização do óleo de palma. Atribuindo essa diminuição da ingestão a uma maior proporção de ácidos insaturados totais no soro sanguíneo, que ativam o centro do hipotálamo na saciedade.

Os mesmos autores ainda demonstraram que não houve decréscimo na população de bactérias celulolíticas com o incremento de ácidos graxos insaturados, o mesmo não aconteceu com a população de bactérias metanogênicas, que devido às altas quantidades de ácido láurico (C12:0) na gordura protegida, estes causaram danos nas membranas dessas bactérias, reduzindo sua população no ambiente ruminal. Constatando também, maior concentração de propionato e menor proporção de acetato:propionato nos animais alimentados com óleo de palma e óleo de linhaça, devido maior atividade de bactérias produtoras de propionato em relação às fibrolíticas, explicado pela diminuição da proporção de bactérias metanogênicas, limitando a quantidade de H<sub>2</sub> para seu metabolismo (9).

O uso de óleos, além de promover o aumento da densidade energética das rações, para animais criados em regiões de clima quente, pode reduzir o incremento calórico produzido pela fermentação dos alimentos, sendo estrategicamente utilizados para redução de estresse por calor e aumento da palatabilidade das rações. Estudo conduzido por Malafaia et al. (43), bovinos em estresse térmico reduziram o tempo de pastejo, o que levou a redução na ingestão de alimento em até 30% e tiveram maior frequência respiratória do que os animais sem estresse térmico. Nesse sentido, o uso de suplementação lipídica, torna-se uma estratégia interessante, pois ao evitar o déficit energético, resultante da queda de consumo nessas condições, evita também redução do desempenho desses animais e melhora o estresse térmico.

### **3.4. Gorduras Protegidas**

Devido os prejuízos nutricionais advindos da presença excessiva de lipídios no metabolismo ruminal, é crescente a utilização de gordura protegida de óleo de soja (AG insaturados) ou de óleo de palma (AG saturados) na alimentação de ruminantes, que nada mais é, do que ácidos graxos de cadeia longa na forma de sais de cálcio, onde sua dissociação ocorre em ambiente ácido, como nas condições encontradas no abomaso (pH 2 - 3), chegando inalterados no intestino delgado do animal, sendo absorvidos e levados à circulação sanguínea (44).

A inclusão de gordura inerte da degradação ruminal pode aumentar densidade calórica da dieta sem comprometer da degradação da fibra, possibilitando maior ingestão e melhor eficiência de utilização da energia. Em experimento, Aferrri et al. (32) utilizando 36 novilhos mestiços recebendo dietas com 81% de concentrado, divididos em controle (sem fonte adicional de lipídeos), 5% de sais de cálcio de AG insaturados e 21% de caroço de algodão, não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos quanto ao peso final, ganho médio diário, eficiência e conversão alimentar, porém a ingestão de matéria seca foi menor para o tratamento com sais de cálcio em relação ao caroço de algodão.

Segundo Jaeger et al. (45) resultados positivos foram encontrados com a utilização da gordura protegida em experimento testando dietas com e sem a inclusão da

gordura protegida, rica em AG insaturados, para bovinos machos castrados cruzados (Nelore, Canchin x Nelore, Limousin x Nelore e Aberdeen-Angus x Nelore). Os autores verificaram que a gordura protegida promoveu os melhores resultados, sendo que o maior GMD ficou associado às menores médias de consumo de matéria seca e conversão alimentar, evidenciando que o aporte de energia fornecido por lipídeos, mesmo deprimindo o consumo, eleva o desempenho produtivo em confinamento, e que os animais que receberam 5,0% de gordura protegida na dieta apresentaram maior área de olho de lombo em relação ao grupo não suplementado com gordura.

Nascimento (46) ao avaliar os efeitos da adição de óleo de soja protegido e um *blend* de óleo vegetal protegido, contendo uma mistura de ácidos graxos saturados e insaturados, sobre o desempenho e qualidade de carne de bovinos Nelore confinados, observou melhor eficiência alimentar nos animais com *blend* misto, conseqüentemente com redução na ingestão de MS e maiores ganhos de peso, em comparação aos animais do tratamento com óleo de soja protegido. Além de que, a carne dos animais que consumiram o *blend* misto teve aumento de 13 kg no peso de carcaça quente, maiores teores de AG insaturados e de ácidos graxos hipocolesterolêmicos, concluindo, que a utilização da mistura das duas fontes de ácidos graxos protegidos, pode ser mais eficiente do que o uso exclusivo de uma única fonte.

Com o uso de dietas com altas quantidades de concentrados, o pH ruminal geralmente se mantém acidificado, fazendo com que ocorra a dissociação dos sais de cálcio no rúmen e conseqüentemente a biohidrogenação ruminal se torna passível, diminuindo assim, o efeito esperado com a utilização de gorduras inertes (44). Segundo Bianchi (47) o pKa das gorduras protegidas está entre o pH 4,5 e 5,2 o que significa que neste pH ruminal metade dos sais cálcicos estão dissociados e metade ainda está ligado ao cálcio (inerte), quanto menor for o pH, maior será a liberação de ácidos graxos. Berchielli et al. (4) afirmam que a gordura protegida de óleo de palma tem pKa de 4,6 ou seja, mesmo em momentos de baixíssimo pH ruminal não haverá grande dissociação de ácidos graxos no rúmen, já o pKa da gordura protegida de óleo de soja se encontra mais próximo ao pH 5,2, o que faz com que este produto seja mais dissociável mesmo em pH ruminal mais alto. No entanto, ambas as fontes podem ser empregadas nas rações dos bovinos, preferencialmente, quando atenderem a produtividade previamente estabelecida e/ou apresentarem preços economicamente vantajosos.

#### **4. Utilização de fontes lipídicas na alimentação de bovinos de corte e seus efeitos no perfil de ácidos graxos na carne**

O Brasil se destaca no cenário mundial de carne como um dos maiores produtores, porém sua qualidade não é considerada a melhor, sendo o preço baixo, comparado a outros mercados um dos atrativos para exportações (2). Ainda segundo Bridi et al. (2), o termo qualidade de carne é bastante amplo e abrange aspectos sensoriais (cor, suculência, sabor, odor, maciez), funcionais (pH, capacidade de retenção de água), nutricionais (quantidade de gordura, perfil dos ácidos graxos, grau de oxidação, porcentagem de proteínas, vitaminas e minerais), sanitários (ausência de agentes contagiosos como tuberculose, encefalopatia espongiiforme bovina, salmonelose), segurança alimentar (livre de antibióticos, hormônios, dioxina ou outras substâncias contaminantes), éticos (bem-estar do homem e animal), preservação ambiental (se o modo de produção não afeta a sustentabilidade do sistema ou provoca poluição ambiental) e sociais (não utiliza de mão de obra infantil e escrava).

Nos últimos anos, os consumidores estão cada vez mais preocupados com a saúde e se atentando com os alimentos que consomem e como isso pode afetar sua saúde,

diante desse fato, a descoberta de que a gordura CLA de origem animal, através do consumo de leite e carne, inibe o crescimento tumoral (48), contribuiu para o avanço das pesquisas. Dentre as várias propriedades do CLA, a redução na deposição de gordura corporal é observada em várias espécies, sendo o isômero *trans*-10 e *cis*-12 os principais responsáveis (33), além de efeitos como diminuição da aterosclerose humana, antidiabéticas, anti-inflamatórias e antioxidantes (49,50).

Estudos com pessoas acima do peso ou obesas tem mostrado que a ingestão diária de 3,4 g de CLA produz uma diminuição na massa total de gordura sem afetar outros parâmetros metabólicos, tais como contagem de glóbulos vermelhos e da quantidade de massa magra. As informações obtidas sobre o efeito do CLA na redução do peso corporal sugerem que os ácidos graxos afetam a interconversão metabólica de ácidos graxos a produzir uma ativação da lipólise, provavelmente pela ativação de beta-oxidação mitocondrial (51).

Segundo diversos autores a dieta oferecida aos animais é o principal influenciador das quantidades de CLA, presentes tanto no leite (de 3,4 a 6,4 mg) como na carne (de 2,7 a 5,6 mg). Tais estudos demonstram que a carne de bovinos terminados a pasto possui valores de CLA superiores, em relação a carnes de bovinos terminados em confinamento com dietas principalmente compostas por grãos (12,13,17,21), o que se deve ao aumento de produção de ácido vacênico no rúmen de animais consumindo exclusivamente pasto e redução na produção C18:1 *trans* 10 que é formado no rúmen de animais alimentados com grãos, produto esse que não leva a produção de CLA no tecido adiposo (Figura 2).

Trabalho conduzido por Garcia et al. (12), teve como objetivo avaliar os efeitos da dieta sobre a composição de gordura intramuscular de novilhos alimentados com quatro diferentes dietas (somente pasto; pasto com suplementação de grãos (0,7% do peso corporal (PC)); pasto com suplementação de grãos (1,0% do PC) e em confinamento) e verificaram que as concentrações de CLA foram afetadas pelas diferentes dietas fornecidas, onde os animais a pasto apresentaram maior porcentagem na carne, quando comparados àqueles confinados. French et al. (21) também observaram que o músculo *Longissimus dorsi* de ruminantes alimentados com gramíneas apresentou maior produção de CLA, de duas a três vezes mais, quando comparada com a carne dos ruminantes alimentados em confinamento com dietas ricas em grãos.

Cerca de 70 a 80% do CLA presente na carne de ruminantes é oriundo da dessaturação endógena do ácido vacênico (18:1 *trans* 11) catalizado pela enzima endógena  $\Delta^9$  dessaturase, no tecido adiposo, sendo que o ácido vacênico é formado em maiores quantidades no rúmen de animais alimentados em pasto, enquanto que o 18:1 *trans* 10 é formado em maiores quantidades naqueles alimentados com grãos, e não forma CLA endógeno (4,6,52).

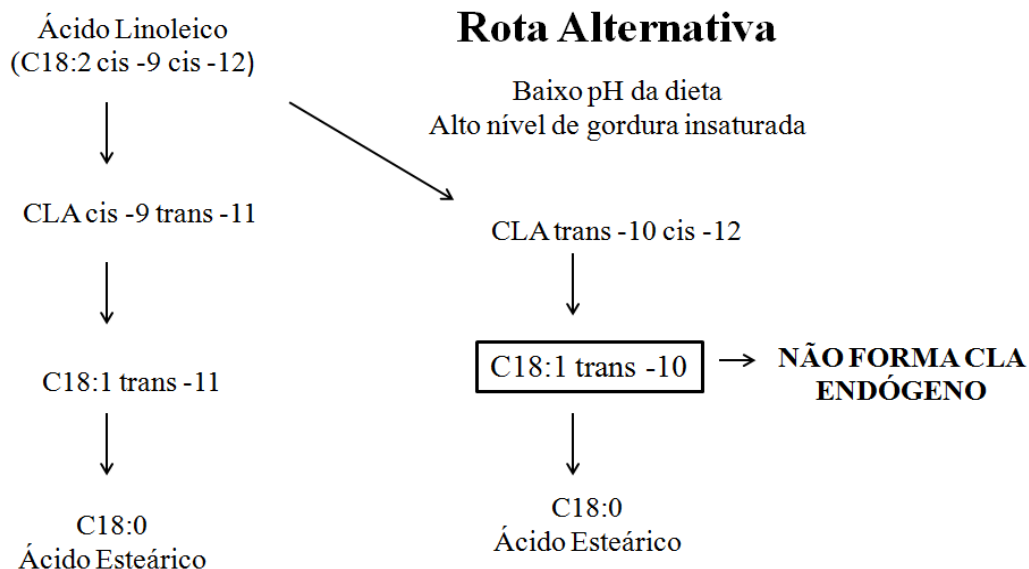


Figura 2. Biohidrogenação ruminal do ácido linoléico e formação do CLA *trans*-10 *cis*-12 no rúmen (52).

Contudo, para essas características benéficas do CLA na alimentação e saúde humana, o mercado será promissor para aqueles que buscarem o aperfeiçoamento de técnicas, além de excelentes padrões de qualidade. Entretanto, carcaças com elevado CLA não possuem pagamento diferenciado, quando comparamos a demais carcaças, porém, perspectivas futuras, demonstram o CLA como tendência às exigências do mercado consumidor.

Estudo conduzido por De la Fuente et al. (53) analisou a carne de bovinos alimentados a pasto e em confinamento quanto ao teor de ácidos graxos e vitamina E e verificou que os animais alimentados exclusivamente com pasto tiveram maiores níveis de ácido linolênico (ômega-3), vitamina E e menor valor da fração ômega-6/ômega-3, enquanto os animais alimentados em confinamento obtiveram maior teor de ácidos graxos ômega-6.

Animais alimentados principalmente a pasto aumentam seu teor de ômega-3 na carne em 60% e também produzem uma proporção mais favorável de ômega-6:ômega-3 (12,13,21,24). A possível explicação de animais criados a pasto terem maior concentração de ômega-3 na carne se deve a alta concentração desse ácido graxo presente nas forragens (Tabela 1). Sendo que, apesar de grandes proporções destes AG serem biohidrogenados no rúmen e transformados em C18:0, quantidades significativas escapam do rúmen para serem absorvidas intactas no intestino delgado, uma possível explicação é que o revestimento de organelas intactas (por exemplo, cloroplastos nas gramíneas) forneçam proteção natural aos AG insaturados (54). Além de que, o pH ruminal de animais criados em pasto fica próximo de 6,8 o que favorece a formação de sabões de cálcio no rúmen e evita que ocorra a biohidrogenação (18). Segundo Enser et al. (54) a manutenção de níveis elevados de ômega-3 em carnes de ruminantes através da alimentação de forrageiras pode ser vantajosa para nutrição humana, uma vez que a carne bovina é amplamente consumida.

Tabela 1. Composição em ácidos graxos de ingredientes utilizados na alimentação de ruminantes (55).

ALIMENTOS	Ácidos Graxos (g/100g de ácidos graxos)					
	C14:0 Ác. Mirístico	C16:0 Ác. Palmítico	C18:0 Ác. Esteárico	C18:1 Ác. Oléico	C18:2 Ác. Linoléico	C18:3 Ác. Linolênico
Milho (silagem)	0,46	17,83	2,42	19,24	47,74	8,25
Feno (gramíneas)	0,43	16,44	1,33	2,53	23,38	49,90
Milho (grão)	2,33	13,21	1,99	24,09	55,70	1,62
Algodão (Caroço)	0,69	23,91	2,33	15,24	56,48	0,19
Soja (óleo)	0,11	10,83	3,89	22,82	53,75	8,23
Palma (óleo)	0,40	54,50	4,10	32,30	8,12	0,58

### 5. Utilização de fontes lipídicas na alimentação de bovinos de corte como estratégia para reduzir emissão de metano.

Com o aumento da preocupação com o meio ambiente houve crescente busca de sistemas de produção animal cada vez mais sustentáveis, nesse sentido a suplementação lipídica na alimentação de ruminantes pode ser uma estratégia utilizada para reduzir a emissão de metano. A porcentagem de redução pode variar de acordo com a fonte lipídica, tamanho da cadeia do ácido graxo e também a composição da dieta como um todo (9). Beauchemin et al. (56) relatam redução de 5,6% em produção de metano por cada unidade percentual de lipídeo adicionado à dieta. Kurihara et al. (57) em trabalho com bovinos da raça Brahman com fornecimento de três tipos de dietas: feno de baixa qualidade, feno de alta qualidade, ou dieta rica em grãos, notou-se que as dietas à base de volumoso apresentaram perdas energéticas na forma de metano em torno de 10,9%, enquanto que em dietas de grãos apenas 6,7%.

Segundo Fiorentini (58) novilhos castrados da raça Nelore alimentados com óleo de linhaça e soja grão apresentou a mesma eficiência alimentar das dietas com gordura protegida e sem adição de lipídios, com uma redução média de 57% na emissão de metano quando comparadas.

Carvalho et al. (9) afirma que uso de óleo de palma, óleo de linhaça e gorduras protegidas contribui para reduzir a emissão de metano em novilhos Nelore, redução essa que se deve em alguns aspectos pela diminuição de bactérias metanogênicas, ao efeito tóxico sobre as bactérias celulolíticas e alguns protozoários, características essas que favorecem a maior formação de propionato, aumentando a captação de H<sub>2</sub>, como também ocorre o desvio de íons hidrogênio, substrato para as bactérias metanogênicas.

Segundo Knapp et al. (7) e Carvalho et al. (9), os ácidos graxos de cadeia média se mostram mais eficazes na redução da produção do metano por terem características que inibem as bactérias celulolíticas em relação aos outros ácidos graxos. No caso de bovinos alimentados com pasto, a maturidade da forrageira afeta a eficiência na redução da emissão de metano, ao passo que quanto maior o grau de maturidade das forrageiras, maior o teor de fibras, menor a digestibilidade, conseqüentemente maior é a emissão de metano (59). Ressaltando a importância de que além do uso de suplementação lipídica como estratégia para redução de metano, o manejo das pastagens é também uma

estratégia, no qual forragens mais novas possuem teores de extrato etéreo superiores, que contribuem para redução de metano e conseqüentemente favorece para um sistema de produção mais sustentável.

## 6. CONCLUSÕES

A suplementação lipídica na alimentação de bovinos de corte melhora a eficiência alimentar, conseqüentemente com redução na ingestão de MS, maiores ganhos de peso e considerável redução na emissão de metano, favorecendo para um sistema de produção eficiente e sustentável.

A alimentação fornecida aos bovinos influencia na qualidade e no perfil de ácidos graxos presentes nos produtos finais desses animais. No qual, sistemas a pasto tem se mostrado mais eficiente na produção de CLA, aumento do teor de ômega-3 e na relação ômega-6:ômega-3, comparada aos demais alimentos, como grãos, sendo tais características promissoras para o futuro mercado consumidor de carnes bovinas no mundo.

## REFERÊNCIAS

1. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores IBGE - Estatística da Produção Pecuária. Junho 2017. Brasília; 2017 [acesso 12 jul. 2017]. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\_Pecuaria/Fasciculo\_Indicadores\_IBGE/abate-leite-couro-ovos\_201701caderno.pdf>.
2. Bridi AM, Constantino C, Tarsitano MA. Qualidade de carnes de bovinos produzidos em pasto. Palestra SIMPASTO; 2011 [acesso 12 jul. 2017]. Disponível em: <http://www.uel.br/grupo-esquisa/gpac/pages/arquivos/Qualidade%20da%20Carne%20de%20Bovinos%20Produzidos%20em%20Pasto.pdf>.
3. ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne, APEX Brasil - Agência Brasileira de Promoção de Exportações e Investimentos, Brazilian Beef Naturally Good. Perfil da Pecuária no Brasil - Relatório Anual 2016. São Paulo; 2016 [acesso 12 jul. 2017]. Disponível em: <http://www.newsprime.com.br/img/upload2/2016\_FolderPerfil\_PT.pdf>.
4. Berchielli TT, Pires AV, Oliveira SG. Nutrição de Ruminantes. 2 ed. Jaboticabal-SP: FUNEP – Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão; 2011.
5. Martin CA, Almeida VV, Ruiz MR, Visentainer JEL, Matshushita M, Souza NE, et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. Rev Nutr. 2006;19(6):761-70.
6. Tanaka K. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. J Anim Sci. 2005;76:291-303.
7. Knapp JR, Laur GL, Vadas PA, Weiss WP, Tricarico JM. Enteric methane in dairy cattle production: quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. J Dairy Sci. 2014;97:3231-61.

8. Van Soest PJ. Nutritional ecology of the ruminant. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press; 1994.
9. Carvalho IPC, Fiorentini G, Castagnino PS, Jesus RB, Messana JD, Granja-Salcedo YT, et al. Supplementation with lipid sources alters the ruminal fermentation and duodenal flow of fatty acids in grazing Nellore steers. *Anim Feed Sci Technol.* 2017;227:142-53.
10. Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog Lipid Res.* 2001;40(4):283-98.
11. World Health Organization/FAO. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva: World Health Organization; 2003.
12. Garcia PT, Pensel NA, Sancho AM, Latimori NJ, Kloster AM, Amigone MA, et al. Beef lipids in relation to animal breed and nutrition in Argentina. *Meat Sci.* 2008;79:500-8.
13. Bressan MC, Rossato LV, Rodrigues EC, Alves SP, Bessa RJB, Ramos EM, et al. Genotype X environment interactions for fatty acid profiles in *Bos indicus* e *Bos taurus* finishes on pasture or grain. *J Anim Sci.* 2011;89:221-32.
14. Medeiros SR, Gomes RC, Bungenstab DJ. Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações. Brasília - DF: EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; 2015.
15. Mertens DR. Regulation of forage intake. In: Fahey Junior GC. Forage quality, evaluation and utilization. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p.450-493.
16. Polizel Neto A, Branco RH, Bonilha SFM, Gomes HFB, Corvino TLS. Papel dos Ácidos Graxos Voláteis na Deposição de Tecido Adiposo Intramuscular - revisão; 2008 [acesso 16 jul. 2017]. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2008\\_3/AcidosGraxos/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2008_3/AcidosGraxos/index.htm)>.
17. Nuernberg K, Dannenberger D, Nuernberg G, Ender K, Voigt J, Scollan ND, et al. Effect of a grass-based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of different cattle breeds. *Livest Prod Sci.* 2005;94:137-47.
18. Sãnuo C, Enser ME, Campo MM, Nute GR, Maris G, Sierra I, et al. Fatty acid composition and sensory characteristics of lamb carcasses from Britain and Spain. *Meat Sci.* 2000;54(4):339-46.
19. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 8, de 25 de Março de 2004. Brasília; 2004 [acesso 15 jul. 2017]. Disponível em:

<<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=178957228>>.

20. Andrade RP. Pasture seed production technology in Brasil. In: International Grassland Congress; 2001, São Pedro-SP. Piracicaba: FEALQ; 2001. p.129-132.
21. French P, Stanton C, Lawless F. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage or concentrate-based diets. *J Ani Sci.* 2000;78(11):2849-55.
22. Daley CA, Abbott A, Doylel OS, Nader GA, Larson S. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutr J.* 2010;9(10):1-12.
23. Menezes LFG, Restle J, Brondani IL, Silveira MF, Freitas LS, Pizzuti LAD. Características da carcaça e da carne de novilhos superjovens da raça Devon terminados em diferentes sistemas de alimentação. *R Bras Zootec.* 2010;39(3):667-76.
24. Rossato LV, Bressan MC, Rodrigues EC, Gama LT, Bessa RJB, Alves SPA. Parâmetros físico-químicos e perfil de ácidos graxos da carne de bovinos Angus e Nelore terminados em pastagem. *R Bras Zootec.* 2010;39(5):1127-34.
25. De Lima Júnior DM, Rangel AHN, Urbano AS, Maciel MV, Amaro LPA. Alguns aspectos qualitativos da carne bovina: uma revisão. *Acta Veterinaria Brasilica.* 2011;5(4):351-8.
26. Valadares Filho SC, Costa e Silva LF, Lopes AS, Prados LF, Chizotti ML, Machado PAS, et al. BR-CORTE 3.0- Cálculo de exigências nutricionais, formulação de dietas e predição de desempenho de zebuínos puros e cruzados. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa; 2016.
27. Cònsolo NRB. Utilização do grão de soja cru integral na dieta de bovinos de corte confinados [dissertação]. Pirassununga: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2011.
28. Barletta RV. Grão de soja cru e integral na alimentação de vacas leiteiras [dissertação]. Pirassununga: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2010.
29. Felton EED, Kerley MS. Performance and carcass quality of steers fed whole raw soybeans at increasing inclusion levels. *J Anim Sci.* 2004;82:725-32.
30. Albro JD, Weber DW, DelCurto T. Comparison of whole, raw soybeans, extruded soybeans, or soybean meal and barley on digestive characteristics and performance of weaned beef steers consuming mature grass hay. *J Anim Sci.* 1993;71:26-32.



31. Costa QPB, Wechsler FS, Costa DPB, Polizel Neto A, Roça RO, Brito TP. Desempenho e características da carcaça de bovinos alimentados com dietas com caroço de algodão. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2011;63(3):729-35.
32. Aferri G, Leme PR, Silva SL, Putrino SM, Pereira ASC. Desempenho e características de carcaça de novilhos alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. *R Bras Zootec.* 2005;34(5):1651-8.
33. Pagea AM, Sturdivant CA, Lunt DK, Smitha SB. Dietary whole cottonseed depresses lipogenesis but has no effect on stearoyl coenzyme desaturase activity in bovine subcutaneous adipose tissue. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 1997;118(1):79-84.
34. Huerta-Leidenz NO, Cross HR, Lunt DK, Pelton LS, Savell JW, Smith SB. Growth, carcass traits, and fatty acid profiles of adipose tissues from steers fed whole cottonseed. *J Anim Sci.* 1991;69(9):3665-72.
35. Bassi MS, Ladeira MM, Chizzotti ML, Chizzotti FHM, Oliveira DM, Machado Neto, et al. Grãos de oleaginosas na alimentação de novilhos zebuínos: consumo, digestibilidade e desempenho. *R Bras Zootec.* 2012;41(2):353-9.
36. Ferrinho AM. Caroço de algodão integral e vitamina E em dietas para bovinos Nelore confinados por 83, 104 e 111 dias [dissertação]. Pirassununga: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2016.
37. Ferrinho AM, Furlan JJM, Mueller LF, Furlan MLN, Zanatta M, Justo M, et al. Deposição de gordura, composição de ácidos graxos e qualidade de carne. In: Gobesso AAD, Brunetto MA, Rodrigues PHM, Albuquerque R. *Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal.* Pirassununga: 5D Editora, 2015. p.121-47.
38. Juárez M, Dugan MER, Aalhus JL, Aldai N, Basarab JA, Baron VS, et al. Dietary vitamin E inhibits the trans10–18:1 shift in beef backfat. *Can J Anim Sci.* 2010;90:9-12.
39. Gadelha ICN, Rangel AHN, Silva AR, Soto-blanco B. Efeitos do gossipol na reprodução animal. *Acta Veterinaria Brasilica.* 2011;5(2):129-35.
40. Piau Júnior R, Ribeiro EA, Quessada AM, Ribeiro EA, Almada AFB. Efeitos do gossipol em diferentes níveis na dieta de novilhas Nelore. *Rev Bras Med Vet.* 2016;38:120-6.
41. Choi SH, Gang GO, Sawyer JE, Johnson BJ, Kim KH, Choi CW, et al. Fatty acid biosynthesis and lipogenic enzyme activities in subcutaneous adipose tissue of feedlot steers fed supplementary palm oil or soybean oil. *J Anim Sci.* 2012;91(5):2091-8.
42. Oliveira RL, Assunção DMP, Barbosa MAAF, Ladeira MM, Silva MMP, Mascarenhas AG, et al. Efeito do fornecimento de diferentes fontes de lipídeos na

dieta sobre o consumo, a digestibilidade e o N-uréico plasmático de novilhos bubalinos em confinamento. *R Bras Zootec.* 2007;36(3):733-8.

43. Malafaia P, Barbosa JD, Tokarnia CH, Oliveira CMC. Distúrbios comportamentais em ruminantes não associados a doenças: origem, significado e importância. *Pesq Vet Bras.* 2011;31(9):781-90.
44. Andrade EN. Influência da utilização de lipídio protegido na dieta sobre o perfil de ácidos graxos e qualidade da carne de bovinos jovens Nelore-Angus [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2010.
45. Jaeger SMPL, Dutra AR, Pereira JC, Oliveira ISC. Características da carcaça de bovinos de quatro grupos genéticos submetidos a dietas com ou sem adição de gordura protegida. *R Bras Zootec.* 2004;33(6):1876-87.
46. Nascimento FA. Gordura protegida com diferentes perfis de ácidos graxos na alimentação de bovinos nelore confinados [dissertação]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 2017.
47. Bianchi AE. Gordura protegida de óleo de palma na alimentação de ovelhas Lacaune em lactação [dissertação]. Dois Vizinhos: Universidade Tecnológica Federal do Paraná; 2014.
48. Ip C, Scimeca JÁ, Thompson HJ. Conjugated Linoleic Acid – A powerful anticarcinogen from animal fat sources. *Cancer.* 1994;74(3):1050-4.
49. Belury MA. Inhibition of carcinogenesis by conjugated linoleic acid: potential mechanisms of action. *J Nutr.* 2002;132(10):2995-8.
50. Bhattacharya A, Banu J, Rahman M, Causey J, Fernandes G. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *J Nutr Biochem.* 2006;17(12):789-810.
51. Sanhueza JC, Nieto SK, Velenzuela AB. Acido linoléico conjugado: un ácido graso com isozeria trans potencialmente benéfico. *Rev Chil Nutr.* 2002;29(2):98-105.
52. Bauman DE, Corl BA, Peterson DG. The biology of conjugated linoleic acid in ruminants. In: Sébédio JL, Christie WW, Adlof R. *Advances in conjugated linoleic research.* Champaign: AOCS Press, 2003. p.146-173.
53. De la Fuente J, Díaz MT, Álvarez I, Oliver MA, Font I, Furnols M, Sañudo C, et al. Fatty acid and vitamin E composition of intramuscular fat in cattle reared in different production systems. *Meat Sci.* 2009;82(3):331-7.
54. Enser M, Hallett KG, Hewett B, Fursey GAJ, Wood JD, Harrington G. Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle in relation to production system and implications for human nutrition. *Meat Sci.* 1998;49(3):329-41.

55. Araújo DB. Depressão da gordura do leite: efeito das fontes de ácidos graxos da dieta – Parte 1. São José do Rio Preto; 2016 [acesso 16 ago. 2017]. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/nutricao/depressao-da-gordura-do-leite-efeito-das-fontes-de-acidos-graxos-da-dieta-parte-i-100917n.aspx>>.
56. Beauchemin KA, Kreuzer M, O'Mara F, McAllister TA. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Aust J Exp Agr.* 2008;48:21-7.
57. Kurihara M, Magner T, Hunter RA, Mccrabb GJ. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *Br J Nutr.* 1999;81:227-34.
58. Fiorentini G. Fontes lipídicas na terminação de novilhos Nelore confinados [dissertação]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 2013.
59. Hegarthy RS. Nutricional Management options to reduce enteric methane emissions from NSW beef and dairy herds. In: Brouwer D, Griffiths N, Blackwood L. ‘The grass is greener’ Proceedings of the 24th Annual Conference of the Grassland Society of NSW Inc. Orange: The Grassland Society of NSW Inc. 2009. p.40-45.

## USO DE TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA NA AVALIAÇÃO REPRODUTIVA DE TOUROS E EFEITOS DE FATORES CLIMÁTICOS NA QUALIDADE DE SÊMEN

Talita Raquel Cavichioli Sebastião<sup>1</sup>  
Camila Dutra de Souza<sup>2</sup>  
Gabriela Figueredo Cornacini<sup>1</sup>  
Fernanda Luíza Guinossi Barbosa Deak<sup>2</sup>  
Eunice Oba<sup>3</sup>  
Marcelo George Mungai Chacur<sup>4</sup>

### RESUMO

A medicina veterinária encontra-se num período de inovação quando se diz respeito ao uso de tecnologias que auxiliam e forneçam informações seguras e eficientes como uma alternativa de suporte aos mais diferentes objetivos aplicados na produção animal, prezando pela saúde, bem-estar e conforto dos animais. Na modalidade digital, a termografia por infravermelho é um moderno exame de imagem com acurácia, de prática realização, sem efeitos colaterais, não invasivo, com digitalização da imagem em tempo real e validado internacionalmente, sendo um método eficaz aos meios de diagnósticos e usada para a avaliação de temperaturas em estudos de termorregulação testicular em touros. Na reprodução de bovinos de corte, com estação de monta na primavera e verão, a qualidade do sêmen deve ser mantida para que a taxa de prenhez seja otimizada, para isso é preciso investigar os efeitos das estações seca e chuvosa sobre as características físicas e morfológicas do sêmen, uma vez que mudanças climáticas abruptas podem comprometer a espermatogênese e reduzir a eficiência reprodutiva de touros. O objetivo dessa revisão é ressaltar a importância da utilização da termografia por infravermelho como um método auxiliar em estudos sobre termorregulação escrotal e a influência das estações do ano nas características do sêmen. A literatura consultada demonstrou que os fatores climáticos atuam de forma intensa na fertilidade de touros criados no clima tropical; e que o monitoramento do estresse de causa térmica pode ser realizado com termografia infravermelha, e o termograma do escroto auxilia na seleção de reprodutores com termorregulação satisfatória, a qual resulta na boa qualidade do sêmen produzido.

**Palavras-chave:** termografia escrotal, espermatogênese, características do sêmen, estação do ano.

---

<sup>1</sup> Graduanda de Medicina Veterinária da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE.  
Correspondência: talita\_\_cavichioli@hotmail.com

<sup>2</sup> Pós-Graduando do Programa de Ciência Animal da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE.

<sup>3</sup> Professora, FMVZ-UNESP, Botucatu-SP

<sup>4</sup> Docente da Medicina Veterinária e do Programa de Pós-Graduação de Ciência Animal da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE

## **USE OF INFRARED THERMOGRAPHY IN EVALUATION REPRODUCTIVE OF BULLS AND EFFECTS OF CLIMATIC FACTORS ON THE QUALITY OF SEMEN**

### **ABSTRACT**

Veterinary medicine is in a period of innovation when it concerns the use of technologies that assist and provide information secure and efficient as an alternative of support for the different objectives applied in animal production, taking care of the health, well-being and comfort of animals. In the case of digital, thermography infrared measurement is a modern imaging examination with accuracy of practice implementation, without side effects, non-invasive, with scanning of the image in real time and validated internationally, being an effective method to means of diagnosis and used for the evaluation of temperatures in studies of testicular thermoregulation in bulls. In the reproduction of beef cattle, with breeding season in spring and summer, the quality of the semen must be maintained so that the pregnancy rate is optimized, for this it is necessary to investigate the effects of dry and rainy seasons on the physical and morphological characteristics of the semen, since climate change abrupt may impair spermatogenesis and reduce the reproductive efficiency of bulls. The objective of this review is to highlight the importance of using thermography infrared measurement as an auxiliary method in studies on thermoregulation scrotum and the influence of the seasons in semen characteristics. The literature consulted showed that the climatic factors act intensely in the fertility of bulls raised in the tropical climate; And that thermal stress can be monitored with infrared thermography, and the scrotal thermogram assists in the selection of breeder with satisfactory thermoregulation, which results in the good quality of the semen produced.

**Keywords:** scrotal thermography, spermatogenesis, semen characteristics, season of the year.

## **USO DE LA TERMOGRAFÍA INFRARROJA EN LA EVALUACIÓN DE LOS TOROS Y LOS EFECTOS DE FACTORES CLIMÁTICOS SOBRE LA CALIDAD DEL SEMEN**

### **RESUMEN**

Medicina veterinaria está en un período de innovación cuando se refiere a la utilización de tecnologías que ayudar y proporcionar la información de forma segura y eficaz como una alternativa de apoyo para los diferentes objetivos, aplicado en la producción animal, teniendo el cuidado de la salud, el bienestar y la comodidad de los animales. En el caso de medición digital, la termografía de infrarrojos es un moderno examen por imágenes con precisión de aplicación práctica, sin efectos secundarios, no invasivo, con el análisis de la imagen en tiempo real y validados internacionalmente, siendo un método eficaz de medios de diagnóstico y utilizado para la evaluación de las temperaturas en los estudios de la termorregulación testicular en toros. En la reproducción de ganado vacuno, con la temporada de cría en primavera y verano, la calidad del esperma debe mantenerse para que la tasa de embarazo es optimizado, para ello es necesario para investigar los efectos de la seca y la lluviosa en el plano físico y las características morfológicas del semen, ya

que el cambio climático abrupto puede afectar la espermatogénesis y reducir la eficiencia reproductiva de los toros. El objetivo de esta revisión es resaltar la importancia del uso de la termografía infrarroja como medida de un método auxiliar en estudios sobre la termorregulación del escroto y la influencia de las estaciones en las características del semen. La literatura consultada demostró que los factores climáticos actúan de forma intensa en la fertilidad de los toros creados en el clima tropical; y que el monitoreo del estrés de causa térmica puede ser realizado con termografía infrarroja, y el termograma del escroto auxilia en la selección de reproductores con termorregulación satisfactoria, la cual resulta en la buena calidad del semen producido.

**Palabras clave:** termografía escrotal, la espermatogénesis, características del semen, la temporada del año.

## ASPECTOS DA REPRODUÇÃO DE TOUROS

A justificativa da presente revisão de literatura é de apresentar alguns pontos relevantes da ação dos fatores climáticos e do uso de termografia infravermelha na reprodução de touros criados no clima tropical. O estresse térmico é a principal causa de degeneração testicular em bovinos.

A monta natural ainda é o método de acasalamento mais utilizado no Brasil e a fertilidade dos touros é um importante fator que deve ser considerado quando se objetiva o sucesso reprodutivo. Kastelic & Thundathil (1) salientam que nenhuma medida ou critério isolado prediz de forma confiável a fertilidade de um touro e desta forma, vários critérios devem ser avaliados, como a realização do exame andrológico para a escolha de touros aptos à atividade reprodutiva, teste de libido, mensuração da circunferência escrotal, entre outros. Atualmente tem sido estudado como um método auxiliar ao exame andrológico, a utilização da termografia digital por infravermelho na avaliação da termorregulação testicular, que está associada diretamente a qualidade do sêmen.

Diversos fatores afetam as características fisiológicas e morfológicas do sêmen de touros nos trópicos, dentre eles o que exerce maior influência é a variação sazonal. Segundo Kastelic et al. (2), um moderado aumento da temperatura testicular em touros submetidos à insulação escrotal reduz drasticamente a concentração espermática, a motilidade espermática progressiva, a quantidade de espermatozoides viáveis por ejaculado e aumenta a porcentagem de espermatozoides com patologias. Mudanças climáticas que afetam a espermatogênese podem levar a baixa eficiência reprodutiva de touros (3,4).

## TERMOGRAFIA DIGITAL POR INFRAVERMELHO

### Definição

A termografia digital por infravermelho é um exame de imagem que de forma indireta auxilia no estudo do estresse térmico em animais. A análise de imagens termográficas por infravermelho, onde é possível visualizar gradientes de temperatura, tem sido utilizada para identificar eventos fisiológicos em animais e humanos (5).

Gade & Moeslund (6) destacam as vantagens da utilização da termografia digital por infravermelho quando comparadas a outras tecnologias, tais como: não produzir efeitos colaterais aos corpos examinados, podendo ser utilizada de maneira repetida e contínua; realizar comparação de temperatura entre áreas distintas, por fornecer imagens térmicas bidimensionais; é um exame indolor e não invasivo, não sendo preciso o contato físico entre a câmera termográfica e a superfície examinada; além de permitir a digitalização de imagens das fontes de calor e de corpos em movimentos em tempo real.

### **Termografia digital por infravermelho da bolsa escrotal de touros**

A termografia por infravermelho é um método de avaliação da superfície do escroto na qual, as anormalidades são reconhecidas pela análise dos padrões de temperatura e identificação de áreas com aumento ou redução de temperatura superficial (7). Tem sido realizados estudos em touros, com termografia por infravermelho, com dois enfoques principais: estudar a correlação entre as temperaturas das distintas áreas da superfície da pele escrotal com a qualidade do sêmen produzido pelos reprodutores, colaborando com informações para a seleção dos animais mais adaptados ao clima de um determinado local; e verificar a influência e a correlação dos fatores climáticos na temperatura da superfície da pele escrotal em reprodutores criados em diferentes coordenadas geográficas (8).

A termografia de infravermelho pode ser usada em animais com diferentes objetivos, entre eles como um exame complementar de diagnóstico por imagem, onde a diferença de 1°C entre duas regiões anatomicamente simétricas indica a presença de processo inflamatório ativo; para ampliar as ferramentas da semiologia, com acurácia na mensuração da temperatura em áreas com suspeita de inflamação; em estudos que envolvam o bem-estar animal, monitorando os animais em bases regularmente pré-determinadas (8). Kunc et al. (9) relata que a termografia tem sido utilizada para detectar afecções na forma subclínica, que cursam com elevação da temperatura, com média de duas semanas de antecedência em relação ao quadro do tipo clínico. Alguns fatores influenciam a temperatura da superfície da pele dos animais, devendo ser observados conforme o objetivo da realização do exame por termografia. Deve ser considerado a composição da alimentação fornecida aos animais, o grau de atividade física prévia ao exame, como alimentação e recreação. Pêlos espessos na região de medição de temperatura também pode ser um dos fatores que afetam a imagem. O ambiente no qual a imagem termográfica for capturada não deve estar sob luz solar direta, pois afetará a temperatura da pele dos animais, assim como para os ventos diretos no corpo dos animais em exame. A câmera apresenta uma calibração de temperatura, que deve ser ajustada de acordo com a temperatura ambiente no dia da avaliação. (10).

A temperatura da superfície do escroto está altamente correlacionada com a temperatura dos testículos e a termografia por infravermelho com o uso de termovisor da superfície do escroto, traz acuradas informações sobre a termorregulação dos testículos (7). A termorregulação testicular é um fenômeno complexo e que envolve mecanismos locais, desta forma, a manutenção térmica da pele do escroto pode ser afetada pela temperatura do ambiente, variação anatômica, umidade, quantidade de calor dissipado por radiação do escroto, temperatura corporal, integridade do escroto e grau de obesidade do animal (11,13).

Os mecanismos fisiológicos da termorregulação quando limitados e insuficientes, causam um aumento da temperatura, que culmina em estresse térmico, promovendo uma diminuição da performance reprodutiva nos bovinos, principalmente nos meses mais quentes do ano. A exposição dos testículos a elevadas temperaturas ambientais reduz a qualidade seminal, libido e fertilidade desses animais (14,15).

O corpo reage ao estresse térmico de várias maneiras que envolvam fisiologia, metabolismo e mudanças endocrinológicas que podem afetar indiretamente os testículos, Kastelic et al. (16) utilizou a termografia digital por infravermelho para estudar a influência de duas temperaturas ambientes diferentes na termorregulação testicular. A temperatura escrotal superficial mostrou-se influenciada pela temperatura externa com aumento de 2,5°C quando alterava a temperatura ambiente de 15°C para 25°C.

Menegassi et al. (17) estudando o uso da termografia por infravermelho em touros Braford nas estações do ano concluíram que a mesma pode ser utilizada como um método indireto de visualização de gradientes de temperatura testicular e suas consequências nos aspectos físicos e quantitativos do sêmen (Figura 1).

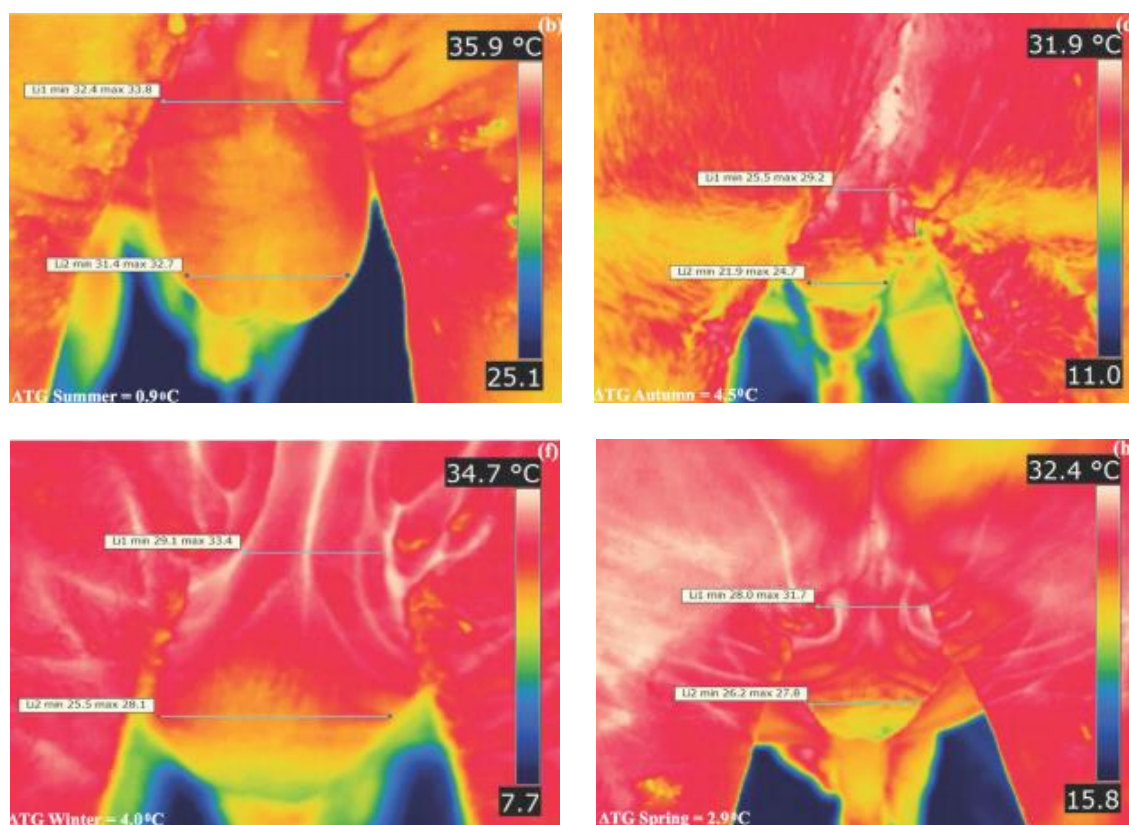


Figura 1 – Imagens de Termografia por infravermelho do mesmo animal coletada durante diferentes estações do ano (17).

A temperatura dos testículos do touro entre 4 a 5°C abaixo da temperatura retal é essencial para a produção eficaz de sêmen. Efeitos adversos da temperatura testicular elevada, são relatados na produção e qualidade do sêmen, reduzindo a fertilidade nos ruminantes (18,19). Mecanismos locais, como a troca de calor por contracorrente, regulação do fluxo sanguíneo, posição dos testículos e sudorese, desempenham um papel importante na manutenção da temperatura testicular (18,20).



## INFLUÊNCIA DAS ESTAÇÕES DO ANO NAS CARACTERÍSTICAS DO SÊMEN

A relação ambiente e animal deve ser considerada quando se busca maior eficiência na exploração pecuária, pois as distintas respostas do animal às particularidades de cada região são fundamentais no sucesso da atividade. Assim a correta identificação dos fatores que influem na vida reprodutiva, como o estresse impostos pelas flutuações estacionais do meio ambiente, possibilita ajustes nas práticas de manejo de produção permitindo oferecer uma maior viabilidade, sendo preponderante o conhecimento das variáveis climáticas e as interações com os animais, assim como as respostas reprodutivas, comportamentais e fisiológicas (21).

Diversos fatores afetam a reprodução animal, entre eles a temperatura ambiente e umidade relativa do ar (22), de modo que a variabilidade constatada na qualidade do sêmen de touros está intimamente correlacionada com alterações ambientais de diferentes origens. Galina & Arthur (23), em uma revisão sobre aspectos reprodutivos em touros nos trópicos, destacam a importância da variação sazonal sobre a concentração espermática e percentagem de espermatozoides com defeitos morfológicos, indicando que baixa qualidade de sêmen em alguns animais pode ser devido ao desconforto destes perante condições ambientais desfavoráveis. Taylor et al. (24) citam que a habilidade de touros para produção de sêmen está na dependência das interações ambiente – espermatogênese, sendo assim, para estudar a espermatogênese em altas temperaturas ambientais, Skinner & Louw (25) utilizaram touros jovens *Bos taurus* e *Bos indicus* e buscaram verificar o local e a natureza do dano no ciclo espermatogênico. As características espermáticas dos touros *Bos indicus* foram menos afetadas que a dos touros *Bos taurus*, em função da maior adaptabilidade da espécie indiana a elevadas temperaturas.

Vários mecanismos podem estar associados pelos afeitos adversos induzidos pelo calor sobre as células da linhagem espermatogênica (26). A hipóxia e o estresse oxidativo tem a capacidade de desencadear a apoptose e a morte celular nos espermatozoides (27). O aumento da temperatura testicular desencadeia a elevação do metabolismo e da demanda de oxigênio celular, no entanto, o fluxo sanguíneo permanece constante, acarretando um quadro de hipóxia no parênquima testicular (28). A hipóxia por sua vez tende a aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), conferindo uma disfunção mitocondrial. O excesso de ROS causa danos a qualidade do sêmen interferindo na capacidade fecundante dos espermatozoides (29,30).

As análises consideram que um sêmen de qualidade é aquele que apresenta duas características importantes: motilidade progressiva e baixa taxa de espermatozoides com patologias, uma vez que a motilidade é responsável pelo alcance do espermatozoide até a célula feminina para que ocorra a fecundação, e a presença da normalidade espermática, é fundamental não só pela fecundação propriamente dita, mas como também a qualidade do embrião, em função do qual se evitam as perdas embrionárias no início da gestação (31).

Muitos estudos sobre os efeitos do estresse térmico no desempenho reprodutivo de touros são conduzidos por simulação do ambiente natural com câmaras bioclimáticas ou por insulação escrotal (32,33). No entanto, poucos estudos têm avaliado a qualidade do sêmen durante a época de monta em situações de alto estresse térmico devido as dificuldades na realização dos experimentos em ambiente natural (34-36). Todos os

estágios da espermatogênese são sensíveis a elevação de temperatura, o grau do dano observado, vai depender da extensão e da duração do insulto térmico (37). Rahman et al. (26) observaram que a elevação da temperatura testicular de touros via insulamento escrotal, ocasionou defeitos na remodelação da cromatina dos espermatozoides, que podem estar relacionados a falta de protaminação do DNA.

### **Influência das estações seca e chuvosa sobre as características seminais**

Considerando a predominância da criação extensiva e a monta natural fez se necessário a investigação dos fatores climáticos e da influência dos efeitos das estações do ano sobre as características do sêmen de touros mantidos á campo (38). Sendo assim, Silva (39) fez uma comparação entre touros de raças zebuínas e taurinas, criados em condições ambientais semelhantes e observou que o volume dos ejaculados era maior nos períodos chuvosos, entretanto, os touros das raças zebuínas apresentaram qualidade espermática inferior no período da seca.

Estudos com touros de ambas as subespécies analisando temperatura e umidade do ar associado com qualidade morfológica espermática, foi encontrado por Koivisto et al. (40) um aumento da percentagem de espermatozoides anormais em elevadas temperaturas e umidade relativa do ar, já Silva et al. (41) encontraram menores quantidades de doses de sêmen por ejaculado de dezembro a fevereiro em *Bos taurus taurus*, o que foi relacionado ao estresse provocado pelo calor sofrido no período anterior a colheita do sêmen. Segundo Fonseca et al. (42), ao estudarem a raça Nelore, concluíram que a qualidade do sêmen pode ser afetada significativamente pelo ambiente, por meio de variações de temperatura, umidade e fotoperíodo.

Barth e Waldner (43) relataram em relação às estações do ano, que a qualidade do sêmen foi inferior no verão, resultando na queda da taxa de prenhez em vacas, refletindo diretamente na eficiência reprodutiva e produtiva, relacionada à contribuição do touro (44).

Avaliando a congelabilidade do sêmen de touros, Anchieta et al. (45), relatou que nas raças taurinas foi superior aos zebuínos, em dois períodos observados com altas temperaturas, e o sêmen descartado por características físicas foi maior nas raças zebuínas, enquanto as morfológicas foram as causas de maior descarte em touros das raças taurinas.

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Por se tratar de uma biotecnologia não invasiva e com alta sensibilidade na mensuração de diferentes temperaturas na superfície da pele, a termografia digital por infravermelho pode ser aplicada no monitoramento da superfície do escroto, possibilitando avaliar padrões correlacionados com reprodutores aptos ou não para a reprodução, além de contribuir de forma efetiva para um diagnóstico mais eficiente, podendo ser empregada na produção animal como um auxílio aos métodos tradicionais de obtenção de temperaturas superficiais, fornecendo maior precisão, praticidade e exatidão na manipulação de dados, preservando o bem-estar e o conforto dos animais.

Em relação à qualidade seminal, diversos fatores podem afetar as características fisiológicas e morfológicas do sêmen, dentre elas, as mudanças climáticas são as que exercem um maior comprometimento na espermatogênese, podendo levar uma redução na eficiência reprodutiva de touros.

## CONCLUSÕES

A literatura consultada demonstrou que os fatores climáticos atuam de forma intensa na fertilidade de touros criados no clima tropical; e que o monitoramento do estresse de causa térmica pode ser realizado com termografia infravermelha, um exame de imagem não invasivo e de acurácia para mensurar a temperatura da superfície de áreas do corpo de touros. O termograma do escroto auxilia na seleção de reprodutores com termorregulação satisfatória, a qual resulta na boa qualidade do sêmen produzido.

## REFERÊNCIAS

1. Kastelic JP, Thundathil JC. Breeding soundness evaluation and semen analysis for predicting bull fertility. *Reprod Domest Anim.* 2008;43:368-73.
2. Kastelic JP, Cook RB, Pierson RA, Coulter GH. Relationships among scrotal and testicular characteristics, sperm production, and seminal quality in 129 beef bulls. *Can J Vet Res.* 2001;65:111-15.
3. Vale Filho VR. Subfertilidade em touros: parâmetros para avaliação andrológica e conceituação geral. *Cad. Tec. Vet. Zootec.* 2001;35:81-7.
4. Chacur MGM et al. Influência da estação do ano nas características do sêmen e na concentração de hormônios em touros Nelore e Simental. *Arq. Bras. Med. Vet.* 2012;64:540-6.
5. Bouzida N, Bendada A, Maldague XP. Visualization of body thermoregulation by infrared imaging. *J Therm Bio.* 2009;34:120-6.
6. Gade R, Moeslund TB. Thermal cameras and applications: A survey. *Mach. Vision Appl.* 2014;25:245-62.
7. Coulter GH, Serenger PL, Bailey DRC. Relationship of scrotal surface temperature measured by infrared thermography to subcutaneous and deep testicular temperature in the ram. *J. Reprod. Fertil.* 1988;84:417-23.
8. Chacur MGM et al. Aplicações da termografia por infravermelho na reprodução animal e bem-estar em animais domésticos e silvestres. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 2016;40:88-94
9. Kunc P, Knizkova I, Prikryl M, Maloun J. Infrared thermography as a tool to study the milking process. *Agricultura Tropica et Subtropica.* 2007;40:29-32.
10. Kotrba R, Knizkova I, Kunc P, Bartosa L. Comparison between the coat temperature of the eland and dairy cattle by infrared thermography. *J Therm Biol.* 2007;32:355-59.
11. Van Demark NL, Free MJ. Temperature effects. In: Johnson, AD, Gomes WR. *The testis.* 1a ed. New York: Academic Press, 1970. p.233-312.

12. Entwistle K. Effects of heat stress on reproductive function in bulls. *Bull Fertility, Proceedings...*, 1992:57-63.
13. Barth AD, Bowman PA. The sequential appearance of sperm abnormalities after scrotal insulation or dexametasone treatment in bulls. *Can. Vet. J.* 1994;35:93-102.
14. Van Demark NL, Free MJ. Temperature effects. In: Johnson, A. D., Gomes W.R. *The testis*. 1a ed. New York: Academic Press, 1970. p.233-312.
15. Rhines WE, Ewing LL. Testicular endocrine function in Hereford bulls exposed to high ambient temperature. *Endocrinology*. 1973;92:509-15.
16. Kastelic JP, Cook RB, Coulter GH. Contribution of the scrotum, testes and testicular artery to scrotal/testicular thermoregulation in bulls at ambient temperatures. *Anim Reprod Sci.* 1997; 45:255-61.
17. Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Dias EA, Koetz Junior C, Pereira GP, Peripolli V, Mcmanus C, Canozzi MEA, Lopes FG. Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effects on sperm traits in Braford bulls. *Int J Biometeorol.* 2014;59:357-64.
18. Brito LF, Silva AE, Barbosa RT, Kastelic JP. Testicular thermoregulation in *Bos indicus*, crossbred and *Bos taurus* bulls: relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm production. *Theriogenology*. 2004;61:511-28.
19. Coulter GH, Serenger PL, Bailey DRC. Relationship of scrotal surface temperature measured by infrared thermography to subcutaneous and deep testicular temperature in the ram. *J. Reprod. Fertil.* 1988;84:417-23.
20. Gabaldi SH, Wolf A. A importância da termorregulação testicular na qualidade do sêmen em touros. *Ciência Agrária e Saúde*. 2002;2:66-70.
21. Neiva JNM, Teixeira M, Turco SHN et al. Efeito do estresse climático sobre os parâmetros produtivos e fisiológicos de ovinos Santas Inês mantidos em confinamento na região litorânea do Nordeste do Brasil. *Rev. bras. Zootec.* 2004;33:668-78.
22. Horn MM, Moraes JCF, Galina CS. Qualidade de sêmen de touros Aberdeen Angus e Ibagé frente à degeneração testicular experimental. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 1997;5: 356-59.
23. Galina CS, Arthur GH. Review of cattle reproduction in tropics. Part 6. The Male. *Animal Breeding Abstracts*. 1991;59:403-12.
24. Taylor JF, Bean B, Marshall CE, Sullivan JJ. Genetic and environmental componentes of semen production traits of artificial insemination Holstein bulls. *J. Dairy Sci.* 1985;68:2703-22.

25. Skinner JD, Louw GN. Heat stress and spermatogenesis in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *J Appl Phys.* 1966;21:1784-90.
26. Rahman MB et al. Scrotal insulation and its relationship to abnormal morphology, chromatin protamination and nuclear shape of spermatozoa in Holstein-Friesian and Belgian Blue bulls. *Theriogenology.* 2011;76:1246-57.
27. Paul C, Teng S, Saunders PTK. A single, mild, transient scrotal heat stress causes hypoxia and oxidative stress in mouse testes, which induces germ cell death. *Biol. Reprod.* 2009;80:913-19.
28. Setchell BP. The Parkes Lecture - Heat and the testis. *J. Reprod. Fertil.* 1998;114:179-94.
29. Andrade ER et al. Consequências da produção das espécies reativas de oxigênio na reprodução e principais mecanismos antioxidantes. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 2010;34:79-85.
30. Maia MS, Bicudo SD. Radicais livres, antioxidantes e função espermática em mamíferos: uma revisão. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 2009;33:183-93.
31. Silva AEDF, Dod MAN, Unanian MM. Capacidade reprodutiva do touro de corte: funções, anormalidades e outros fatores que a influenciam. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC;1993 [cited 2004 Fev 4] Available from: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/40064/capacidade-reprodutiva-do-touro-de-corte-funcoes-anormalidades-e-fatores-que-a-influenciam>
32. Kastelic JP, Cook RB, Coulter GH, Saacke RG. Insulating the scrotal neck affects semen quality and scrotal/testicular temperatures in the bull. *Theriogenology.* 1996;45:935-42.
33. Fernandes CE, Dode MA, Pereira D, Silva AE. Effects of scrotal insulation in Nellore bulls (*Bos taurus indicus*) on seminal quality and its relationship with in vitro fertilizing ability. *Theriogenology.* 2008;70:1560-68.
34. Ravagnolo O, Mistzal I, Hoogenboom G. Genetic component of heat stress in cattle, development of a heat index function. *J Dairy Sci.* 2000;83:2120-25.
35. Bouraoui R, Lahmar M, Majdoub A, Djemali M, Belyea R. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Anim Res.* 2002;51:479-91.
36. Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Dias EA, Koetz Junior C, Pereira GP, Peripolli V, Mcmanus C, Canozzi MEA, Lopes FG. Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effects on sperm traits in Braford bulls. *Int J Biometeorol.* 2014;59:357-64.

37. Waites G, Setchell B. Physiology of the mammalian testis. In: Lamming, C. E. (Ed.). Marshall's physiology of reproduction. 4th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1990. p.1-105.
38. Oliveira KM, Duarte AM, Nascimento MRBM et al. Influência das estações seca e chuvosa sobre as características seminais de touros das raças Nelore, Gir e Holandês criados a pasto. Vet. Not. 2006;12:145-51.
39. Silva JL. Causas da variação na quantidade e qualidade do sêmen de touros em colheita em centrais de inseminação artificial [dissertação]. Belo Horizonte: Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais; 1981.
40. Koivisto MB, Nogueira GP, Costa MTA. Seasonal variations of morphological abnormalities in bovine spermatozoa. In: Sipar 4; Seminar on Animal Reproduction and Biotechnology for Latin América; 1998, Belém. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences; 1998. p.50-56.
41. Silva AR, Ferraudo AS, Rodrigues LH, Costa MZ, Lima VFMH. Efeito da idade e do período de colheita de sêmen sobre as características físicas e morfológicas do sêmen de bovinos europeus e zebus. In: Zootec ambiência – eficiência e qualidade na produção animal; 2003, Uberaba. Uberaba: ABCZ; 2003. p.56-61.
42. Fonseca VO, Crudeli GA, Costa E Silva EV et al. Aptidão reprodutiva de touros da raça Nelore: efeito de diferentes estações do ano sobre as características seminais, circunferência escrotal e fertilidade. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 1992;44:7-15.
43. Barth AD, Waldner CL. Factors affecting breeding soundness classification of beef bulls examined at the Western College of Veterinary Medicine. Can. Vet. J. 2002;3:274-84.
44. Silva AEDF, Dode MA, Porto JA et al. Estacionalidade na atividade sexual de machos bovinos Nelore e mestiços Fleckvieh e Chianina X Nelore: Características biométricas testiculares. Pesq. Agropec. Bras. 1991; 26:1745-50.
45. Anchieta MC, Vale-Filho VR, Colosimo E, Sampaio IBM, Andrade VJ. Descarte e congelabilidade de sêmen de touros de raças zebuínas e taurinas em central de inseminação artificial no Brasil. Arq Bras Med Vet Zootec. 2005;57:196-204.

## **USO DE TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA PARA MENSURAR TEMPERATURAS DE ÁREAS DO CORPO EM VACAS DE LEITE**

Fernanda Luiza Guinossi Barbosa Deak<sup>1</sup>  
Camila Dutra de Souza<sup>1</sup>  
Isamara Batata Andrade<sup>1</sup>  
Gabriela Figueiredo Cornacini<sup>1</sup>  
Caio Oliveira Siqueira<sup>1</sup>  
Murilo Redivo<sup>1</sup>  
Luís Roberto Almeida Gabriel Filho<sup>2</sup>  
Marcelo George Mungai Chacur<sup>1</sup>

### **RESUMO**

A termografia digital de infravermelho é um exame de imagem com alta acurácia e não invasivo que detecta a radiação infravermelha emitida pela superfície de um objeto ou ser vivo, formando a imagem termográfica ou termograma. Imagens infravermelhas são utilizadas como exame complementar no diagnóstico precoce da mastite subclínica e clínica, avaliação clínica das fases da gestação e para detectar aumento da temperatura corporal relacionada à progesterona; que possui ação termogênica, elevando a temperatura corporal em vacas prenhes. Dados termográficos foram confrontados, comprovando a eficácia e fidedignidade da utilização de câmeras infravermelhas. A presente revisão aborda alguns aspectos do uso da termografia infravermelha para mensurar temperaturas da superfície do corpo em vacas de leite. Diferentes áreas do corpo examinadas por imagens termográficas apresentaram alterações de temperaturas, mostrando variações fisiológicas que podem auxiliar na avaliação clínica das áreas examinadas.

**Palavras-chave:** bovino, estação do ano, reprodução, termograma de infravermelho.

### **USE OF INFRARED THERMOGRAPHY TO MEASURE TEMPERATURES OF BODY AREAS IN MILK COWS**

#### **ABSTRACT**

Digital infrared thermography is a highly accurate and non-invasive imaging scan that detects infrared radiation emitted by the surface of an object or living being, forming the thermographic image or thermogram. Infrared images are used as complementary examination in the early diagnosis of subclinical and clinical mastitis, clinical evaluation of the phases of gestation and to detect progesterone-related body temperature increase; which has thermogenic action, raising body temperature in pregnant cows. Thermal data were confronted, proving the efficacy and reliability of the use of infrared cameras. The present review addresses some aspects of the use of infrared thermography to measure body surface temperatures in milk cows. Different

---

<sup>1</sup>Laboratório de Reprodução Animal, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade do Oeste Paulista-UNOESTE, Presidente Prudente, Brasil;

<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista – UNESP, Tupã, Brasil

E-mail: fernanda.deak@etec.sp.gov.br

areas of the body examined by thermographic images showed changes in temperature, showing physiological variations that may aid in the clinical evaluation of the areas examined.

**Key words:** bovine, season of the year, reproduction, infrared thermogram.

## **USO DE TERMOGRAFÍA INFRARROJA PARA MANTENER TEMPERATURAS DE ÁREAS DEL CUERPO EN VACAS DE LECHE**

### **RESUMEN**

La termografía digital de infrarrojos es un examen de imagen con alta exactitud y no invasivo que detecta la radiación infrarroja emitida por la superficie de un objeto o ser vivo, formando la imagen termográfica o termograma. Las imágenes infrarrojas se utilizan como examen complementario en el diagnóstico precoz de la mastitis subclínica y clínica, evaluación clínica de las fases de la gestación y para detectar aumento de la temperatura corporal relacionada con la progesterona; que tiene acción termogénica, elevando la temperatura corporal en vacas preñadas. Los datos termográficos se enfrenta, comprobando la eficacia y la confianza de la utilización de cámaras infrarrojas. La presente revisión aborda algunos aspectos del uso de la termografía infrarroja para medir temperaturas de la superficie del cuerpo en vacas de leche. Diferentes áreas del cuerpo examinadas por imágenes termográficas presentaron cambios de temperatura, mostrando variaciones fisiológicas que pueden auxiliar en la evaluación clínica de las áreas examinadas.

**Palabras:** bovino, estación del año, reproducción, termograma de infrarrojos.

### **INTRODUÇÃO**

A temperatura corpórea de vacas é um parâmetro clínico que auxilia no diagnóstico de doenças, avaliação do estado fisiológico, na sanidade e reflète na produtividade, assim a mensuração da temperatura corpórea é utilizada como indicador para identificar animais com febre (1,2). Há métodos invasivos que captam e registram a temperatura corporal em bovinos como dispositivos intra-rumen (3) e transmissores implantados no subcutâneo de animais (4). Os tipos de termômetro e de técnicas de termometria influenciam na variação de valores aferidos da temperatura retal (5,6).

A termografia digital de infravermelho é um exame de imagem com alta acurácia e não invasivo que detecta a radiação infravermelha emitida pela superfície de um objeto ou ser vivo, formando a imagem termográfica ou termograma (7,8). Os termogramas representam a temperatura da superfície de aferição de um objeto, apresentados em diversas cores, as áreas mais quentes são registradas em branco ou vermelho e as mais frias em azul ou preto (9). A termografia de infravermelho auxilia no diagnóstico precoce de lesões que causam dor e inflamação, podendo esse equipamento gerador de imagem ser instalado em salas de ordenha para monitorar a temperatura de áreas do corpo de vacas leiteiras (10) ou acoplados em bebedouros de água para identificar animais e registrar temperaturas da região ocular que apresenta alta correlação com a temperatura retal (11).

As imagens infravermelhas são utilizadas como exame complementar no diagnóstico precoce da mastite subclínica e clínica (9,12,13), avaliação clínica das fases



da gestação (14,15) e para detectar aumento da temperatura corporal relacionada à progesterona; pois a mesma possui ação termogênica, elevando a temperatura corporal em vacas prenhes (16). Também pode ser utilizada como um método objetivo para monitorar bovinos quanto ao estresse térmico, pois a temperatura ambiente causa estresse que resulta na elevação da temperatura do corpo (17). Menegassi et al. (18) em seus estudos revelaram que a termografia infravermelha pode ser adotada como um método indireto para avaliar o efeito das mudanças ambientais nos bovinos; destacando que as imagens termográficas podem ser utilizadas como parâmetro de avaliação de alterações de temperatura corpórea bovina.

A temperatura ambiente e a umidade relativa do ar devem ser mensuradas no momento do exame de termografia para garantir a melhor acurácia e precisão dos dados coletados por esse exame de imagem (19). Dessa forma, a presente revisão aborda alguns aspectos do uso da termografia infravermelha para mensurar temperaturas da superfície do corpo em vacas de leite.

## **TERMOGRAFIA DE INFRAVERMELHO NA OBTENÇÃO DE TEMPERATURAS DO CORPO EM VACAS DE LEITE**

As imagens termográficas e métodos utilizados por Alejandro et al. (20), Metzner et al. (21) e Talukder et al. (22) e Chacur et al. (23), revelaram similaridade entre si, todos utilizaram áreas e pontos para mensurar a temperatura da superfície da pele; realizando o mesmo exame não invasivo e relatando que o mesmo possui acurácia. A temperatura da superfície do corpo sofre influência do fluxo sanguíneo dos tecidos, do metabolismo e da evaporação pelo suor, podendo-se ao mensurar a temperatura, qualificar os estágios fisiológicos de saúde dos tecidos e as oscilações por fatores externos (temperatura ambiente, umidade relativa do ar e ação do vento) (24). A espessura, densidade e pelagem das diferentes raças bovinas, devem ser considerados fatores que influenciam no estudo da imagem infravermelha; conseqüentemente na análise de temperaturas (25). Pelagens claras refletem o calor e as escuras absorvem o mesmo, portanto deve-se evitar captar imagens de animais expostos diretamente ao sol para obter imagens termográficas autênticas.

A captura de imagens com termografia digital de infravermelho deve ser realizada a distância padrão de um metro entre a câmera e o animal e deve incluir as seguintes áreas do corpo para todos os animais: globo ocular (ambos), mufla (área entre as narinas) (26) e flanco direito (lateral direita da pelve, 1/3 médio do abdômen, 1/3 ventral do abdômen e tórax) (21), períneo (vulva, comissura dorsal da vulva, 1/3 médio da vulva, comissura ventral da vulva, região da tuberosidade isquiática) e glândula mamária (áreas lateral direita e caudal) (27). As imagens termográficas das áreas do corpo precisam ser capturadas em áreas limpas e sem incidência direta de luz solar (28). O foco emissor da câmera termográfica deve ser direcionado perpendicularmente às regiões anatômicas examinadas, a um metro de distância das mesmas (23).

Em relação aos parâmetros climáticos e estações do ano, Berry et al. (29) relataram correlações positivas entre as temperaturas mensuradas com termografia, temperatura ambiente e temperatura do úbere. Unruh et al. (17) utilizaram as imagens termográficas para correlacionar a temperatura corpórea de bovinos com a temperatura ambiente e os resultados dos seus estudos revelaram que o aumento da temperatura ambiente também eleva a temperatura do corpo dos bovinos, causando estresse térmico. Conseqüência do estresse térmico é a redução do consumo de alimentos, o que ocasiona a queda na produção leiteira.

No trabalho de Chacur et al. (23), as mensurações de temperaturas foram obtidas com uma câmera portátil. Um estudo publicado por Schaefer et al. (30) explora a utilização de uma imagem térmica utilizando câmera anexa a uma estação de água, que é capaz de digitalizar o olho do animal. Dessa forma, como os animais visitam o cocho de água diariamente, auxiliaria o criador a identificar animais com temperatura elevadas. Um animal poderia então ser identificado e examinado. A validação da temperatura do globo ocular como uma aceitável e precisa medida da temperatura retal foi descrita como medida fidedigna da temperatura corpórea (31).

Para as regiões flanco, úbere lateral, úbere caudal e períneo houve variação de temperatura para as coletas realizadas nos estudos descritos por Gil et al. (32) e Chacur et al. (23). Uma boa correlação entre a temperatura da superfície do úbere e retal foi encontrada para ambos os quartos traseiros (21). Em relação ao períneo houve correlação entre sua temperatura e a mufla, nos estudos de Talukder et al. (27).

Nos resultados apresentados por Chacur et al. (23), as fases reprodutivas influenciam na variação de temperaturas dos animais, assim como nos estudos obtidos por Schaefer et al. (30) e Okada et al. (33). Estes estudos revelaram que animais prenhes apresentaram temperatura corporal mais alta, em relação às vacas não prenhes. As imagens infravermelhas do estudo de Chacur et al. (23) foram capazes de detectar variações de temperatura corporal comparando-se vacas prenhes com não prenhes. Gil et al. (34) e Gabor (35) também compararam temperaturas de animais prenhes e não prenhes em seus estudos. Suthar et al. (16) e Rensis et al. (36) relataram que animais prenhes possuem maior concentração de progesterona na corrente sanguínea, tendo esse hormônio ação termogênica, elevando a temperatura corporal de vacas prenhes.

## CONCLUSÕES

A termografia por infravermelho pode ser empregada como ferramenta não invasiva e rápida para diversos fins diagnósticos, inclusive monitorar o estresse térmico em vacas de leite. As áreas do corpo dos bovinos que possuem correlação fidedigna com a temperatura retal devem ser monitoradas para mensurar o estresse térmico e evitar manejos que estressarão mais os animais; conseqüentemente evitar a diminuição na ingestão de alimentos, e a redução na produção e nos constituintes do leite, causando prejuízo econômico. Utilizar medidas ambientais (sombras, nebulizadores) e ordenhar as vacas nas horas mais frescas do dia, são maneiras de minimizar os efeitos negativos do calor sobre os animais.

## REFERÊNCIAS

1. Poulsen KP, Mcguirk SM. Respiratory disease of the bovine neonate. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2009;25:121-137.
2. Luzi F, Mitchell, M, Nanni, CL, Redaelli V. *Thermography: current status and advances in livestock animals and in veterinary medicine*. Brescia, Italy: Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche. 2013.
3. Rose-Dye TK, Burciaga-Robles LO, Krehbiel CR, Step DL, Fulton RW, Confer AW, Richards CJ. Rumen temperature change monitored with remote rumen temperature boluses after challenges with bovine viral diarrhoea virus and *Mannheimia haemolytica*. *Journal of Animal Science*. 2011;89:1193-1200.

4. Georg H, Ude G, Schwalm A, Wenderdel B. Investigation on temperature sensing injectable transponders for electronic animal identification and evaluation of suitable injection sites with bull calves. *Landbauforschung Voelkenrode*. 2009;59:287-293.
5. Suthar VS, Burfeind O, Patel JS, Dhama AJ, Heuwieser W. Body temperature around induced estrus in dairy cows. *American Dairy Science Association*. 2011;94:2368-2373.
6. Naylor JM, Streeter RM, Torgerson P. Factors affecting rectal temperature measurement using commonly available digital thermometers. *Research in Veterinary Science*. 2012;92:121-123
7. Turner T.A. Thermography as an aid to the clinical lameness evaluation. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice*. 1991;7:311-338.
8. Eddy AL, Van Hoogmoed LM, Snyder JR. The role of thermography in the management of equine lameness. *The Veterinary Journal*. 2001;162:172-181.
9. Colak A, Polat B, Okumus Z, Kaya M, Yanmaz LE, Hayirli A. Short communication: Early detection of mastitis using infrared thermography in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2008;91:4244-4252.
10. Alsaad M, Schaefer AL, Büscher W, Steiner A. The role of infrared thermography as a non-invasive tool for the detection of lameness in cattle. *Sensors*. 2015;15:14513-14525.
11. Stewart M, Webster JR, Schaefer AL, Cook NJ, Scott SL. Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare. *Animal Welfare*. 2005;14:319-325.
12. Poikalainen V, Praks J, Veermäe I, Kokkin E. Infrared temperature patterns of cow's body as an indicator for health control at precision cattle farming. *Agronomy Research Biosystem Engineering*. 2012;1:187-194.
13. Berry RJ, Kennedy AD, Scott SL, Kyle BL, Schaefer AL. Daily variation in the udder surface temperature of dairy cows measured by infrared thermography: potential for mastitis detection. *Canadian Journal of Animal Science*. 2003;83:687-693.
14. Bowers S, Gandy S, Anderson B, Ryan P, Willard S. Assessment of pregnancy in the late-gestation mare using digital infrared thermography. *Therigenology*. 2009;72:372-377.
15. Schutz KE, Rogers AR, Cox NR, Webster JR, Tucker CB. Dairy cattle prefer shade over sprinklers: effects on behavior and physiology. *Journal of Dairy Science*. 2011;94:273-283.
16. Suthar VS, Burfeind O, Bonk S, Dhama AJ, Heuwieser W. Endogenous and exogenous progesterone influence body temperature in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2012;95:2381-2389.

17. Unruh EM, Theurer ME, White BJ, Larson RL, Drouillard JS, Schrag N. Evaluation of infrared thermography as diagnostic tool to predict heat stress events in feedlot cattle. *Am J Vet Res.* 2017, Jul;78(7):771-777.
18. Menegassi SR, Pereira GR, Dias EA, Koetz CJr, Lopes FG, Bremm C, Pimentel C, Lopes RB, Rocha MK, Carvalho HR, Barcellos JO. The uses of infrared thermography to evaluate the effects of climatic variables in bull's reproduction. *Int J Biometeorol.* 2016;60(1):151-7.
19. Montanholi YR, Lim M, Macdonald A, Smith BA, Goldhawk C, Schwartzkopf-Genswein K, Miller SP. Technological, environmental and biological factors: referent variance values for infrared imaging of the bovine. *Journal of Animal Science and Biotechnology.* 2015;6:27.
20. Alejandro M, Romero G, Sabater JM, Díaz JR. Infrared thermography as a tool to determine teat tissue changes caused by machine milking in Murciano-Granadina goats. *Livestock Science.* 2014;160:178-185.
21. Metzner M, Sauter-Louiz C, Seemueller A, Petzl W, Klee W. Infrared thermography of the udder surface of dairy cattle: Characteristics, methods, and correlation with rectal temperature. *The Veterinary Journal.* 2014;199:57-62.
22. Talukder S, Thomson PC, Kerrisk KL, Clark CEF, Celi P. Evaluation of infrared thermography body temperature and collar-mounted accelerometer and acoustic technology for predicting time of ovulation of cows in a pasture-based system. *Theriogenology.* 2015;83:739-748.
23. Chacur, M.G.M., Bastos, G.P., Vivian, D.S., Silva, L., Chiari, L.N.F., Araujo, J.S., Souza, C.D., Gabriel Filho, L.R.A. Use of infrared thermography to evaluate the influence of the of Climatic Factors in the Reproduction and Lactation of Dairy Cattle. *Acta Scientiae Veterinariae.* 2016;44:1412-1421.
24. Nikkhah A. Infrared Termography as a Prognostic Live stock. *Agrotechnology: A Critique. Agrotech.* 2015;4:112.
25. Gonçalves CSM. Uso da termografia no diagnóstico precoce da doença respiratória bovina em explorações de engorda. Lisboa – Portugal. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária. 108f, 2013.
26. George WD, Godfrey RW, Ketring RC, Vinson MC, Willard ST. Relationship among eye and muzzle temperatures measured using digital infrared thermal imaging and vaginal and rectal temperatures in hair sheep and cattle. *Journal of Animal Science.* 2014;92:4949-4955.
27. Talukder S, Thomson PC, Kerrisk KL, Clark CEF, Celi P. Evaluation of infrared thermography body temperature and collar-mounted accelerometer and acoustic technology for predicting time of ovulation of cows in a pasture-based system. *Theriogenology.* 2014;83:739-748.

28. Hoffman G, Schmidt M, Ammon C, Rose-Meierhofer S, Burfeind O, Heuwieser W, Berg W. Monitoring the body temperature of cows and calves using video recordings from an infrared thermography camera. *Veterinary Research Communications*. 2013;37:91-99.
29. Berry RJ, Kennedy AD, Scott SL, Kyle BL, Schaefer AL. Early detection of mastitis using infrared thermography in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2013;91:4244-4248.
30. Schaefer AL, Cook NJ, Bench C, Chabot JB, Colyn J, Liu T, Okine EK, Stewart M, Webster JR. The non-invasive and automated detection of bovine respiratory disease onset in receiver calves using infrared thermography. *Research in Veterinary Science*. 2012;93:928-935.
31. Melero M, Rodriguez-Prieto V, Rubio-Garcia A, Garcia-Parraga D, Sanchez-Vizcaino JM. Thermal reference points as an index for monitoring body temperature in marine mammals. *BMC Research Notes*. 2015;8:411.
32. Gil Z, Adamczyk K, Zapletal P, Frelich J, Šlachta M, Andreasik A. Impact of the location of the dairy cows in the barn on their body surface temperature. *Journal of Central European Agriculture*. 2013;14:228-237.
33. Okada K, Takemura K, Sato S. Investigation of Various Essential Factors for Optimum Infrared Thermography. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2013;75:1349-1353.
34. Gil Z, Kural J, Szarek J, Wierzchós E. Increase in milk and body temperature of cows as a sign of embryo entry into the uterus. *Theriogenology*. 2001;56:685-697.
35. Gabor G, Kastelik JP, Abonyi-Toth Z, Gabor P, Endrodi T, Balogh OG. Pregnancy loss in dairy cattle: relationship of ultrasound, blood pregnancy specific protein B, progesterone and production variables. *Reproduction in Domestic Animals*. 2016;51:467-473.
36. Rensis F, Garcia-Ispuerto I, López-Gatus F. Seasonal heat stress: Clinical implications and hormone treatments for the fertility of dairy cows. *Theriogenology*. 2015;84:659-666.

## **RELATOS DE CASO**

## ANOMALIAS CONGÊNITAS DE BEZERROS ORIUNDOS DE EMBRIÕES PRODUZIDOS *IN VITRO*: RELATO DE CASO

Eduardo Fernandes Castelo Branco<sup>3</sup>  
Gabriel Molinari de Mattos<sup>1</sup>  
Adriano Felipe Mendes<sup>2</sup>  
Caliê Castilho<sup>1,4\*</sup>

### RESUMO

Um estudo de anomalias congênitas foi realizado em uma propriedade no município de Presidente Epitácio - SP em bezerros da raça Nelore, nascidos de receptoras de embriões produzidos *in vitro*. Foram analisados partos ocorridos entre 24 de outubro de 2010 e 24 de janeiro de 2011. A ocorrência das anomalias foi de 7,5% dos 200 partos ocorridos, diferindo da média mundial que é 3%. Das anomalias encontradas, houve predomínio das que afetam o sistema nervoso e muscular. Foram encontrados animais com hidrocefalia, espinha bífida, diprosopia, aracnomelia, “*paunch calf*”, deformidades articulares e protrusão permanente da língua. Múltiplos são os fatores que desencadeiam as anomalias, como agentes infecciosos, tóxicos, falhas de manejo e os processos realizados *in vitro* nos embriões. Poucos trabalhos fazem abordagens sobre a ocorrência de anomalias congênitas, mostrando a importância deste relato de caso.

**Palavras-chave:** ruminantes, transferência de embriões, hidrocefalia.

### CONGENITAL DEFECTS IN CALVES FROM EMBRYOS PRODUCED *IN VITRO*: CASE REPORT

#### ABSTRACT

A study of congenital defects was carried out in a property in the municipality of Presidente Epitácio – SP in Nelore calves born of recipients of embryos produced *in vitro*. Births occurred between October 24, 2010 and January 24, 2011 were analyzed. The occurrence of the anomalies was 7.5% of the 200 births occurred, differing from the world average which is 3%. Among the anomalies found, there were predominance of those affecting the nervous and muscular systems. Animals with hydrocephalus, spina bifida, diprosopia, arachnomelia, “*paunch calf*”, articular deformities and permamnent tongue protrusion were found. Multiples are the factors that trigger the anomalies, such as infectious agents, toxic, defects of management and the processes performed *in vitro* on the embryos. Few papers make an approach on the occurrence of congenital defects, showing the importance of this case report.

**Keywords:** ruminants, embryo transfer, hydrocephalus.

---

<sup>3</sup>Universidade do Oeste Paulista – Medicina Veterinária – Presidente Prudente- SP

<sup>4</sup>Universidade do Oeste Paulista – Mestrado em Ciência Animal – Presidente Prudente- SP

\*Contato principal para correspondência: calie@unoeste.br

## ANOMALÍAS CONGÊNITAS DE TERNEROS ORIGINARIOS DE EMBRIONES PRODUCIDOS *IN VITRO*: INFORME DEL CASO

### RESUMEN

Se realizó un estudio de anomalías congénitas ocurridas en una propiedad en el municipio de Presidente Epitacio - SP en terneros de la raza nelore, nacidos de receptores de embriones producidos *in vitro*. Se analizaron partos ocurridos entre el 24 de octubre de 2010 y el 24 de enero de 2011. La ocurrencia de las anomalías fue del 7,5% de los 200 partos ocurridos, diferente del promedio mundial que es el 3%. De las anomalías encontradas, hubo predominio de las que afectan el sistema nervioso y muscular. Se encontraron animales con hidrocefalia, espina bífida, diprosopia, aracnomelia, "paunch calf", deformidades articulares y protrusión de la lengua. Múltiples son los factores que desencadenan las anomalías, como agentes infecciosos, tóxicos, fallas de manejo y los procesos realizados *in vitro* en los embriones. Pocos trabajos hacen abordajes sobre la ocurrencia de anomalías congénitas, mostrando así la importancia de este relato de caso.

**Palabras clave:** rumiantes, transferencia de embriones, hidrocefalia.

### 1. INTRODUÇÃO

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) bovinos é uma biotécnica reprodutiva que permite identificar, selecionar e multiplicar machos e fêmeas de alto potencial genético, sendo uma importante ferramenta de melhoramento. O Brasil é um país expressivo na utilização dessa técnica e em 2013 foi responsável pela produção 70,8% dos embriões obtidos *in vitro* no mundo (1). A maioria dos nascimentos de bezerros obtidos por PIVE apresentam-se como normais, no entanto alguns distúrbios são relatados como problemas placentários, bezerros excessivamente grandes e anomalias congênitas (2).

Anomalias congênitas constituem distúrbios estruturais e funcionais com graus variáveis de comprometimento do organismo e são diagnosticadas ao nascimento (3). Muitos fatores estão relacionados à ocorrência destas anomalias e dentre eles estão: deficiências nutricionais, componentes químicos e teratogênicos, fitotoxinas, agentes infecciosos e também fatores hereditários, podendo manifestar-se em surtos ou esporadicamente (4).

Estima-se que a ocorrência de anomalias congênitas em bovinos varie de 0,2 a 3%. Tal problema está relacionado com abortamentos e mortes neonatais resultando em prejuízos ao produtor (5). Atualmente informações acerca da prevalência de malformações congênitas são escassas no Brasil. Estudos no Canadá apontam que 2,6% dos abortos são em consequência desses problemas, sendo a artrogripose a malformação mais comum em tal país (6).

Dentre as alterações congênitas estão a Polimelia: caracterizada por aumento do número de membros; Hidrocefalia: onde há aumento dos líquidos cefalorraquidianos; Distúrbios articulares; Acondroplasia: confere ao animal uma cabeça muito grande e membros muito curtos; Esquizossoma reflexo: apresentado com ampla abertura do tórax e abdome com evisceração e distúrbios vertebrais; *Perosomus elumbis*: caracterizado por ausência de vértebras lombares, sacrais e coccígeas associada com contratura de



membros; Diprosopia: caracterizada pela duplicação da face; Dicefalia: que consiste no desenvolvimento de duas cabeças isoladas; união de fetos por partes do corpo, como é o caso do *Thoracopagus* (fetos unidos pelo tórax), *Thoracogastropagus* (fetos unidos pelas regiões torácica e abdominal), *Cephalothoracogastropagus* (união de fetos pela cabeça, tórax e abdome), *Ischiogastropagus* (fetos unidos pela pelve e abdome), além de *Duplicitas* posterior: apresentada por formação de região pélvica dupla e torácica única (7).

Existe também a espinha bífida, uma malformação vertebral que consiste em ausência da parte dorsal das vértebras e geralmente está acompanhada de várias formas de mielodisplasias, sendo mais frequentes nas regiões lombar e sacral (8). Aracnomelia, conhecida também como pernas de aranha, é um defeito congênito no qual os animais se assemelham a uma aranha, onde o indivíduo apresenta distúrbios caracterizados por deformidades faciais, perda de massa muscular, deformidade angular nas partes distais dos membros pélvicos, dentre outros. Os ossos destes animais são frágeis e com maior susceptibilidade a fraturas. “*Paunch calf*” é uma outra anomalia congênita complexa que, dentre outros sinais, causa acúmulo de líquido no abdome com alargamento do mesmo, anomalias craniofaciais e fibrose hepática (9).

Objetivou-se relatar a ocorrência de anomalias congênicas encontradas em bezerros da raça Nelore (*Bos indicus*), oriundos da PIVE, em uma propriedade no município de Presidente Epitácio – São Paulo.

## 2. RELATO DE CASO

Foi realizado um levantamento de anomalias congênicas em bezerros da raça Nelore em uma propriedade no município de Presidente Epitácio - SP. Os nascimentos ocorreram entre 24 de outubro de 2010 e 24 de janeiro de 2011. Os animais eram mantidos em pastagem de *Urochloa decumbens*, com acesso a água e sal mineral à vontade. A técnica reprodutiva utilizada foi a transferência de embriões (TE) produzidos *in vitro* para vacas receptoras (*Bos taurus* x *Bos indicus*). Ao longo do período observado ocorreram 200 nascimentos, dos quais 15 apresentaram defeitos congênicos.



Figura1. Bezerro com hidrocefalia.

Os animais eram inspecionados ao nascimento e, quando apresentavam anomalias, fotografados e classificados quanto a alteração apresentada. Apenas um animal com anomalia sobreviveu após os primeiros 2 dias, mas foi descartado posteriormente, enquanto todos os demais morreram dentro de poucas horas ou nasceram mortos.

Dos 200 bezerros nascidos oriundos de embriões PIVE, 15 (7,5%) apresentaram alterações congênicas importantes classificadas ao nascimento. Dentre os 15 bezerros

acometidos, treze animais apresentaram apenas um tipo de alteração cada, sendo cinco casos de problemas articulares (33,33%), três casos de hidrocefalia (20%) (imagem de um dos casos apresentada na Figura 1), dois casos de aracnomelia (13,33%), dois casos de espinha bífida (13,33%) e um caso de protusão da língua com incapacidade de recolher a mesma (6,66%). Outros dois animais manifestaram alterações concomitantes, havendo um caso de hidrocefalia associada a “*paunch calf*” e aracnomelia (6,66%) (Figura 2) e um caso de hidrocefalia associada a diprosopia e problemas articulares (6,66%) (imagem de um dos casos com diprosopia apresentada na Figura 3).



Figura 2. Animal apresentando hidrocefalia associada a aracnomelia e “*paunch calf*”.



Figura 3. Animal com diprosopia.

Com exceção dos animais que apresentaram “*paunch calf*” e distúrbios articulares que necessitaram de auxílio ao parto, os demais nasceram por parto normal sem intervenção.

### 3. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A propriedade avaliada no presente estudo demonstrou 7,5% de bezerros nascidos com diferentes malformações congênicas, tais como: hidrocefalia, aracnomelia, espinha bífida, distúrbios articulares e protusão permanente da língua. Segundo a literatura consultada estas alterações são observadas em no máximo 3% dos nascimentos mundiais de bezerros (5).

Esta ocorrência elevada de anomalias perinatais na propriedade em questão pode ser decorrente da origem dos embriões fecundados e cultivados *in vitro*, pois este fator foi comum a todas as TE e esta situação não se repetiu posteriormente na propriedade. Ao comparar o tipo de biotécnica utilizada foi observado maior porcentagem de bezerros com malformações congênicas na PIVE (3,2%) quando comparada a

inseminação artificial - IA (0,7%), além de incidência aumentada de anormalidades placentárias, da medula espinhal e membros do bezerro (10). Em revisão, Farin et al. (2) demonstraram prevalência de natimortos e de morte neonatal variando de 2,4% a 15,6% em novilhas e 17,9% em vacas (2). No entanto, grande parte destas perdas perinatais é consequência das distocias associadas ao tamanho elevado dos fetos (2,11).

Concluimos que alguma alteração na produção destes embriões especificamente pode ter induzido as anomalias observadas na referida propriedade apenas neste período;

Nos últimos anos os progressos obtidos com os estudos dos meios de cultivo *in vitro* tem aprimorado a técnica e reduzido os distúrbios perinatais, no entanto é necessário realizar esse tipo de levantamento tanto no Brasil quanto no mundo para conhecermos e minimizarmos a ocorrência de anomalias congênicas e outros problemas especificamente ligados à PIVE, contribuindo para o aperfeiçoamento desta biotécnica.

#### 4. REFERÊNCIAS

1. Perez BC. Análise genética da produção *in vitro* de embriões bovinos Guzerá [dissertação]. Pirassununga: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo; 2016.
2. Farin PW, Piedrahita JA, Farin CE. Errors in development of fetuses and placentas from *in vitro*-produced bovine embryos. *Theriogenology*. 2006;65(1):178-91.
3. Campos KF, Sousa MGS, Silva NS, Oliveira CHS, Duarte MD, Barbosa JD, Oliveira CMC. Doenças congênicas em bovinos diagnosticadas pela central de diagnóstico veterinário (CEDIVET) da Universidade Federal do Pará, no período de 1999 a 2009. In: Anais do 8º Congresso Brasileiro de Buiatria; 2009 Out 21-24; Belo Horizonte, MG. Belo Horizonte: Ciênc Anim Bras (Supl. 1); 2009. p. 13-8. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/7706/5468>
4. Dantas AFM, Riet-Correa F, Medeiros RMT, Galiza GJN, Pimentel LA, Anjos BL, Mota RA. Malformações congênicas em ruminantes do semiárido do nordeste brasileiro. *Pesqui. Vet. Bras*. 2010;30(10):807-15.
5. Marcolongo-Pereira C, Schild AL, Soares MP, Vargas Junior SF, Riet-Correa F. Defeitos congênicos diagnosticados em ruminantes na Região Sul do Rio Grande do Sul. *Pesqui. Vet. Bras*. 2010;30(10):816-26.
6. Pavarini SP, Sonne L, Antoniassi NAB, Santos AS, Pescador CA, Goberllini LG, Driemeier D. Anomalias congênicas em fetos bovinos abortados no sul do Brasil. *Pesqui. Vet. Bras*. 2008;28(3):149-54.
7. Filho APS, Souto RJC, Costa NA, Souza JCA, Coutinho LT, Silva NAA, Afonso JAB. Monstros fetais como causa de distocia em vacas. *Rev. Bras. Ciênc. Vet*. 2015;22(2):81-4.
8. Nicácio MAC, Carvalho GD, Serrano MTL, Lang A, Santana ML. Espinha bífida aberta em bovino: primeiro relato no estado de Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 2013;65(2):341-5.

9. Gentile A, Testoni S. Inherited disorders of cattle: A selected review. Slov Vet Zb. 2006;43(1):17-29.
10. Van Wagtendonk-de Leeuw AM, Aerts BJG, den Daas JHG. Abnormal offspring following *in vitro* production of bovine preimplantation embryos: A field study. Theriogenology. 1998;49(5):883-94.
11. Young LE, Sinclair KD, Wilmut I. Large offspring syndrome in cattle and sheep. Rev Reprod. 1998;3(3):155-63.

**ARTIGOS ORIGINAIS**

## **AVALIAÇÃO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DAS PRINCIPAIS ESTRUTURAS DO ESCROTO DE BÚFALOS EM DESENVOLVIMENTO**

Ariane Dantas<sup>1</sup>  
Viviane Maria Codognoto<sup>2</sup>  
Luiz Gustavo Bicas Barbosa<sup>2</sup>  
Camila de Andrade Sarkis<sup>2</sup>  
Maria Márcia Pereira Sartori<sup>3</sup>  
Fernanda Gabriela de Oliveira<sup>2</sup>  
Michel de Campos Vettorato<sup>2</sup>  
Eunice Oba<sup>2</sup>  
Vânia Maria de Vasconcelos Machado<sup>2</sup>

### **RESUMO**

O objetivo deste estudo foi relatar o uso da ressonância magnética (RM) para avaliar os principais componentes do escroto de búfalos, bem como sua relação com a idade, peso corporal (PC) e níveis plasmáticos de testosterona. Foram avaliados o parênquima testicular (PT), mediastino (MD), cabeça (CE), corpo (CP) e cauda do epidídimo (CD), plexo pampiniforme (PP) e a túnica albugínea (TA) de dez peças anatômicas de búfalos com média de idade de 20,20 meses e peso corporal (PC) de 564kg, obtidas de frigorífico. Os exames de RM foram realizados utilizando um equipamento de baixo campo magnético de 0,25 Tesla e quatro bobinas de radiofrequência. Realizaram-se as sequências: Spin eco T1 (SE-T1), Short TI Inversion-Recovery (STIR), Fast Spin eco T2 (FSE-T2), Gradiente eco T1 (GE-T1), Gradiente eco T2 (GE-T2) e Turbo 3D-T1. Realizou-se a colheita de sangue, durante a sangria dos animais, para avaliação da concentração plasmática de testosterona (ng/mL). Determinou-se o grau de similaridade (%) para avaliação da equiparidade das imagens com a idade, concentração plasmática de testosterona e PC. Para o PT, a maior similaridade foi encontrada entre a idade, a concentração plasmática de testosterona (77,31%) com a GE-T2 e o PC teve maior similaridade (71,07%) com a GE-T1. O MD apresentou similaridade de 93,70% entre a idade e a plasmática concentração de testosterona com a FSE-T2 e STIR e em relação ao PC, o nível de similaridade foi superior na GE-T2 e FSE-T2 (60,10%). Para CE e CP, o nível de similaridade da idade e da concentração plasmática de testosterona foi de 82,93% com a GE-T2 e o PC apresentou 64,50% de similaridade com a GE-T1 e FSE-T2. Para a CD, a idade e a concentrações plasmáticas de testosterona tiveram nível de similaridade de 75,59% com a GE-T2 e com relação ao PC, o nível de similaridade foi igual para todas as sequências (45,55%). Já o PP teve maior similaridade entre o PC e a GE-T2, FSE-T2 e STIR (64,50%) e TA apresentou igual similaridade da idade, concentração plasmática de testosterona e PC, em todas as sequências avaliadas (75%). A avaliação por RM do escroto de búfalos permitiu a observância da equidade das imagens com a idade, PC e concentração plasmática de testosterona, contudo, não foi possível o estabelecimento de uma sequência de pulso padrão.

---

<sup>1</sup>Escola Técnica Estadual de São Manuel. Correspondência: dantas.vet@gmail.com

<sup>2</sup>Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Unesp/Campus de Botucatu.

<sup>3</sup>Faculdade de Ciências Agrônomicas - Unesp/Campus de Botucatu.

**Palavras-chave:** búfalo, estrutura escrotal, diagnóstico por imagem, ressonância magnética.

## **MAGNETIC RESONANCE EVALUATION OF THE MAIN STRUCTURES OF THE SCULPTURE OF BUFFALO DEVELOPMENT**

### **ABSTRACT**

The objective of this study was to report the use of magnetic resonance imaging (MRI) to evaluate the main components of the buffalo scrotum, as well as its relation with age, body weight (BW) and plasma testosterone levels. The testicular parenchyma (PT) was evaluated; Mediastinum (MD); (CP) and the tail of the epididymis (CD), pampiniform plexus (PP) and the tunica albuginea (TA) of ten anatomical pieces of buffalo with a mean age of 20,20 months and body weight (CP) Of 564kg, obtained from refrigerator. MRI scans were performed using a 0.25 Tesla low magnetic field equipment and four radiofrequency coils. The following sequences were performed: Spin echo T1 (SE-T1), Short TI Inversion-Recovery (STIR), Fast Spin echo T2 (FSE-T2), E2 gradient (GE-T2), E2 gradient (GE-T1) and Turbo 3D-T1. Blood sampling was also performed during bleeding of the animals to evaluate the plasma concentration of testosterone (ng/mL). The degree of similarity (%) was determined for the evaluation of the image equivalence with age, plasma testosterone concentration and CP. For PT, the highest similarity was found between age and plasma testosterone concentration (77.31%) with GE T2 and PC had greater similarity (71.07%) with GE-T1. The MD presented similarity of 93.70% between the age and the plasma testosterone concentration with the FSE-T2 and STIR and in relation to the PC, the level of similarity was higher in the GE-T2 and FSE-T2 (60.10%). For EC and CP, the level of similarity of age and plasma testosterone concentration was 82.93% with GE-T2 and PC had 64.50% similarity with GE-T1 and FSE-T2. For CD, age and plasma testosterone levels had similarity levels of 75.59% with GE-T2 and with respect to CP, the level of similarity was the same for all sequences (45.55%). The PP had a greater similarity between PC and GE-T2, FSE-T2 and STIR (64.50%) and TA presented similar similarity of age, plasma testosterone concentration and PC, in all the sequences evaluated (75%). The MR evaluation of the buffalo scrotum allowed the observance of the fairness of the images with age, PC and plasma testosterone concentration, however, it was not possible to establish a standard pulse sequence.

**Key words:** buffalo, scrotal structure, diagnostic imaging, magnetic resonance.

## **EVALUACIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA DE LAS PRINCIPALES ESTRUCTURAS DEL ESCRITO DE BÚFALOS EN DESARROLLO**

### **RESUMÉN**

El objetivo de este estudio fue relatar el uso de la resonancia magnética (RM) para evaluar los principales componentes del escroto de búfalos, así como su relación con la edad, peso corporal (PC) y niveles plasmáticos de testosterona. Se evaluó el parénquima testicular (PT), Mediastino (MD), (PP) y la túnica albugínea (TA) de diez piezas anatómicas de búfalos con una media de edad de 20,20 meses y peso corporal (PC). De 564kg, obtenidas de nevera. Los exámenes de RM se realizaron utilizando un equipo de bajo campo magnético de 0,25 Tesla y cuatro bobinas de radiofrecuencia. Se realizaron

las secuencias: Spin eco T1 (SE-T1), Short TI Inversion-Recovery (STIR), Fast Spin eco T2 (FSE-T2), Gradiente eco T2 (GE-T1), Gradiente eco T2 (GE-T2) y Turbo 3D-T1. Se realizó también la toma de sangre durante la sangría de los animales para evaluar la concentración plasmática de testosterona (ng/ml). Se determinó el grado de similitud (%) para evaluar la equiparidad de las imágenes con la edad, concentración plasmática de testosterona y PC. Para el PT la mayor similitud fue encontrada entre la edad y la concentración plasmática de testosterona (77,31%) con la GE-T2 y el PC tuvo mayor similitud (71,07%) con la GE-T1. El MD presentó una similitud de 93,70% entre la edad y la concentración plasmática de testosterona con la FSE-T2 y STIR y en relación al PC, el nivel de similitud fue superior en la GE-T2 y el FSE-T2 (60,10%). Para CE y CP, el nivel de similitud de la edad y de la concentración plasmática de testosterona fue del 82,93% con la GE-T2 y el PC presentó 64,50% de similitud con la GE-T1 y el FSE-T2. Para la CD, la edad y las concentraciones plasmáticas de testosterona tuvieron un nivel de similitud del 75,59% con la GE-T2 y con respecto al PC, el nivel de similitud fue igual para todas las secuencias (45,55%). El PP tuvo una mayor similitud entre el PC y la GE-T2, FSE-T2 y STIR (64,50%) y TA presentó igual similitud de la edad, concentración plasmática de testosterona y PC, en todas las secuencias evaluadas (75%). La evaluación por RM del escroto de búfalos permitió la observancia de la equidad de las imágenes con la edad, PC y concentración plasmática de testosterona, sin embargo, no fue posible el establecimiento de una secuencia de pulso estándar.

**Palabras clave:** búfalo, estructura escrotal, diagnóstico de imágenes, resonancia magnética.

## INTRODUÇÃO

Os búfalos são considerados fonte economicamente importante para a produção de carne e leite, especialmente no Brasil (1). Deste modo, para que a ampliação do rebanho bubalino persista e que a bubalinocultura de corte continue como um empreendimento pecuário cada vez mais atraente sob o ponto de vista econômico, faz-se necessário um estudo mais aprofundado dos aspectos reprodutivos nessa espécie (2).

A permanência no rebanho de um animal com afecções reprodutivas, tais como degeneração, lesões ou calcificação dos testículos e estruturas adjacentes, reflete negativamente na fertilidade, seleção e melhoramento genético dos animais, compromete a eficiência reprodutiva (3). Segundo Vale et al. (4), 80% das patologias diagnosticadas no trato genital masculino de bubalinos estão relacionadas com a bolsa escrotal, testículos e os epidídimos, enquanto que as glândulas sexuais acessórias (próstata, glândulas vesiculares e bulbos-uretrais) são raramente acometidas por patologias.

Sob este ponto de vista, as informações que se tem sobre os bubalinos são incipientes, especialmente em relação ao macho. A falta desses conhecimentos faz com que a seleção de reprodutores ocorra a partir de características fenotípicas que pouco tem a contribuir para a melhoria da produtividade do rebanho (5).

O diagnóstico do potencial reprodutivo aos machos tem sido limitado à palpação, circunferência escrotal e análise do sêmen (6). Por isso, com o objetivo de reduzir a subjetividade, tendenciosidade, possíveis falhas e aumentar a reprodutibilidade entre diferentes examinadores do desenvolvimento reprodutivo de búfalos, tem sido proposto o uso de análise de imagem por computador (7). Nesse sentido, faz-se necessário a avaliação da aplicabilidade de técnicas mais avançadas, tais como a ressonância magnética (RM).



A aplicação da ressonância magnética (RM) em pesquisa e clínica veterinária é cada vez mais indicada, principalmente para a avaliação de alterações reprodutiva, em virtude da sua capacidade de avaliação multiplanar, melhor sensibilidade ao contraste, caracterização específica de tecidos moles, detecção de quantidades mínimas de gordura e alta sensibilidade na detecção de coleções líquidas (8). Entretanto, é um tema que necessita ser melhor explorado em animais de produção de expressivo valor zootécnico. Portanto, este trabalho tem por objetivo avaliar aspectos de imagens das principais estruturas do escroto de bubalinos por meio da RM, bem como sua relação com a idade, peso corporal e nível plasmático de testosterona.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Unesp/Campus de Botucatu (Protocolo n° 82/2015).

Foram utilizadas dez peças anatômicas de búfalos com médias de idade de 20,20 meses e de peso corporal (PC) de 564kg, provenientes do Frigorífico Cowpig, localizado no município de Boituva/SP. O histórico sanitário emitido pela propriedade de origem de cada animal foi avaliado para certificação da higidez dos mesmos.

Um par de testículos de cada animal foi coletado logo após a sua remoção na linha de abate, sendo posteriormente identificados, acondicionados e transportados sob refrigeração em caixas térmicas até o Setor de Diagnóstico por Imagem do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Unesp/Campus de Botucatu, sendo mantido a -20°C até ser analisado.

Após o descongelamento das peças, estas, foram submetidas ao exame de RM. Avaliou-se o parênquima testicular (PT), mediastino (MD), cabeça (CE), corpo (CP) e cauda do epidídimo (CD), plexo pampiniforme (PP) e a túnica albugínea (TA). Foi utilizado um equipamento de baixo campo magnético de 0,25 Tesla (Vet - RM Large, Esaote®) com quatro canais de radiofrequência. Foram realizadas secções de 5,0 mm nas sequências (Figura 1): Gradiente eco T1 (GE-T1) sagital com 3,0 mm (FOV= 10,0 cm), Gradiente eco T2 (GE-T2) sagital com 3,0 mm (FOV= 10,0 cm), Fast Spin eco T2 (FSE-T2) sagital a 3,0 mm (FOV= 18,0 cm) e Short Time Inversion Recovery (STIR) sagital a 3,0 mm (FOV= 18,0 cm). As imagens obtidas foram analisadas utilizando o software Synapse Pacs® (Software Program System, Fujifilm, Tóquio, Japão) (Figura 1), sendo atribuído parâmetros de hiposinal e hipersinal.

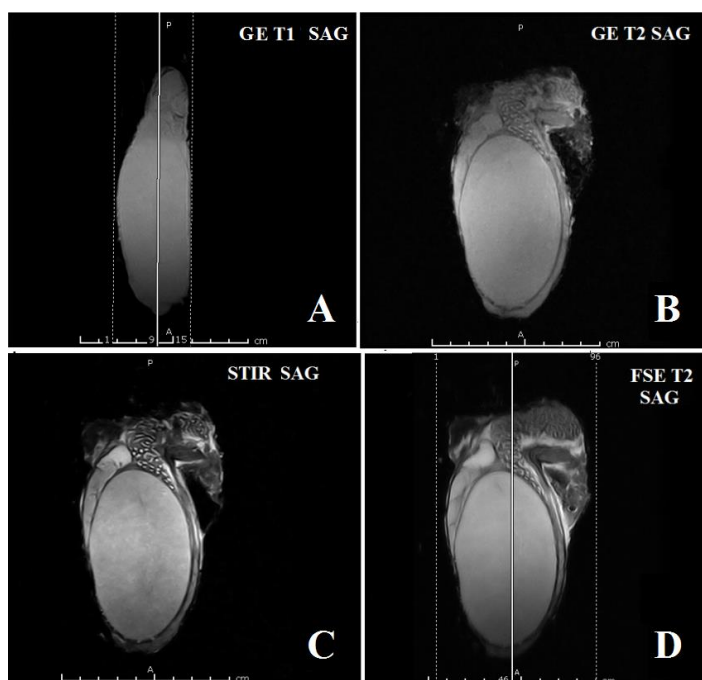


Figura 1. Imagens de RM das principais estruturas do escroto de búfalo em diferentes sequências de pulsos, sendo GE-T1 (A), GE-T2 SAG, STIR-T2 SAG (B), FSE-T2 SAG (C) e STIR SAG (D).

Foi realizada também a colheita de sangue com o auxílio de tubos com EDTA colhendo-se aproximadamente 5mL de sangue de cada animal, 5 segundos após o corte dos vasos sanguíneos, na área de sangria. As amostras de sangue foram centrifugadas (2.500 X g por 30 min) para a separação do plasma. O plasma para a dosagem de testosterona foi armazenado em alíquotas de 1mL e congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o processamento com *kits* comerciais (Beckman Coulter) usando a técnica de Radioimunoensaio, seguindo as instruções contidas no manual de cada produto. A leitura foi feita em contador Gamma Counter, Perkin Elmer<sup>®</sup> e o resultado dado em ng/mL.

Para avaliação dos dados empregou-se a análise de agrupamento hierárquica, a qual avalia a porcentagem de similaridade, sendo esta representada por Dendrogramas. Utilizou-se o programa Minitab 2010.

## RESULTADOS

O nível de similaridade entre a idade e a concentração plasmática de testosterona variou de 97,81 a 100%, com média de 98,37%, sendo observado valor plasmático médio de 0,15ng/mL. A idade e a concentração plasmática de testosterona apresentaram mesmo intervalo de variação (45,55% a 75,00%) e média de similaridade (59,86%) com o PC. Os resultados, quanto a porcentagem de similaridade estão registrados na Figura 2.

Para o PT, a idade e a concentração plasmática de testosterona apresentaram nível de similaridade de 77,31% na sequência GE-T2, 62,13% na FSE-T2 e de 59,21%, tanto para a sequência GE-T1, quanto para a STIR. O PC teve similaridade de 71,07% com a sequência GE-T1 e 64,50% com o STIR e 59,21% com as demais sequências (GE-T2 e FSE-T2). A maior similaridade foi observada entre as sequências GE-T2 e a FSE-T2 (62,13%) e ambas tiveram nível de similaridade de 59,21% com a GE-T1 e a STIR.

Para o MD o nível de similaridade da idade e a concentração plasmática de testosterona assimilaram-se em 64,44% com as imagens na sequência GE-T2, FSE-T2 e STIR e para a GE-T1 a similaridade foi de 40,65%. Em relação ao PC, o nível de similaridade com as imagens GE-T2, FSE-T2 e STIR foi de 60,10% e de 40,65% com a GE-T1. As sequências FSE-T2 e STIR assemelharam-se em 93,70% e tiveram similaridade de 89,22% com a GE-T2, já as três sequências apresentaram similaridade de 40,65% com a GE-T1.

Para CE e CP o nível de similaridade da idade e da concentração plasmática de testosterona foi de 82,93% com a imagem GE-T2 e de 59,21% para FSE-T2, STIR e GE-T1. Enquanto o PC apresentou 64,50% de similaridade com a GE-T1, FSE-T2 e STIR e 59,21% com a GE-T2. Já a similaridade entre as imagens GE-T1, FSE-T2 foi de 100% e dessas, como a GE-T2 foi de 52,63%.

Para a CD a idade e a concentrações plasmáticas de testosterona tiveram nível de similaridade de 75,59% com a sequência GE-T2, de 70,65% com a FSE-T2 e STIR e de 55,06% para a GE-T1. Com relação ao PC, o nível de similaridade foi igual para todas as imagens (45,55%). Quanto ao nível de similaridade entre as sequências, a FSE-T2 e STIR apresentaram 100% de similaridade, 70,65% de similaridade com a GE-T2 e 55,65% com a GE-T1.

No PP foi observado nível de similaridade de 59,21% da idade e da concentração plasmática de testosterona com as sequências GE-T2, FSE-T2 e STIR, e de 52,63% para GE-T1. Já com o PC, a similaridade foi de 64,50% das imagens GE-T2, FSE-T2 e STIR e de 52,63% com a GE-T1. O nível de similaridade entre as sequências GE-T2, FSE-T2 e STIR foi de 100% e de 52,63% com a GE-T1.

Para a TA o nível de similaridade da idade, da concentração plasmática de testosterona e do PC foi igual em todas as sequências avaliadas (75%), sendo observado 100% de similaridade entre as sequências GE-T2, FSE-T2 e STIR de 100% e de 75% com a GE-T1.

Já as sequências SE-T1, SE-T2 e a Turbo 3D-T1 não apresentaram similaridade com nenhuma das características avaliadas no presente estudo.

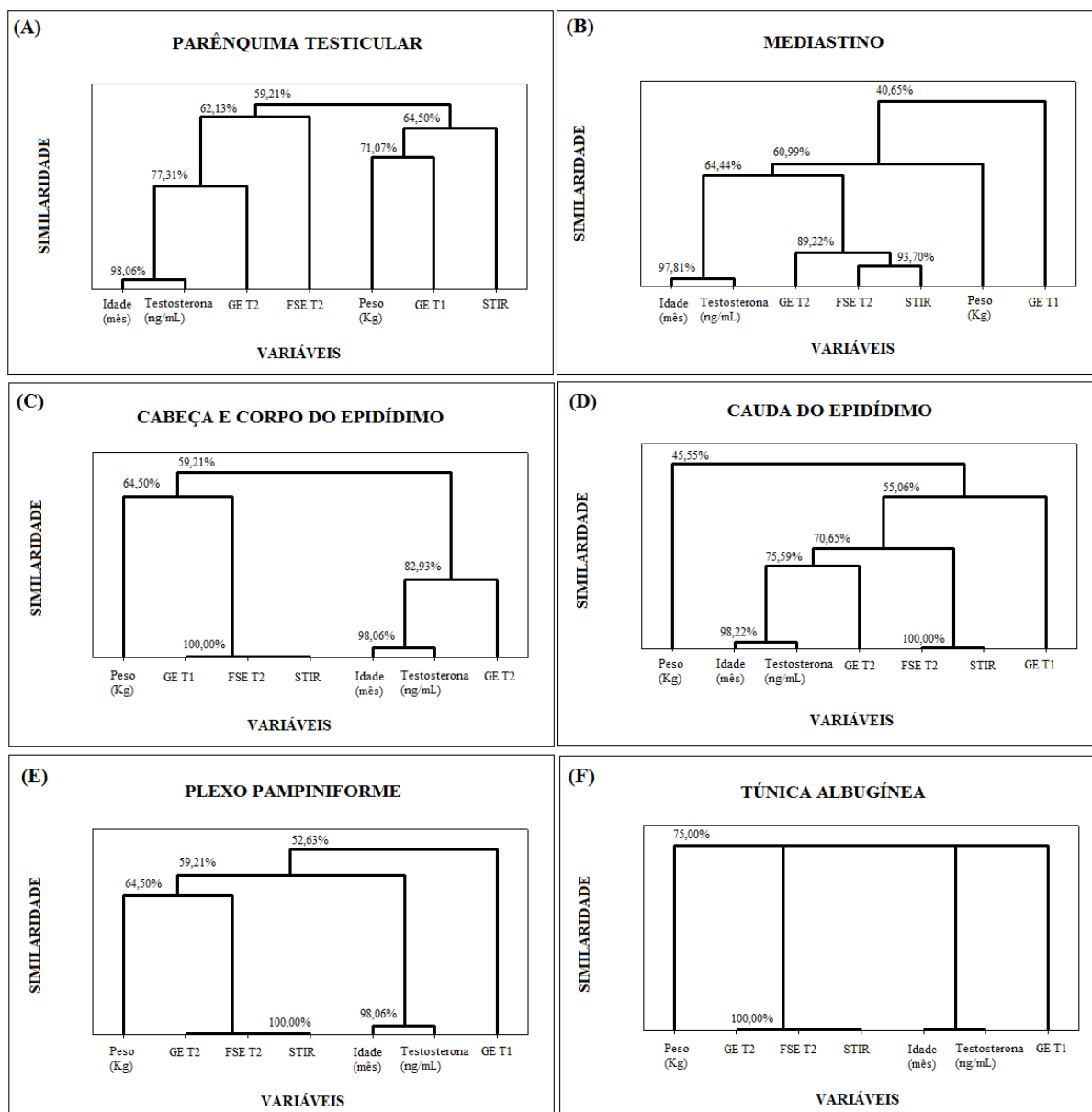


Figura 2. Porcentagem de similaridade entre a idade, concentração plasmática de testosterona e peso corporal com as sequências: GE-T1, GE-T2, FSE-T2 e STIR, sendo (A) para parênquima testicular, (B) mediastino, (C) cabeça e corpo do epidídimo, (D) cauda do epidídimo, (E) plexo pampiniforme e (F) túnica albugínea.

## DISCUSSÃO

O alto nível de similaridade da idade com a concentração plasmática de testosterona indica o estabelecimento de uma relação direta entre essas duas variáveis, o que leva a concluir que, independentemente das sequências utilizadas na realização da técnica de RM, esses dois elementos avaliados mantiveram expressiva proximidade entre si. Corroborando Ramalho et al. (9) que afirmam que o nível plasmático de testosterona aumenta com o progredir da idade dos animais até atingir a puberdade.

A similaridade da idade e concentração plasmática de testosterona com o PC foi moderada, indicando a existência de uma concordância entre essas variáveis, devido ao fato dos animais serem provenientes de propriedades distintas e provavelmente submetidos a regimes alimentares diferentes, acredita-se que o desenvolvimento corporal de cada

animal, foi também diferente, visto que o PC teve variação de 524,50 a 587kg com média de 564kg, o que possivelmente influenciou na determinação de uma similaridade menos consistente entre essas características.

A testosterona é um importante hormônio esteróide, que participa de diversos processos relacionados a reprodução e desenvolvimento dos machos (10). Contudo, o manejo nutricional oferecido aos animais pode ter efeito direto sobre a sua síntese (11). Dessa forma, acredita-se também que a possível diferenciação alimentar e consequentemente diferença de desenvolvimento corporal, podem ter interferido no estabelecimento de uma equivalência mais sólida entre as variáveis estudadas.

A similaridade é simplesmente uma forma de expressar o quanto as características são semelhantes, sendo que a sequência de imagem que mais se assimilou com a idade e a concentração plasmática de testosterona foi a GE-T2.

A sequência GE-T2 caracteriza de forma mais apropriada, as mudanças de permeabilidade e o extravasamento para o espaço extravascular, devido ao tempo de aquisição longo de imagens. Acredita-se que a constante similaridade dessa sequência com a idade e a concentração plasmática de testosterona esteja relacionada ao desenvolvimento fisiológico dos animais, pois estavam em fase de crescimento e provavelmente próximos a puberdade, sendo esperada maior permeabilidade da estrutura gonadal. Segundo Kastelic (12) quanto maior o desenvolvimento corporal dos animais e mais próximos da puberdade, maior será o suprimento sanguíneo da região do escroto.

Já com relação ao PC, nota-se que não existiu uma similaridade espacial contínua deste com as sequências de RM utilizadas, sendo identificado uma classificação distinta para cada atributo estudado, sendo o grau de diversidade das características estruturais o que poderia parcialmente explicar tais variações deste índice.

Quanto à similaridade avaliada entre as próprias sequências, observou-se que a GE-T2, FSE-T2 e a STIR foram as que apresentaram 100% de semelhança, sendo essas consideradas as mais sensíveis, independentemente da estrutura estudada, o que permitiu inferir a existência de uma homologia das características visuais intrínsecas as imagens. A comparação de informações obtidas em quaisquer uma das três sequências é complementar e efetiva, não havendo uma descontinuidade estrutural. Dessa forma, mesmo que o tempo de aquisição de imagens seja diferente entre as sequências, sendo a FSE mais rápida que a GE-T2, a resposta do sinal das estruturas foi similar.

A técnica STIR permite anular o sinal espectral do tecido adiposo e produzir imagens onde o uso de pulsos de saturação espectral não é possível, como em equipamentos de baixo campo (<0,5 Tesla) (8), sendo a sua aplicação essencial para a avaliação de estruturas do escroto de animais jovens, os quais apresentam nessa região substancial quantidade de tecido adiposo, pois estão em fase de desenvolvimento (13). Porém, a alta densidade da gordura pode obscurecer as imagens e aumentar o número de artefatos que a degradam e comprometer a adequada separação das frações de água e gordura (14). A alta similaridade observada no presente estudo entre as sequências de RM permitiu a combinação das vantagens de cada sequência, sendo tal fato relevante, pois com o uso da STIR foi possível a obtenção de imagens com melhor visibilidade, caracterização e definição do limite das estruturas, garantindo maior veracidade na interpretação dos resultados.

Apesar da utilização de um equipamento de baixo campo magnético, neste experimento os objetivos foram alcançados, ou seja, todas as estruturas do escroto puderam ser visibilizadas, independentemente da sequência de pulso de uso. No entanto, estima-se que a realização da RM com campo magnético superior a 1,5 Tesla poderá fornecer mais detalhes estrutural do escroto de búfalos e de outras espécies.

## CONCLUSÃO

A avaliação por ressonância magnética do escroto de búfalos permitiu a obtenção de dados preditivos para esta espécie nesta faixa etária, bem como a observância de equidade das mesmas com a idade, concentração plasmática de testosterona e o peso corporal. Contudo, as imagens das diferentes estruturas do escroto de bubalinos possuem características próprias, sendo difícil estabelecer-se uma sequência-padrão para os processos imaginológico estudados.

## REFERÊNCIAS

1. Silva SL, Junior GN. Produção de derivados bubalinos e mercado consumidor. *Tekhne e Logos*. 2014;5(1):15-30.
2. Oba E. Tópicos atualizados ligados a reprodução na espécie bubalina. Jaboticabal: Funep; 1993.
3. Moraes JCF, Horn MM, Rosado JAG. Exame andrológico em touros: qualidade dos indicadores da aptidão reprodutiva em distintos grupos raciais. *Cienc. Rural*. 1998;28:647-52.
4. Vale WG, Ribeiro HFL, Sousa JS, Silva AOA, Barbosa EM, Rolim Filho ST. Seleção e avaliação andrológica do reprodutor bubalino. *Rev. Bras. Reprod. Anim*. 2008;32:141-55.
5. Ayala HDM, Ribeiro HFL, Filho STR, Silva EVC, Vale WG. Association of testicular echogenicity, scrotal circumference, testicular volume and testosterone concentration in buffaloes. *Rev. Bras. Med. Vet*. 2016;38(4):334-40.
6. Silva EVC, Filho LCCC, Souza CC, Oliveira CC, Queiroz VLD, Zúccari CESN. Seleção de touros para reprodução a campo: novas perspectivas. *Rev. Bras. Reprod. Anim*. 2015;39(1):22-31.
7. Chacur MGM. Termografia por infravermelho na reprodução de bubalinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim*. 2017;41(1):180-7.
8. Wisner E, Zwingenbergera A. Atlas of small animal CT and MRI. New Jersey: Wiley Blackwell; 2015.
9. Ramalho RDOS, do Couto DM., Rodrigues VC, Camargo AM. Características morfométricas e testiculares de búfalos em diferentes idades. *Ciênc. Anim. Bras*. 2017;18:1-8.
10. Shatab MS, Kumar A, Honparkhe M, Singhal S, Kaur S, Brar PS. Endocrine status of serum testosterone, estrogen and thyroid hormones in high fertility breeding buffalo bulls and their male calves. *Indian J Anim Sci*. 2016;6(6):1073-5.

11. Kumar A, Singh P., Nitharwal K., Bhakat M., Singh S. Effect of dietary energy levels on growth, testicular development and sperm production in murrah buffalo young bulls. *Indian J. Anim. Nutr.* 2015;32(2):160-3.
12. Kastelic JP. Understanding and evaluating bovine testes. *Theriogenol.* 2014;81:18-23.
13. Awda BJ, Miller SP, Montanholi YR, Voort GV, Caldwell T, Buhr MM, Swanson KC. The relationship between feed efficiency traits and fertility in young beef bulls. *Can. J. Anim. Sci.* 2013;93:185-192.
14. Konar M, Lang J. Pros and cons of low-field magnetic resonance imaging in veterinary practice. *Vet Radiol Ultrasound.* 2011;52(1):5-14.

**EFEITO DO CLOPROSTENOL SÓDICO NA INVOLUÇÃO UTERINA,  
PROGESTERONA E CONCENTRAÇÃO DE 13,14-DIHYDRO-15-KETO  
PROSTAGLANDINA F2 $\alpha$  DE VACAS MULTÍPARAS *BOS TAURUS INDICUS***

Carolina Nogueira de Moraes<sup>1\*</sup>

Leandro Maia<sup>1</sup>

Carla Martins de Queiroz<sup>1</sup>

Flavia Caroline Destro<sup>1</sup>

Mateus José Sudano<sup>2</sup>

Fabiana Ferreira de Souza<sup>1</sup>

João Carlos Pinheiro Ferreira<sup>1</sup>

Eunice Oba<sup>1</sup>

**RESUMO**

Este estudo visou avaliar os efeitos do cloprostenol sódico na involução uterina, dosagem de progesterona (P4) e 13,14-dihydro-15-keto prostaglandina F2 $\alpha$  (PGFM) e atividade folicular em vacas Nelore multíparas tratadas ou não com cloprostenol sódico nos dias 1 e 4 pós-parto (D0= nascimento), bem como testar a hipótese que o tratamento promove uma involução uterina mais rápida e retorno a atividade cíclica normal no puerpério. Para isso, foi feito ultrassom, palpação transretal, exame vaginoscópico e determinação da concentração de P4 e PGFM nos dias 1, 7, 14, 28, 35 e 42 pós-parto (D0= nascimento). A vaginoscopia avaliou o óstio cervical (Escore 1 a 3) e descarga cervical (escore 1 a 5), a palpação transretal avaliou a involução uterina (escore 1 a 3) e o ultrassom avaliou o diâmetro dos folículos, tamanho dos cornos uterino e acúmulo de fluido intrauterino (escore 0 a 3). O tratamento influenciou na descarga cervical (P= 0.034), e nas outras variáveis foi observada a influência do momento (P>0,05). Baseado nestes resultados, nós acreditamos que o uso desse protocolo nos animais com boa seleção genética, manejo e saudáveis pode ser desnecessário e promove gastos adicionais.

**Palavras-chave:** bovinos, cloprostenol sódico, dosagem hormonal, pós-parto, involução uterina.

**EFFECT OF CLOPROSTENOL SODIUM ON UTERINE INVOLUTION,  
PROGESTERONE AND 13,14-DIHYDRO-15-KETO PROSTAGLANDIN F2 $\alpha$   
CONCENTRATIONS OF MULTIPAROUS *BOS TAURUS INDICUS* COWS**

**ABSTRACT**

---

<sup>1</sup>São Paulo State University – UNESP, Rubião Júnior s/n, CEP: 18618-970, Botucatu, São Paulo, Brazil.

<sup>2</sup>Federal University of Pampa - UNIPAMPA, BR 472 - Km 592 - CEP: 97500-970, Uruguaiana - Rio Grande do Sul, Brazil

\*Corresponding author: carolnmoraes@hotmail.com; Telephone/Fax number: 55(14) 3880-2119



This study aimed to evaluate the effects of cloprostenol sodium at uterine involution and hormonal dosage of progesterone (P4) and 13,14-dihydro-15-keto prostaglandin F2 $\alpha$  (PGFM) and follicular activity on multiparous Nelore cows treated or not with cloprostenol sodium on days 1 and 4 postpartum (D0= birth), as well as test the hypothesis that treatment promotes a faster uterine involution and return to normal cyclical activity at puerperium. For this, it was done ultrasound, transretal palpation, vaginoscopy exams and determination of concentration of P4 and PGFM on days 1, 7, 14, 28, 35 and 42 postpartum (D0= birth). Vaginoscopy evaluated cervical ostium (score 1 to 3) and cervical discharge (score 1 to 5), transrectal palpation evaluated uterine involution (score 1 to 3) and ultrasound evaluated the diameter of follicles, size of uterine horn and intrauterine fluid accumulation (score 0 to 3). Treatment influenced at cervical discharge (P= 0.034), and on the other variables it was observed influence of moment (P>0.05). Based on the results, we believe that the use of this protocol in animals with good selection genetic, management and health can be unnecessary and promote additional spending.

**Key words:** bovine; cloprostenol sodium; hormonal dosage; postpartum; uterine involution.

## **EFFECTO DEL CLOPROSTENOL SÓDICO EN LA INVOLUCIÓN UTERINA, CONCENTRACIONES DE PROGESTERONA Y 13,14-DIHI-DRO-15-KETO PROSTAGLANDINA F2A DE VACAS MULTÍPARAS *BOS TAURUS INDICUS***

### **RESUMEN**

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto del cloprostenol sódico en la involución uterina y la concentración sérica de progesterona (P4) y 13,14-dihidro-15-keto prostaglandina F2 $\alpha$  (PGFM) y actividad folicular en vacas multíparas Nelore tratadas o no, con cloprostenol sódico en los días 1 y 4 posparto (D0= día del nacimiento), de igual forma, comprobar la hipótesis de que el tratamiento promueve una involución uterina más rápida y un retorno de la actividad cíclica normal en el puerperio. Fue realizada ecografía, palpación transrectal, vaginoscopia y determinación de la concentración sérica de P4 y PGFM en los días 1, 7, 14, 28, 35, y 42 posparto (D0= día del nacimiento). La vaginoscopia evaluó el ostium cervical (escala de 1-3) y descarga cervical (escala de 1-5), la palpación transrectal determinó la involución uterina (escala de 1-3) y la ecografía evaluó el diámetro folicular, tamaño de los cuernos uterinos y la acumulación intrauterina de fluidos (escala de 0-3). El tratamiento influyó en la descarga cervical (P= 0.034), para las demás variables fue observado efecto del momento (P>0.05). Basados en los resultados, creemos que el uso de este protocolo en animales con buen manejo, salud y selección genética es innecesario y demanda gastos adicionales.

**Palabras claves:** bovino, cloprostenol sódico, concentración sérica, posparto, involución uterina.

### **INTRODUCTION**

Most of the world's cattle herd is concentrated in tropical regions, with predominance of *Bos indicus* by its great capacity for climate adaptation and management conditions (1). In this context, according to data from the U.S. Department

of Agriculture (United States Department of Agriculture - USDA), Brazil has the second largest herd and stands second in relation to meat production (2) highlighting its importance to the national livestock.

The desire of the production of one calf/year for economical gains makes the length of the puerperal period a crucial point. At this period, uterus passes for modifications such as myometrial contraction for uterine cleaning of microbial contamination, uterine and cervical involution, resumption of ovarian cyclicity and endometrial repair (3). In cows, the period of 65 days of postpartum is recommended and the conception within 85 to 90 days is desired according to review (4).

Beef cattle with good corporal condition usually ovulates the dominant follicle with 30 days postpartum when the pulses of LH are at the order of 1pulse/40 minutes (9,11). However, the resumption of ovarian cycle in beef cattle can be delay because of some factors such as nutrition and presence of calf (10), and the use of hormones for the restoration of this period is of great interest.

Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  (PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) is produced in the uterus and helps in uterine involution postpartum acting at myometrial contraction (12) and its metabolite 13,14-dihydro-15-keto prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  (PGFM), is highly correlated with the period of uterine involution (13). The use of fixed-time artificial insemination protocols (FTAI) using analogues of prostaglandin in commercial beef is of great importance and widely used in South America (14) once with it, pregnancy rates greater than 50% can be achieved (15).

Associated with other hormones at FTAI or alone, analogues of PGF<sub>2</sub> $\alpha$  such as cloprostenol sodium are used in early postpartum period to induce or synchronize estrus (16), control luteal function and to reduce the period of uterine involution in beef cattle (17). Based on it, the objective of this work was to evaluate the effect of serial administration of cloprostenol sodium at early postpartum on hormonal dosage of PGFM and progesterone, uterine involution parameters and follicular activity of multiparous Nelore cows.

## MATERIALS AND METHODS

### Ethical aspects

The study was conducted in accordance with ethical guidelines recommended by National Council for Control of Animal Experimentation and College of Animal Experimentation, and was approved by the Institution's Animal Care and Experimentation Ethics Committee on protocol number 50/2012.

### Animals

A total of twenty four multiparous Nelore (*Bos taurus indicus*) cows with parity order between 2-6 (median= 3) and aged between 4 -13 years (median= 9) were used. Animals had body condition score between 3 and 4 (from 1 to 5) (18) and had one calf. Animals were housed in paddocks predominantly of *Brachiaria decumbens*, with mineral supplementation (Minersal<sup>®</sup>, Presidente Venceslau, SP, BR) and water ad libitum in a great management.

Animals with no calving assistance, retained fetal membranes, twin pregnancy or puerperal complications were randomly selected according parity to the realization of this experiment which was conducted in a farm located in Avaré, State of São Paulo, Brazil (latitude: 23°10'S; longitude: 48°93'E; altitude 766 m).

All following analysis was done by a single person to avoid variation of interpretation.

### **Treatment**

The animals (n= 24) were randomly assigned into the treatment and placebo groups (TG and PG, respectively), according to parity. Treated group (TG, n= 12 animals) received 0,530 mg (2 mL) of cloprostenol sodium (Ciosin<sup>®</sup>, MSD Animal Health, São Paulo, SP, BR) intramuscularly, on days 1 and 4 postpartum (D0= birth). Placebo group (PG, n= 12 animals) received by the same route and period 2 mL of 0.9% NaCl solution (Sanobiol<sup>®</sup>, Pouso Alegre, MG, BR).

### **Progesterone and PGFM assays**

Blood plasma was obtained by coccygeal venipuncture, after local cleaning with water, 2% chlorhexidine degermante (Riohex 2% Clorexidina<sup>®</sup>, Rioquimica, São José do Rio Preto, SP, BR) and alcohol iodized, in heparinized tubes on days 1, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 postpartum (considering D0= day of parity). After collection, the blood was centrifuged (Centrifuge Fanem, Bangalore, KA, IN) at 2,500 xg for 10 minutes to obtain the plasma, which stored at -20° C until hormonal analysis.

The concentration of P4 was measured using the Coat-A -Coat radioimmunoassay kit (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA) and PGFM concentration was evaluated using the DetectX 13,14- dihydro<sup>®</sup> kit 15 - keto - prostaglandin F2a (PGFM) enzyme immunoassay kit (Assays Arbor, Michigan, USA), according to the manufacturer's recommendations.

The value of P4 > 1ng/mL was used as cut-of value to indicate the ovulation and presence of corpus luteum (19).

### **Vaginoscopy assay**

The vaginoscopy was performed on days 1, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 postpartum (considering D0= day of parity) for evaluation of cervical discharge and cervical ostium. Therefore, the vulva was cleaned with water and 2% chlorhexidine degermante (Riohex 2% Chlorhexidine<sup>®</sup>, São José do Rio Preto, SP, BR) and a tubular speculum was introduced in the vulva until cervical ostium and cervical discharge evaluation.

The cervical ostium was evaluated for the presence of inflammation, based on its colour, and classified as: 1 - rosea (cervical ostium without inflammation), 2 - intermediate (cervical ostium with small reddish areas) and 3 - red (cervical ostium with inflammation). The evaluation of cervical discharge was based on its aspect and was classified as: 1 - translucent or absent; 2 - red, 3 - mucopurulent (50% of clear mucus and 50% of pus flakes), 4 - chocolaty and 5 - purulent (> 50% pus and bad smell).

### **Transrectal palpation**

Transrectal evaluation was performed on days 1, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 postpartum (considering D0= day of parity) to identify the degree of uterine involution.

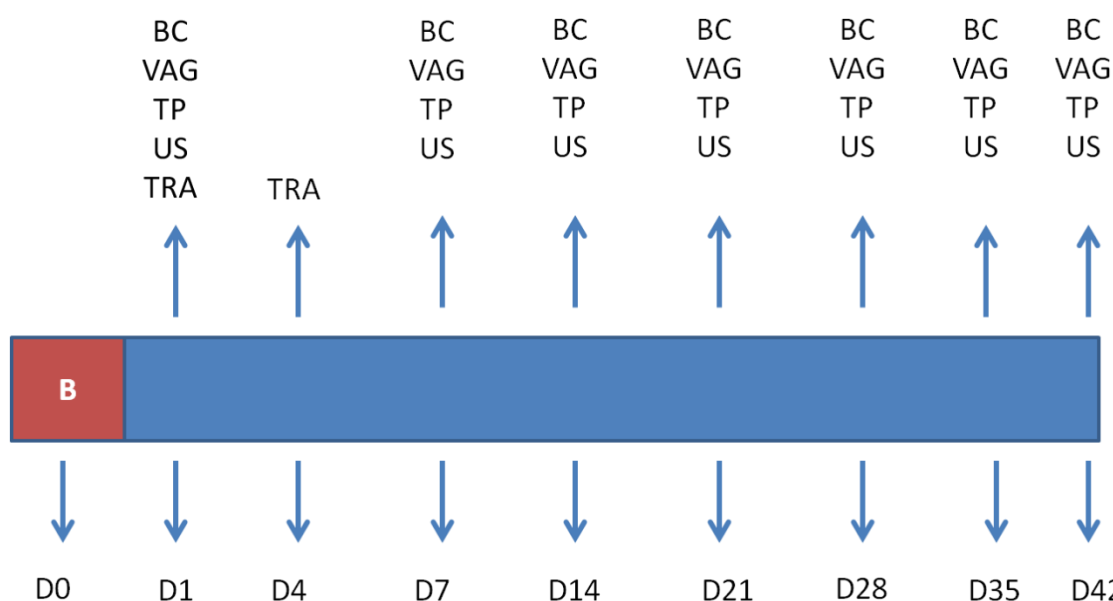
For this, uterine involution was ranked 1-3, with grade 1, uterus little involuted, in the abdominal cavity, with large asymmetry, not being possible its entire palpation, grade 2, uterus with some part in the abdominal cavity, with reasonable asymmetry, being possible the palpation of its entire length and grade 3, uterus with almost all its totality in the pelvic cavity, showing little asymmetry or symmetry.

### **Ultrasound exam**

Ultrasound exams were performed on days 1, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 postpartum (considering D0 = day of parity). The exam was done with the ultrasound portable equipment (Aloka S500; Aloka, Tokyo, JP) using a linear transducer of 7,5 MHz on the

uterine horn previously identified as pregnant by rectal palpation on D1. For the analysis of the involution it was used the following variables: 1 - measurement of the diameter of previously uterine horn (mean of 3 measurements) and 2 - intrauterine fluid accumulation (mean of 3 measurements) according to other study (20) with modifications, classified in: 0 – without fluid; 1- less than 1 cm of fluid in the mean of 3 measurements; 2- more than 1 cm of fluid in the mean of 3 measurements and 3 – more than 2 cm in the mean of 3 measurements. Also, it was done the measurement of the largest follicle in each ovary from D7 and the presence of a corpus luteum was also observed.

Uterine involution was considered complete when there was observed a minimal uterine diameter, uterine fluid accumulation and degree of uterine involution was observed, without difference between two successive examinations. A timeline of all procedures done are shown on Figure 1.



**Figure 1.** Timeline. Animals were treated (T) with cloprostenol sodium or 0.9% NaCl solution on D1 and D4 (D0= Birth - B). Blood collection (BC), vaginoscopy (VAG), transrectal palpation (TP) and ultrasound (US) exams were performed on D1, D7, D14, D28 and D42.

### Data analysis

Data were analysed using the mixed linear model (MIXED) procedure with the SAS statistical software package (Version 9.2; SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). Sources of variation in the model included treatment (TG vs PG), moment (day 1, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 postpartum), and first-order interactions; these were considered as fixed effect. Animals were considered as random effect. If necessary, logarithmic transformation was used to improve normality. Means were separated using least square difference (LSD). All data are reported as untransformed least-squares means  $\pm$  s.e.m. For all analyses,  $P < 0.05$  was considered to be significant.

## RESULTS

Based on the results of the present study, cloprostenol sodium show effect ( $P = 0.03$ ) only on variable cervical discharge. Additionally, regardless of treatment,

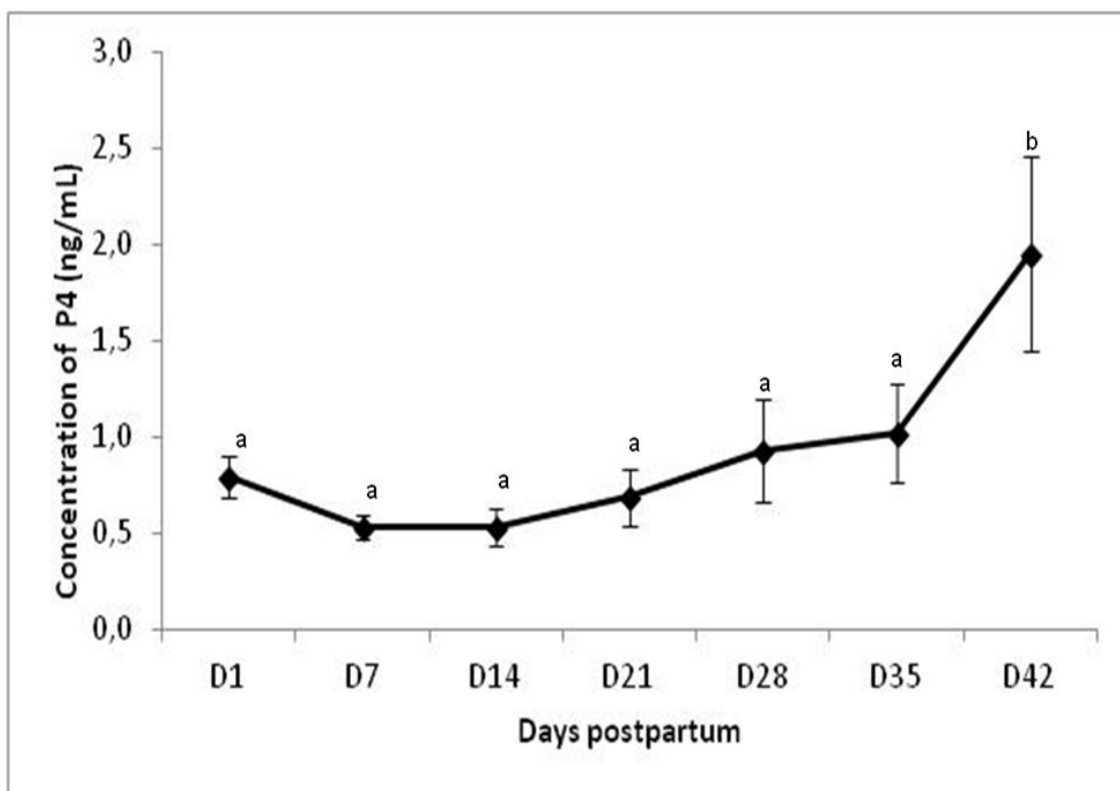
differences ( $P < 0.05$ ) were observed in function of time (moment) in the variables studied: concentration of P4, concentration of PGFM, uterine diameter, follicles size, degree of uterine involution, intrauterine fluid, cervical ostium and cervical discharge.

It was considered D1 as the day of minimal degree of uterine involution and D42 as maximal degree of uterine involution and because of it, comparisons were mainly done among these days.

### Progesterone and PGFM assay

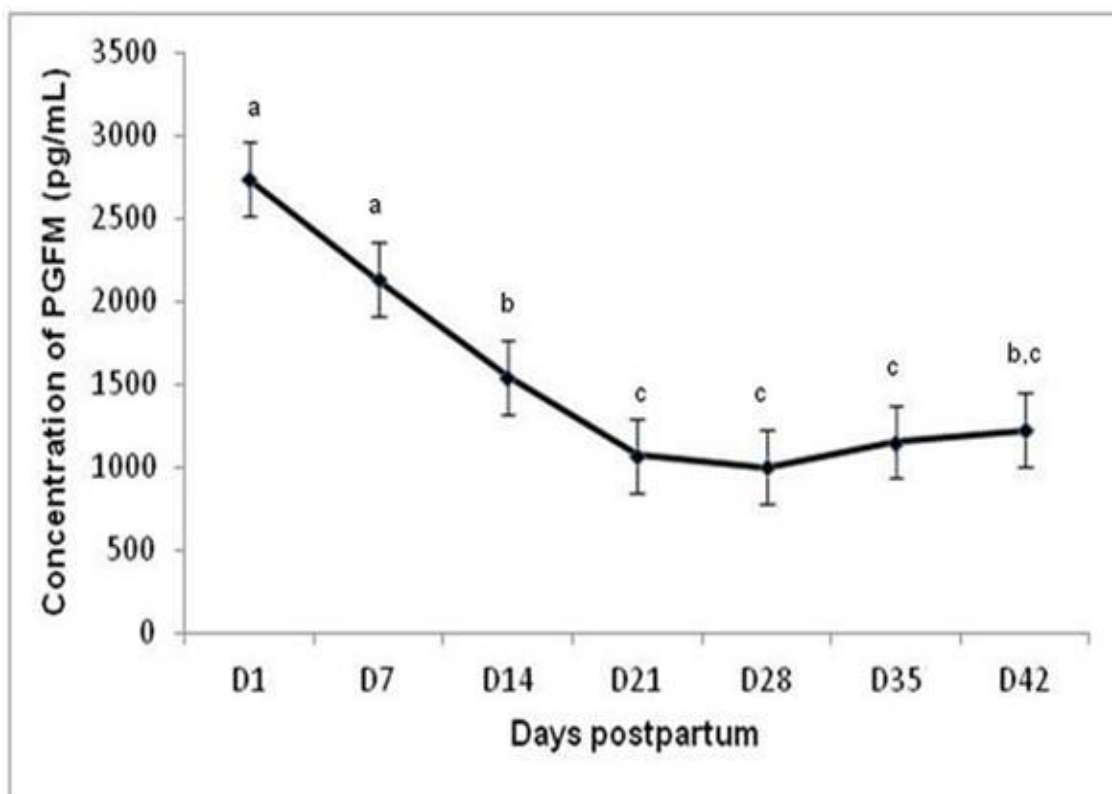
Animals with high concentrations of P4 ( $n = 1$ ) and PGFM ( $n = 2$ ) during all experimental period were omitted from hormonal analysis to avoid incorrect data analysis. It was observed difference between the moments ( $P < 0.05$ ) but there was no influence of treatment ( $P > 0.05$ ) on the concentration of P4. It was also observed difference between the moments ( $P < 0.05$ ) with a tendency of influence of treatment x moment ( $P = 0.07$ ) for concentration of PGFM.

Concentrations of P4 on D42 differed from the other studied moments (D1, D7, D14, D21, D28 and D35) ( $P = 0.00$ ), with an increase and with its highest concentration value on D42, as shown on Figure 2.



**Figure 2.** Mean and standard error of P4 dosage on days 1, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 postpartum of 23 Nelore cows. Uncommon letters differ ( $P < 0.05$ ) between moments, by the mixed linear model (MIXED) procedure with the SAS statistical software package.

Concentration of PGFM differed significantly ( $P < 0.00$ ) between D1 to D42 with a general decrease on its value and with a progressive decrease from D7 to D28, as shown on Figure 3.



**Figure 3.** Mean and standard error of PGFM dosage on days 1, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 postpartum of 22 Nelore cows. Uncommon letters differ ( $P < 0.05$ ) between moments, by the mixed linear model (MIXED) procedure with the SAS statistical software package.

### Vaginoscopy

Regarding cervical discharge and cervical ostium it was observed influence of moment ( $P < 0.0001$ ) for both and influence of treatment ( $P = 0.03$ ) for the variable cervical discharge. Data are shown on Table 1. The mean scores of the cervical ostium observed in D1 differed ( $P < 0.05$ ), from the other studied moments (D14, D21, D28, D35 and D42), except for D7 with a reduction in the degree of inflammation as indicated by scores. The mean score of the cervical discharge changes from D1 to D21 ( $P < 0.05$ ) (from a translucent or absent to a red secretion), however with no difference ( $P > 0.05$ ) between D1, D28, D35 and D42.

**Table 1.** Summarized description of the variables evaluated during the experimental period.

<b>Variables Analyzed</b>	<b>Scores</b>	<b>Description</b>
Diameter of gravid uterine horn	-	Mean of three measurements
Intrauterine fluid accumulation	0 to 3	Mean of three measurements. Vary from without fluid to more than 2 cm
Uterine involution by palpation	1 to 3	According to the position of uterus (abdominal cavity or pelvic cavity)
Cervical ostium	1 to 3	According to the degree of inflammation
Cervical discharge	1 to 5	According to the characteristic of the mucus
Follicle		Measurement of the largest follicle in each ovary

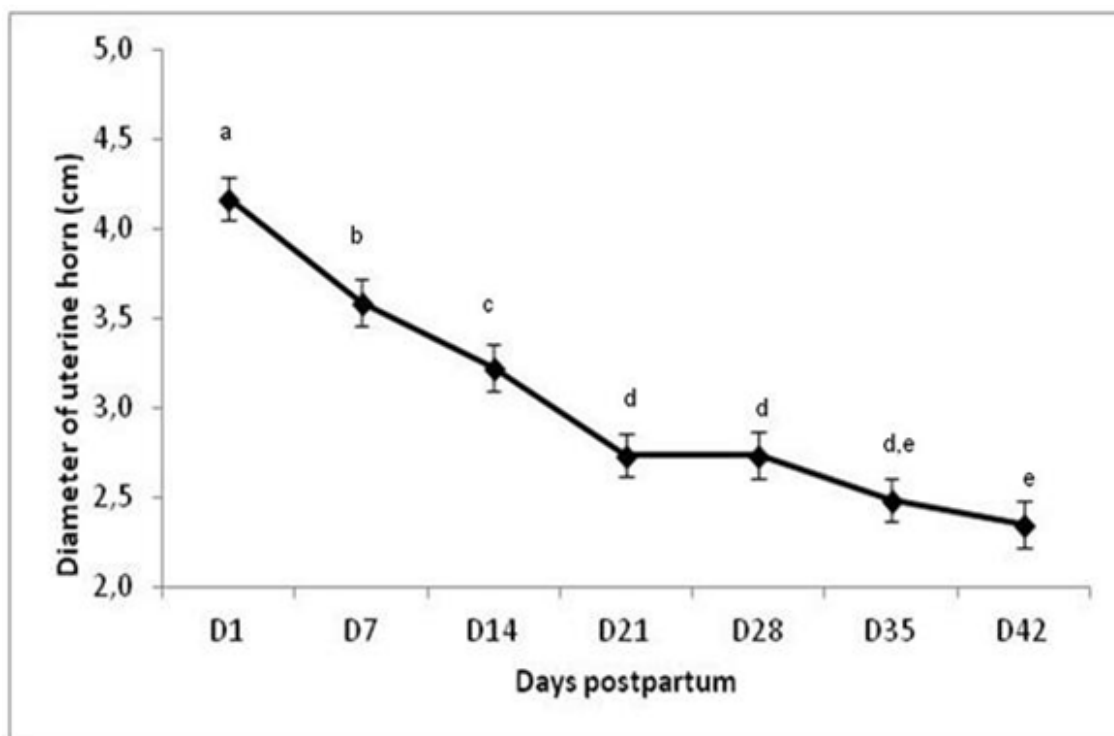
Also treatment had influence on cervical discharge ( $P= 0.03$ ) being that treated animals were closer ( $1.38 \pm 0.089$ ) to score 1 than control animal ( $1.64 \pm 0.082$ ).

#### **Ultrasound exam**

Concerning uterine diameter, fluid accumulation and follicular size there was influence of moment ( $P<0.00$ ) but not of treatment ( $P>0.05$ ). However, it is noteworthy that follicular analysis of left ovary shows no influence of moment ( $P= 0.12$ ) or treatment ( $P= 0.53$ ), but follicular analysis of right ovary shows influence of moment ( $P= 0.001$ ) but not of treatment ( $P= 0.07$ ). The results are shown on Figures 4, 5, 6 and 7.

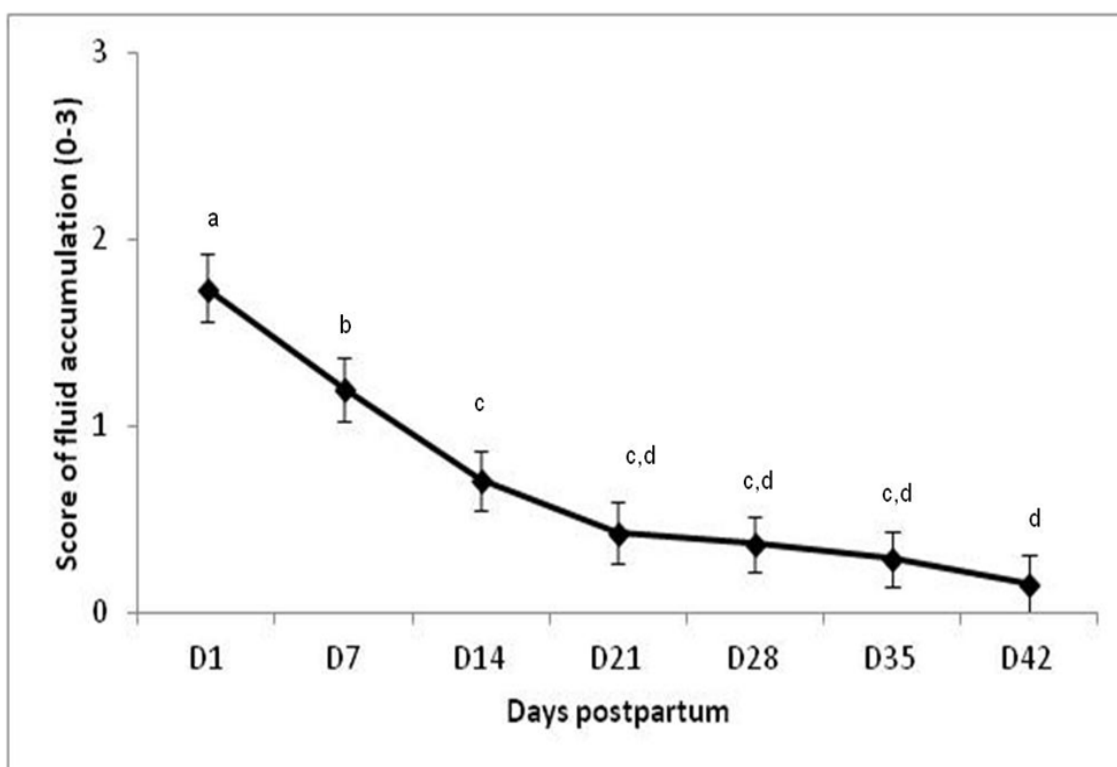
It can be observed a progressive and significant reduction in uterine diameter from D1 to D42 ( $P<0.05$ ) with decreased values observed until D21, however, without differences ( $P>0.05$ ), between D35 and D42, as shown on Figure 3.

The accumulation of intrauterine fluid decreased ( $P<0.05$ ) between the D1 to D42, with a lower average score from the D21 as shown on Figure 4. It is noteworthy that in all the evaluations the liquid was anechoic.



**Figure 4.** Mean and standard error of diameter of uterine horn (cm) on days 1, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 postpartum of 24 Nelore cows. Uncommon letters differ ( $P < 0.05$ ) between moments by mixed linear model (MIXED) procedure with the SAS statistical software package.

About follicular diameter of right ovary differed ( $P = 0.00$ ) on D7 from D42, with a progressive increase between D7 to D21, maintaining constant from the D21, as shown on Figure 5.

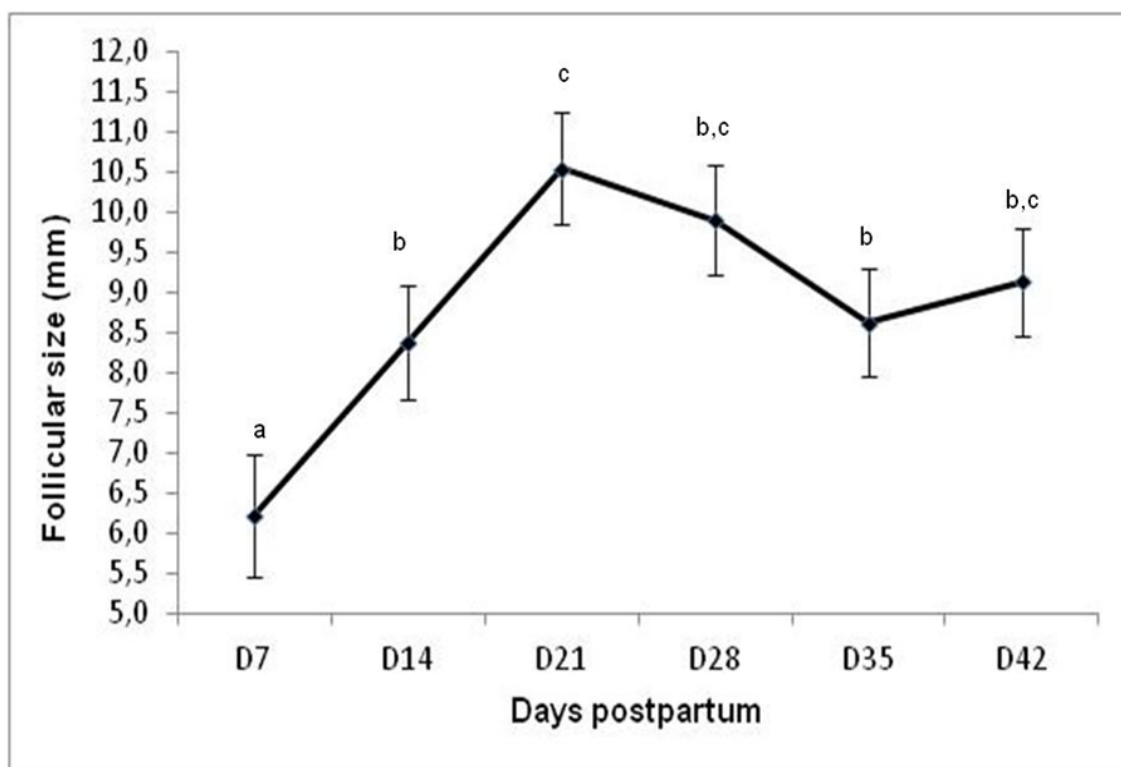


**Figure 5.** Mean and standard error of score of fluid accumulation (score 0-3) on days 1, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 postpartum of 24 Nelore cows.

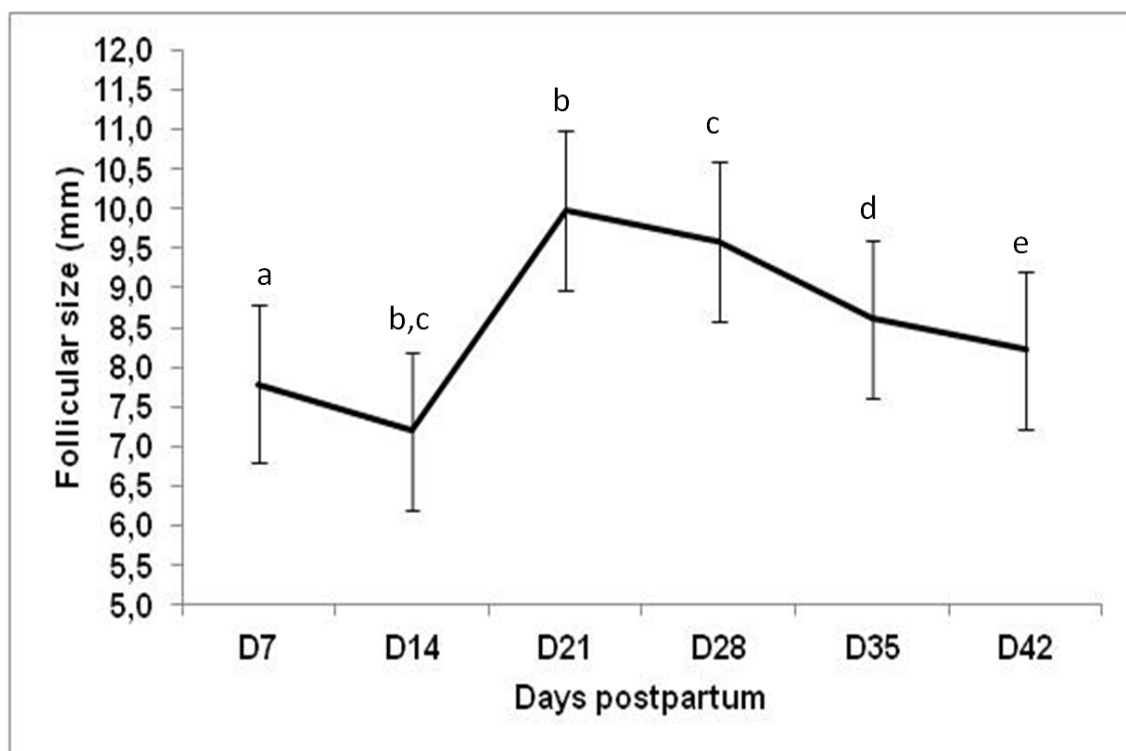


7, 14, 21, 28, 35 and 42 postpartum on 24 Nelore cows. Uncommon letters differ ( $P < 0.05$ ) between moments, by mixed linear model (MIXED) procedure with the SAS statistical software package. Score 0- without fluid, 1- less than 1 cm of fluid in the mean of 3 measurements, 2- more than 1 cm of fluid in the mean of 3 measurements, 3 - more than 2 cm in the mean of 3 measurements.

At all animals were observed the presence of the corpus luteus at the first day of evaluation, and then again from D14, without difference between groups.



**Figure 6.** Mean and standard error of follicular size (mm) from right ovary on days 7, 14, 21, 28, 35 e 42 postpartum of 24 Nelore cows. Uncommon letters differ ( $P < 0.05$ ) between moments, by the mixed linear model (MIXED) procedure with the SAS statistical software package.



**Figure 7.** Mean and standard error of follicular size (mm) from left ovary on days 7, 14, 21, 28, 35 e 42 postpartum of 24 Nelore cows. Uncommon letters differ ( $P < 0.05$ ) between moments, by the mixed linear model (MIXED) procedure with the SAS statistical software package.

### Transrectal palpation

Regarding degree uterine involution there was influence of moment ( $P < 0.00$ ) but not of treatment. Uterine involution progressed significantly ( $P < 0.05$ ) from D1 to D21, with mean values of desirable score (3 - uterus in the pelvic cavity) from this moment, as shown in Table 2.

**Table 2.** Mean and standard error of cervical ostium and cervical discharge evaluation on days 1, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 postpartum of 24 Nelore cow, independent of treatment.

Moments (day)	Cervical ostium (Score 1 -3)	Cervical discharge (Score 1-5)
1	1.61±0.098 <sup>a</sup>	1.11±0.17 <sup>a</sup>
7	1.42±0.098 <sup>a,b</sup>	2.18±0.17 <sup>b</sup>
14	1.22±0.098 <sup>b,c</sup>	2.25±0.17 <sup>b</sup>
21	1.11±0.098 <sup>c</sup>	1.79±0.17 <sup>b</sup>
28	1.07±0.098 <sup>c</sup>	1.14±0.17 <sup>a</sup>
35	1.18±0.098 <sup>c</sup>	1.11±0.17 <sup>a</sup>
42	1.06±0.098 <sup>c</sup>	1.00±0.17 <sup>a</sup>

## DISCUSSION

The present study was conducted with the objective to evaluate the effects of the application of cloprostenol sodium on days 1 and 4 of Nelore postpartum cows to investigate its effect on hormonal dosage of P4 and PGFM, on ovary activity and on

uterine involution by evaluations using vaginoscopy, transrectal palpation and ultrasound exams at days 1, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 postpartum. Cloprostenol sodium had effect on the variable cervical discharge however, for the other variables it was observed only effect of moment which was expected. We believe that the use of this protocol in animals with good selection genetic, management and health can be unnecessary.

As cited by Ymer et al. (4), serum progesterone level of 1 ng/mL is indicative of luteal activity whereas when it is less than 1 ng/mL for at least 14 days is indicative of cessation of ovarian cycle. At the present study, animals had low levels of P4 (<1ng/mL) from D1 to D28. Although at D35 the level of P4 is more than 1 ng/mL, significant difference was observed only at D42. Based on this, it can be considerate that animals were at anestrous until day 35 and the resumption of ovary activity occurred between days 35 and 42 (mean 38,5 days). This period was different comparing with works in which it was observed 30,9 (21) or 21 (19) days for dairy cow and of 30 (22) or 46,1 days for beef cow (23).

Although differences of anestrous length can be observed between works, this data is supported by the fact that beef cattle usually does not ovulate follicles from first or second wave, different from dairy cow which can ovulate 15 days earlier (9). Also individual variation can be found regarding day of ovulation, fact that explain a standard error higher on day 42, once after treatment with PGF2 $\alpha$  not all cows undergo ovulation, showing that the onset of estrous and ovulation can vary among animals (16). There is a positive correlation between time of uterine involution and the concentration and magnitude of PGFM, once the decrease of PGFM is associated positively with the decrease on diameter of uterine horns. In animals with normal postpartum, the duration of elevated concentration of PGFM is longer than in animals with abnormal postpartum and these animals with normal postpartum have a shorter period of uterine involution (21, 24 25, 26).

At the present study, the period of lowest levels of PGFM is followed by levels of P4 > 1ng/mL. Also, high values of PGFM with decreased values until D21, are correlated with the period of greater uterine involution and follicular growth. These data corroborate with other authors (21) who also found a positive correlation of long duration and release of PGFM with a shorter time of uterine involution and first ovulation.

At the present study, the highest concentration of PGFM was observed on D1 and the lowest on D28. Madej et al. (21) found the highest concentration on day 3 and lowest on day 21 postpartum in dairy cows and Del Vecchio et al. (22) found the highest concentration of PGFM on day 10 postpartum, with decreased on the concentration on day 20 and 30 postpartum. It is important to emphasize that at the present work it was done one blood collection for week and it could be of great interest to analyze the variations if more than one collection was done, considering the pulsatility and half-life of PGFM.

Vaginal mucus, which can be accessed for evaluation of uterine inflammation and diseases, (6, 19, 27) varies individually and as more odorless and colorless, better (28). The characteristic purulent, mucopurulent and fetid vaginal mucus on days 21 and 28 was considerate to reflect the presence of specific bacteria in uterus (6). On study, the evaluation of mucus on day 28 postpartum in primiparous cow did not show signs of uterine infection (19). At the present work, this was observed in all moments once no animal show any sign of uterine infection and cervical discharge was near from desirable score of 1 (mucus transparent or absent) from D28.

The effect of treatment on cervical discharge, with a better score for treated group, can be justified because of the increase of uterine contraction favoring uterine discharge (13) and cleaning of uterine environment. Also, significant reduction of inflammation observed at cervical ostium can be associated with the process of recovery and cervical involution after delivery. At the present study, after one week of delivery was possible to scan follicle with on average  $6.22 \pm 0.77$  mm at right ovary and according to Schnabel and Döbeli (29) the right ovary has an increased activity. Other authors (23) found follicle of 5-10 mm only 2 weeks postpartum of beef cattle. Differences on time of follicle access can be due different methodologies used and different breed.

From D28 to D35 there was a decrease on follicular size with and increase on P4 concentrations, fact also observed by other authors (23) with increase in P4 and a decrease on follicular size possible caused by follicular luteinization. According to work (30), follicles acquire ovulatory capacity with about 10 mm. However, as already cited above, beef cattle usually do not ovulate first follicles which can reach the diameter of ovulatory follicles.

The decrease on fluid accumulation is an expected and desirable event once it indicates uterine cleaning by contraction and a diminished risk of uterine infections. At the present study it could be observed that by 14 days postpartum all animals are closer to the desirable score of 0, which indicates no fluid. Little quantity of fluid intrauterine is normal and by ultrasound exams it can be observed as non-echogenic areas, once high quantities and echogenic areas are indicative of pathological process (Revised by (31)). The presence of intrauterine fluid accumulation in the horn until 15 days postpartum was also reported by other authors (5).

Based on the parameters to considerate uterine involution complete, it can be assumed that it occurred between days 35 and 42 (on average 38,5 days), once all parameters were at minimal values on these days. This period of uterine involution differs to works with dairy cow with, for example, periods of 23,6 days (21), 29,6 days (13) in multiparous cow and 49 days (19) in primiparous cow. However, it is important to remember that the time for complete uterine involution is quite vague and depend on the exams used (19) and criteria for evaluation, once the exams used can vary from interpretation and are subjective. There is related improvement of reproductive performance by faster uterine involution, reduced numbers of days until artificial insemination and service period in beef cattle treated with analogues of prostaglandin such as cloprostenol or a racemic mixture of D,L-cloprostenol, although some resistance for its use in beef cattle can be found because of the difficult of management (17,32). At the present study, no influence of treatment was observed on uterine involution, fact also observed in other works with dairy cow using PGF $2\alpha$  analogue (tromethamine dinaprost) 48 hours after calving (33) and with beef cattle with continuous administration of PGF $2\alpha$  for 11 days postpartum (34).

Another work was conducted by other authors (35) with dairy cows to determinate the efficacy of GnRH and PGF $2\alpha$  on hastening uterine involution, estrual activity and follicular dynamics. Animals were treated with NaCl, NaCl + PGF $2\alpha$  analogue (tromethamine dinaprost) and GNRH + PGF $2\alpha$  on days 15 and 25 postpartum. However, no influence of treatment was observed. The authors suggest that good management including feed, health and wellness management may negate the use of hormonal therapies on early postpartum period. At the present study, this hypothesis can be affirmed once animal were at appropriate management and no influence of treatment was found. Also, it is noteworthy that the type of analogue of PGF $2\alpha$  used and the period of use may influence the response, suggesting that maybe an administration on prolonged intervals or at late puerperium could be of interest. It is also possible to

observe that comparison between works became difficult, once there are a lot of variables such as breed, different dose, type of analogues, time of application, geographic location, animal selection, type of management and evaluation that may influence on the parameters studied.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

We would like to thank to FAPESP for the scholarship (Proc.2011/15330-0), as well as Capes (Proc./096/2010) for their financial support and to Fazenda Marino Avaré.

## **CONCLUSION**

With the present study we could conclude that an accelerated uterine involution and rapid return to normal cyclical activity postpartum was not observed with the use of PGF2 $\alpha$ .

## **REFERENCES**

1. Baruseli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci.* 2004;82-83:479-86.
2. Livestock. In: Estados Unidos. Department of Agriculture. PSD: production, supply and distribution online. Reports. Washington, D.C.: United States Department of Agriculture - USDA, 2013. Disponível em: <[TTP://www.fas.usda.gov/psdonline](http://www.fas.usda.gov/psdonline)>. Acesso em: agosto. 2013.
3. Senger PL. Pathways to pregnancy and parturition. United States: Current Conceptions; 2003.
4. Ymer N, Rosnina Y, Wahid H, Saharee AA, Yap KC, Ganesamurthi P. Ovarian activity in beef and dairy cows with prolonged postpartum period and heifers that fail to conceive. *Trop Anim Health Pro.* 2010;42(4):607-15.
5. Okano A, Tomizuka T. Ultrasonic observation of postpartum uterine involution in the cow. *Theriogenology* 1987;27:369-76.
6. Williams EJ, Fischer DP, Pfeiffer DU, England GCW, Noakes DE, Dobson H, Sheldon IM. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology* 2005;63:102-17.
7. Chapwanya A, Meade KG, Foley C, Narciandi F, Evans ACO, Doherty M, Callanan JJ, O'Farrelly C. The postpartum endometrial inflammatory response: a normal physiological event with potential implications for bovine fertility. *Reprod Fert Develop.* 2012;24(8):1028-39.
8. Yavas Y, Walton JS. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. *Theriogenology.* 2000a;54(1): 1-23.

9. Crowe MA. Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. *Reprod Domest Anim.* 2008;43(5):20-8.
10. Yavas Y, Walton JS. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. *Theriogenology.* 2000b;54(1):25-55.
11. Roche JF, Crowe MA, Boland MP. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. *Anim Reprod Sci.* 1992;28(1-4):371-78.
12. Guilbault LA, Thatcher WW, Drost M, Hopkins M. Source of F series prostaglandins during the early postpartum period in cattle. *Biol Reprod.* 1984;31(5):879-87.
13. Lindell JO, Kindahl H, Jansson L, Edqvist LE. Post-partum release of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  and uterine involution in the cow. *Theriogenology* 1982;17(3):237-45.
14. Bó GA, Baruselli PS. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Animal.* 2014;8(1):144-50.
15. Sá Filho OG, Vilela ER, Geary TW, Vasconcelos JLM. Strategies to improve fertility in postpartum multiparous *Bos indicus* cows submitted to a fixed-time insemination protocol with gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ . *J Anim Sci.* 2008;87(9):2806-14.
16. Tenhagen BA, Birkelbach E, Heuwieser W. Serum progesterone levels in post-partum dairy cows after repeated application of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  analogue D (+) cloprostenol sodium. *J Vet Med A.* 2000;47(4):213-20.
17. Fernandes CAC, Alves BFL, Oliveira, ER, Viana JHM, Gioso MM, Loyola YCS. Efeito de diferentes doses de cloprostenol sódico no período pós-parto de vacas de corte. *Ci Anim Bras.* 2012;13(3):346-55.
18. Houghton PL, RP Lemenager, LA Horstman, KS Hendrix, Mossa GE. Effects of body composition, pre and postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and pre weaning calf gain. *J Anim Sci.* 1990;68(5):1438-46.
19. Scully S, Maillo V., Duffy P, Kelly AK, Crowe MA, Rizos D, Lonergan P. The effect of lactation on postpartum uterine involution in Holstein dairy cows. *Reprod Domest Anim.* 2013;48(6):888-92.
20. Krueger L, Koerte J, Tsousis G, Herzog K, Flachwsky G, Bollwein H. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during the first 12 weeks after parturition in healthy dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 2009;114(1-3):23-31.
21. Madej A, Kindahl H, Woyno W, Edqvist LE, Stupunick R. Blood levels of 15-keto-13,14-dihydroprostaglandin f<sub>2</sub> $\alpha$  during the postpartum period in primiparous cows. *Theriogenology.* 1984;21(2):279-87.

22. Del Vecchio RP, Chase CC, Bastidas PJR, Randel RD. Oxytocin-induced changes in plasma 13,14 dihydro-15-keto prostaglandin F2 alpha concentrations on days 10, 20 and 30 postpartum in the bovine. *J Anim Sci.* 1990;68(12):4261-66.
23. Dimmick MA, Gimenez T, Spitzer JC. Ovarian endocrine activity and development of ovarian follicles during the postpartum interval in beef cows. *Anim Reprod Sci.* 1991;24(3-4):173-83.
24. Nakao T, Gamal A, Osawa T, Nakada K, Moriyoshi M, Kawata K. Postpartum plasma PGF metabolite profile in cows with dystocia and/or retained placenta, and effect of fenprostalene on uterine involution and reproductive performance. *J Vet Med Sci.* 1997;59(9):791-94.
25. Wischaral A, Verreschi ITN, Lima SB, Hayashi LF, Barnabe RC. Pre-parturition profile of steroids and prostaglandin in cows with or without foetal membrane retention. *Anim Reprod Sci.* 2001;67(3-4):181-88.
26. Mateus L, Lopes da Costa L, Diniz P, Ziecik AJ. Relationship between endotoxin and prostaglandin (PGE2 and PGFM) concentrations and ovarian function in dairy cows with puerperal endometritis. *Anim Reprod Sci.* 2003;76(3-4):143-54.
27. Marques Júnior AP, Martins TM, Borges AM. Abordagem diagnóstica e de tratamento da infecção uterina em vacas. *Rev Bras Reprod Anim.* 2011;35:293-98.
28. Noakes DE, Parkin-On TJ, England GCW, editors. *Arthur's Veterinary reproduction and obstetrics.* London: Saunders; 2001.
29. Schneebeil J, Döbeli M. The asymmetric distribution of ovarian functional structures in cattle. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 1991;133(8):375-81.
30. Sartori R, Fricker PM, Ferreira JCP, Ginther OJ, Wiltbank MC. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol Reprod.* 2001;65(5):1403-09.
31. Martins TM, Borges AM. Avaliação uterina em vacas durante o puerpério. *Rev Bras Reprod Anim.* 2011;35:433-43.
32. Fernandes CAC, Oliveira ER, Vasconcelos TD. Efeitos do cloprostenol sódico no pós-parto de vacas de corte. In: *Proc. 2005 XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal;* 2005.
33. Tian W, Noakes DE. Effects of four hormone treatments after calving on uterine and cervical involution and ovarian activity in cows. *Vet Rec.* 1991;15(24):566-69.
34. Guilbault LA, Villeveuve P, Dufour JJ. Failure of exogenous prostaglandin F2 $\alpha$  to enhance uterine involution in beef cows. *Can J Anim Sci.* 1988;68(3):669-76.

35. Tucker AL, Sanchez HJ, Tucker WB, Williams A, Fuquay JW, Willard ST, Ryan PL. Effects of early postpartum GnRH and prostaglandin F2 $\alpha$  administration on reproductive activity and ovulation synchronization in lactating dairy cows. J Anim Vet Adv. 2001;10:900-08.



## EFFECT OF *AD LIBITUM* SUPPLEMENTATION SELENIUM AND SELENIUM SERUM IN NELLORE CATTLE

Luis Souza Lima De Souza Reis<sup>5\*</sup>

Simone Biagio Chiacchio<sup>6</sup>

Eunice Oba<sup>7</sup>

### ABSTRACT

Selenium (Se) is an essential micromineral for cattle but the researches in Brazil with mineral elements are scarce. An optimal dosage of Se should be determined for the different cattle breeds although this is not well known for Nelore cattle. It was aimed to evaluate the effects of different levels of Se supplementation on serum Se concentration in Nelore cattle for 150 days. It was used 60 male, uncastrated Nelore calves (~ 12 mo) grazing on *Brachiaria decumbens* pasture, which was Se deficient (0.04 mg Se/kg dry matter) and fed on mineral mixture *ad libitum* supplemented by Se at daily concentrations of 0 mg (Gc; N= 15), 3.6 mg (G<sub>3,6</sub>; N= 15), 5.4 mg (G<sub>5,4</sub>; N= 15), or 6.4 mg (G<sub>6,4</sub>; N= 15). In Gc Se concentration decreased significantly (P<0.01) from day 0 (105.68 ± 51.87 µg/L) on 120 (81.08 ± 40.92 µg/L) and the cattle had marginal Se deficiency. In G<sub>3,6</sub>, Se levels increased progressively (P<0.01) throughout the experiment and reached normal values by the end (103.09 ± 47.29 µg/L). In G<sub>5,4</sub> Se concentrations were higher (P<0.01) on day 120 (95.37 ± 37.89 µg/L) than on day 0 (59.02 ± 24.29 µg/L), whereas in G<sub>6,4</sub> they were high (P<0,01) on day 60 (87.78 ± 40.87 µg/L) of supplementation, but animals from both groups had marginal Se deficiency. It was concluded that the supplementation dosage of 3.6 mg Se/animal/day is efficient to prevent Se deficiency in Nelore cattle.

**Keywords:** mineral supplementation, mineral salt, bovine.

## EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO *AD LIBITUM* COM SELÊNIO E O SELÊNIO SÉRICO EM BOVINOS NELORE

### RESUMO

O selênio (Se) é um micromineral essencial para os bovinos, mas no Brasil as pesquisas com esse elemento mineral são escassas e, ainda não está totalmente determinado uma dose ideal para suplementar os bovinos da raça Nelore. Objetivou-se avaliar os efeitos de diferentes níveis de suplementação com Se sobre o Se sérico em bovinos da raça Nelore por 150 dias. Foi utilizado 60 bezerros, machos não castrados da raça Nelore (~ 12 meses) mantidos em pastagem de *Brachiaria decumbens*, que era deficiente em Se (0,04 mg de Se/kg MS) e suplementos *ad libitum* com mistura mineral que consumiram doses diárias de 0 mg (Gc; N= 15), 3,6 mg (G<sub>3,6</sub>; N= 15), 5,4 mg (G<sub>5,4</sub>; N= 15) ou 6,4 mg (G<sub>6,4</sub>; N= 15). No Gc a concentração de Se diminuiu significativamente (P<0,01) do dia 0 (105,68 ± 51,87 µg/L) ao 120 (81,08 ± 40,92 µg/L) e os animais apresentaram deficiência marginal no Se sérico. No G<sub>3,6</sub>, Se sérico aumentou progressivamente (P<0,01) durante o experimento, atingindo valores normais no dia 120 (103,09 ± 47,29

<sup>5</sup> Postgraduate Program in Animal Science, UNOESTE.

<sup>6</sup> Department of Veterinary Clinic – FMVZ/UNESP.

<sup>7</sup> Department of Animal Reproduction and Veterinary Radiology - FMVZ/UNESP.

\* Corresponding author: reis.lsls@gmail.com

µg/L). No G<sub>5,4</sub>, concentração de Se foi superior (P<0,01) no dia 120 (95,37 ± 37,89 µg/L), enquanto que em G<sub>6,4</sub> elevou (P<0,01) no dia 60 (87,78 ± 40,87 µg/L), mas em ambos grupos as concentrações séricas de Se eram consideradas deficiência marginal. Conclui-se que a suplementação com 3,6 mg Se/animal/dia, é eficaz para prevenir a deficiência de Se em bovinos Nelore.

**Palabras clave:** suplementação mineral, sal mineral, bovino.

## EFECTO DE SUPLEMENTACIÓN *AD LIBITUM* CON SELECCION Y EL SELENIO SÉRICO EN BOVINOS NELORE

### RESUMEN

El selenio (Se) es un micromineral esencial para los bovinos, pero en Brasil las investigaciones con ese elemento mineral son escasas y, aún no está totalmente determinado una dosis ideal para suplementar los bovinos de la raza Nelore. Se evaluó los efectos de diferentes niveles de suplementación de Se sobre el Se sérico en bovinos de la raza Nelore por 150 días. Se utilizaron 60 terneros, machos no castrados de la raza nelore (~ 12 meses) mantenidos en pastoreo de *Brachiaria decumbens*, que era deficiente en Se (0,04 mg de Se/Kg MS) y suplementos *ad libitum* con mezcla mineral que consumieron dosis diarias 0 mg (Gc, N= 15), 3,6 mg (G<sub>3,6</sub>; N= 15), 5,4 mg (G<sub>5,4</sub>; N= 15) o 6,4 mg (G<sub>6,4</sub>; N= 15). En el Gc la concentración de Se disminuyó significativamente (P<0,01) del día 0 (105,68 ± 51,87 µg/L) al 120 (81,08 ± 40,92 µg/L) y los animales presentaron deficiencia marginal en el sérico. En el G<sub>3,6</sub>, si el sérico aumentó progresivamente (P<0,01) durante el experimento, alcanzando valores normales en el día 120 (103,09 ± 47,29 µg/L). En el G<sub>5,4</sub>, concentración de Se fue superior (P<0,01) el día 120 (95,37 ± 37,89 µg/L), mientras que en G<sub>6,4</sub> elevó (P<0,01) el día 60 (87,78 ± 40,87 µg/L), pero en ambos grupos las concentraciones séricas de Se se consideraban deficiencia marginal. Se concluye que la suplementación con 3,6 mg Se/animal/día, es eficaz para prevenir la deficiencia de Se en bovinos.

**Palabras clave:** suplementación mineral, sal mineral, bovino.

### INTRODUCTION

Selenium (Se) is an essential micromineral for animals. It is found in many selenoproteins such as glutathione peroxidase (GSH-Px), which removes free radicals (1,2), protect tissues against oxidative damage, thus maintaining tissue integrity (1,3), maintenance of rabies antibody titers (4), decreases somatic cell count (5), enhances weight gain in cattle (6), to prevents white muscle disease in cattle.

Se may be deficient or cause intoxication in cattle if used in low or high levels, respectively (1,2,10). Signs of selenium deficiency are observed when cattle were fed forage containing 0.05 mg of Se/Kg (7), as the white muscle disease in young cattle and results in degeneration and necrosis in both skeletal and cardiac muscle; diarrhea, (2,7); anemia with presence of Heinz bodies (7); decreased calf weight (6), decreased response immune humoral (7) and increase T<sub>4</sub> and decreased T<sub>3</sub> concentration in plasma (8), increases the incidence of retention of placenta, metritis and ovarian cysts (9) that consequently reduces a rate of conception (10). Se poisoning occurs due to excessive consumption of Se or consumption of plants that have high concentrations of this mineral, 5 to 40 ppm of Se for long periods (7). The cattle, when intoxicated by this

mineral element present: anorexia, ataxia, blindness, salivation, harsh and dull hairs, loss of tail hairs, deformities in the hooves (stretching and cracking), claudication, abdominal colic, cirrhosis, nephritis, cardiac atrophy, lethargy, and death due to respiratory failure (3,7).

In Brazil, it was observed a deficiency of Se in the pastures of the state of São Paulo (11), Mato Grosso and Mato Grosso do Sul (12,13). Second Carvalho et al. (3) The Brazilian pastures are deficient in this area, probably, because this mineral element is scarce in practically all the territory, due to the vast area of acid soil, highly leached, with low organic matter content and iron (Fe). Solo o If you get lost easily. Thus, grasses that settle in these soils absorb little If, due to the formation of a complex of Fe and selenite. In addition, the tropical grasses that are cultivated in Brazil are not good accumulators of this mineral. It is therefore necessary to supplement the cattle kept in pasture.

The researches in Brazil with mineral elements are scarce (14). An optimal dosage of Se should be determined for the different cattle breeds although this is not well known for Nelore cattle. In fact, the main nutrition systems were developed for taurine cattle. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of different levels of *ad libitum* supplementation Se on serum Se concentration in Nelore cattle.

## MATERIAL AND METHODS

The procedures used in this study were approved by the Ethics Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of São Paulo State University, Botucatu, SP, Brazil (protocol n° 135/2006-CEEA).

Sixty male, non-castrated Nelore calves (*Bos indicus*) aged about 12 months were studied. These animals were adapted to the climatic conditions of the farm in Lutécia, SP, Brazil, where the experiment was carried out.

The calves were randomly divided into 4 lots (15 individuals/lot): G<sub>c</sub>, G<sub>3.6</sub>, G<sub>5.4</sub> and G<sub>6.4</sub>, (mean body weights of calves from experimental lots at G<sub>c</sub>= 182.5 ± 10.3; G<sub>3.6</sub>= 180.3 ± 12.6; G<sub>5.4</sub>= 174.6 ± 7.88 and G<sub>6.4</sub>= 183.0 ± 7.86) in which they received 0, 18, 27 or 32 mg selenium/kg protein mineral salt, respectively, for 150 days. In this period, the salt consumption was estimated at 200 g/calve/day and the animals consumed 0, 3.6, 5.4 or 6.4 mg selenium/calve/day, G<sub>c</sub>, G<sub>3.6</sub>, G<sub>5.4</sub> and G<sub>6.4</sub>, respectively.

The experiment was carried out in 150 days. In the first 30 days, they were for adaptation of the experimental conditions (pastures, management in the corral for blood collection), intake adjustment of mineral mixtures for calves and renewal of the gastrointestinal contents of calves. After this period was followed by another 120 days trial.

The protein mineral mixture (Matsuda Top Line Recria<sup>®</sup>) used was produced by "Matsuda Sementes e Nutrição Animal", Álvares Machado, SP, and approved by the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA). This mixture contained calcium, phosphorus, magnesium, sodium, cobalt, copper, sulfur, iron, 650 mg fluorine (maximum), iodine, manganese, nickel, zinc, vitamin A, vitamin D, vitamin E, buffer, 400 Kcal dietary energy, 140 mg protein equivalent from NPN, 95 Sol. P in citric acid 2% (minimum).

The protein mineral mixture was provided *ad libitum* to cattle from groups G<sub>c</sub>, G<sub>3.6</sub>, G<sub>5.4</sub> and G<sub>6.4</sub> in a covered wood feeder (13 cm long available to each animal). A waterer was placed 50 m from the feeder.

To avoid large losses of mineral supplementation during feeding of calves, use a trough with a depth of 35 cm and mineral supplement was placed in smaller quantity daily.

The consumption of the mineral mixtures was determined weekly throughout the experiment. At the onset of the study period, the mixture was weighed and placed into the trough; the mineral mix was then weighed 7 days later. By subtracting the second weight from the first weight, the average consumption was determined for each batch of bulls. After this batch average consumption was divided by the number of bulls in the lot, the average daily consumption of each supplement was determined. As a result, the consumption of the mineral supplements are given in Table 2.

Blood samples were collected on days 0, 60 and 120 from each animal by jugular vein puncture (10 mL) in vacuum tubes without anticoagulating agent, centrifuged at 2,500 rpm for 10 min and serum samples were stored frozen at -20 °C for subsequent determination of Se levels by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry.

The four paddocks used (I, II, III and IV) had similar topography and were covered with *Brachiaria decumbens*. On day 0, samples of *Brachiaria decumbens* were cut at grazing height and stored at -5 °C for subsequent determination of Se concentration by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry. Dry matter, crude protein, ether extract, neutral detergent fiber concentration and mineral matter from forages were determined as recommended by the Association Official Analytical Chemists (15); total digestible nutrients and non nitrogenous extract was determined by Neves *et al.* (16).

During the trial the experimental batches of calves (Gc, G<sub>3,6</sub>, G<sub>5,4</sub> and G<sub>6,4</sub>) were exchanged pasture every 30 days for all lots grazed the *Brachiaria decumbens* all pastures.

To evaluate the normality of consumption data of mineral supplements for minerals was applied Shapiro-Wilk test and to compare the consumption of mineral supplements for animals was applied one-way ANOVA. In all tests applied to significance of 5% (17).

Non-parametric procedures were applied to compare Se levels among the groups and over the course of the experiment because data distribution violated normality predictions (Shapiro-Wilk test). Kruskal-Wallis analysis of variance (*H*) was used to compare groups Gc, G<sub>3,6</sub>, G<sub>5,4</sub> and G<sub>6,4</sub> on each observation day, whereas Friedman analysis of variance ( $\chi^2_r$ ) compared Se levels on the experiment days (0, 60 and 120) in each group. Significant differences were compared by Nemenyi multiple comparisons test. In all tests applied to significance of 5% (17).

## RESULTS AND DISCUSSION

The concentration of Se in all grasses were similar (Table 1) and the consumption of mineral supplements in cattle of Gc, G<sub>3,6</sub>; G<sub>5,4</sub> and G<sub>6,4</sub> groups not significantly different (*F*= 0,22; *P* = 0,88) during the experimental period (Table 2). Therefore, changes in serum Se calves that occurred during the experimental period was due to the different concentrations of Se supplementation.

**Table 1.** Chemical analyses of the *Brachiaria decumbens* from paddocks I, II, III and IV.

Parameter	Paddock			
	I	II	III	IV
TDN (%)	62.54	61.54	61.13	62.35

CP (%)	4.10	3.80	4.10	4.20
NDF (%)	74.42	72.23	74.14	75.95
EE (%)	2.50	2.60	2.40	2.45
NFE (%)	61.40	60.30	59.30	57.75
Se (mg/Kg DM)	0.05	0.05	0.05	0.05

TDN: total digestible nutrients; CP: crude protein; NDF: neutral detergent fiber; EE: ether extract; NFE: nitrogen free extract; MM: mineral matter, Se: selenium, DM: dry matter.

**Table 2:** Average weekly consumption per animal of mineral supplements for calves of Gc; G<sub>3,6</sub>; G<sub>5,4</sub> and G<sub>6,4</sub> lots.

Week	average weekly consumption of mineral supplements for calves (g/day)			
	Experimental groups			
	Gc	G <sub>3,6</sub>	G <sub>5,4</sub>	G <sub>6,4</sub>
1	204,2	203,4	200,7	211,9
2	201,1	192,4	195,6	203,5
3	199,3	208,4	188,5	204,1
4	204,6	205,4	210,7	211,6
5	183,2	191,4	196,2	197,1
6	198,8	188,5	192,7	193,4
7	205,8	207,8	196,6	209,4
8	199,5	203,4	193,7	208,5
9	203,0	200,0	213,0	194,0
10	190,2	207,5	188,4	192,7
11	209,5	199,7	204,0	200,7
12	187,6	202,3	197,4	189,5
13	195,6	200,5	205,4	197,5
14	211,6	205,4	202,4	213,5
15	210,7	198,5	211,6	201,8
16	196,2	207,8	204,2	198,8
Average	200,0 <sup>a</sup>	201,4 <sup>a</sup>	200,1 <sup>a</sup>	201,8 <sup>a</sup>
Standard deviation	8,1	6,2	7,7	7,6

<sup>a</sup> Average followed by similar letters do not differ (F= 0,2263; P = 0,8781).

Selenium concentrations were higher in Gc than in G<sub>3,6</sub>, G<sub>5,4</sub> and G<sub>6,4</sub> on day 0, but no difference was found among the groups on the other experiment days (Table 3). The group Gc were within adequate/normal Se levels and the other groups presented marginal Se deficiency as Underwood and Suttle (1) criteria that adequate/normal Se levels are above 100 ng/mL, and that marginal Se deficiency occurs when these levels are between 50 and 100 ng/mL.

**Table 3-** Serum Se concentration ( $\pm$  sd) in Nelore calves *ad libitum* supplemented with Se.

Group	Serum Se concentration ( $\mu$ g/L)		
	Days of observation		
	0	60	120
Gc	105.68 <sup>a*</sup> $\pm$ 51.87	80.91 <sup>ab</sup> $\pm$ 33.73	81.08 <sup>b</sup> $\pm$ 40.92
G <sub>3,6</sub>	67.69 <sup>c</sup> $\pm$ 26.31	84.96 <sup>b</sup> $\pm$ 38.09	103.09 <sup>a</sup> $\pm$ 47.29
G <sub>5,4</sub>	59.02 <sup>c</sup> $\pm$ 24.29	78.23 <sup>bc</sup> $\pm$ 41.74	95.37 <sup>a</sup> $\pm$ 37.89

G <sub>6.4</sub>	63.20 <sup>b</sup> ± 30.42	87.78 <sup>a</sup> ± 40.87	87.65 <sup>a</sup> ± 31.22
------------------	----------------------------	----------------------------	----------------------------

*ad libitum* supplemented with Se at daily levels of 0 (G<sub>c</sub>), 3.6 (G<sub>3.6</sub>), 5.4 (G<sub>5.4</sub>) and 6.4 (G<sub>6.4</sub>) mg Se/calves/day.

\* - Indicate statistical difference among the groups on a same day (P=0.05).

<sup>a,b,c</sup> - Different letters indicate statistical differences among the observation days (P<0.01).

In G<sub>c</sub>, grazing on *Brachiaria decumbens* pasture which was 0.04 mg Se/kg dry matter, Se concentration decreased significantly only on days 0 on 120 and the cattle had marginal Se deficiency (Table 3). Coincident, Reis et al. (6) who reported that Nelore cattle fed with this Se concentration had low weight gain, rabies antibody titers decreased drastically and the high proportion (73%) of unprotected cattle after anti-rabic vaccination (4) and Gil *et al.* (18) also found a deficiency of selenium in bovine feed with 0.05 ppm Se. The low weight gain of cattle is indicative of Se deficient (7,19). Thus, a diet for Nelore cattle containing 0.04 mg Se/kg dry matter can be considered Se deficient. Moraes *et al.* (20) reported a deficiency of Se in liver samples of cattle grazing on food deficient in this mineral element in the states of Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Rio Grande do Sul e Rio de Janeiro. The NRC (7), it is cited that taurine cattle fed on diets with 0.02 to 0.05 mg Se/kg also had clinical or subclinical Se deficiency. Hence, both zebu and taurine beef cattle have similar Se requirements. Therefore, there is no difference among cattle breeds regarding Se needs.

In G<sub>3.6</sub>, on day 0, it was observed marginal Se deficiency according to Underwood and Suttle (1). However, after supplementation, serum Se levels increased progressively throughout the experiment and reached normal values by the end (Table 3). Therefore, *ad libitum* feeding on diet supplemented with 3.6 mg de Se/animal/day was efficient to treat or prevent marginal Se deficiency in Nelore cattle. Moreover, this supplementation was effective in maintaining rabies antibody titers and satisfactory seroconversion rates (53.3%). The Nelore calves were immunized with one dose rabies vaccine (4). Thus, supplementation concentration is similar to that recommended by the Underwood & Suttle (1); NRC (7), which is 3 mg Se/animal/day for taurine beef cattle. Thus, these data reinforce that the dose of Se supplementation needed to prevent Se deficiency was similar for both taurine and zebu breeds. Corroborating this result, Leonel et al. (21), studying nutritional requirements of calcium, phosphorus, magnesium, sodium and potassium, also reported that there was no difference in demands between Nellore, F1 Nellore x Aberdeen-Angus, F1 Nellore x Brown Swiss and F1 Nellore x Simental.

In G<sub>3.6</sub>, G<sub>5.4</sub> and G<sub>6.4</sub> groups serum Se concentrations on day 0 were marginally deficient according to Underwood & Suttle (1). In G<sub>5.4</sub> Se concentrations were higher on day 120 than on day 0, whereas in G<sub>6.4</sub> the concentration was higher from day 60 (Table 3). At 120 days of supplementation, using the reference proposed by Underwood & Suttle (1), it was found marginal Se deficiency (Table 3). Thus, the supplementation doses of 5.4 and 6.4 mg Se/animal/day showed too high proportion 60% and 80%, respectively of unprotected cattle after application of anti-rabic vaccine (4). Also, supplementation with 6.4 mg Se/animal/day also caused an increase in the frequency of animals with creatine kinase concentration above normal, indicating that this supplementation caused muscle damage in cattle (22). This supplementation may have affected the Se metabolism of Nelore cattle, followed by rapid loss of Se via bile, urine and/or expired air (7) with consequent reduction in Se serum concentration, because they were excessively high, as 1.8 and 2.13 times higher than the dose recommended by the NRC (7), which is 3 mg/cattle/day. However, the supplementation of excessively high doses did not cause any clinical sign of Se intoxication throughout the experiment.

## CONCLUSIONS

Based on the experimental conditions and the results obtained, it can be concluded that the supplementation dosage of 3.6 mg Se/animal/day is efficient to prevent or treat marginal Se deficiency in Nelore cattle.

## ACKNOWLEDGEMENTS

To “Matsuda Sementes e Nutrição Animal”, Álvares Machado, SP, Brazil, for supporting and encouraging this research.

## REFERENCES

1. Carroll JA, Forsberg NE. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2007;23:105-49.
2. Underwood EJ, Suttle NF. Selenium. In: Underwood EJ, Suttle NF. *The mineral nutrition of livestock.* Wallingford: CAB International, 1999. p.421-475.
3. Carvalho FAN, Barbosa FA, Mcdowell LR. In: Carvalho FAN, Barbosa FA, Mcdowell LR. *Nutrição de bovinos a pasto.* Belo Horizonte: PapelForm Editora Ltda, 2003. p.157-368.
4. Reis LSL, Chiacchio SB, Oba E, Pardo PE, Frazatti-Gallina NM. Association between handling stress in the corral and rabies antibody titers in selenium-supplemented cattle. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis.* 2009;15:778-88.
5. Paschoal JJ, Zanetti MA, Cunha JA. Suplementação de selênio e vitamina E sobre a contagem de células somáticas no leite de vacas da raça Holandesa. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2003;32:2032-9.
6. Reis LSL, Chiacchio SB, Pardo PE, Oba E, Giuffrida R, Frazatti-Gallina NM. Selenium supplementation weight gain in cattle. *Arch Zootec.* 2008;57:271-4.
7. National Research Council (NRC). Selenium. In: National Research Council. *Nutrient Requirements of Beef Cattle.* Washington DC: National Academy Press, 2016. p.127-9.
8. Arthur JR, Morrice PC, Becket GJ. Thyroid hormone concentrations in selenium-deficient and selenium-sufficient cattle. *Res Vet Sci.* 1988;45:122-3.
9. Kommisrud E, Osteras O, Vatn T. Blood selenium associated with health and fertility in Norwegian dairy herds. *Acta Vet Scand.* 2005;46:229-40.
10. Enjalbert F, Lebreton P, Salat O. Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: retrospective study. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2006;90:459-66.
11. Lucci CS, Moxon AL, Zanetti MA, Franzolinneto R, Marcomini DG. Selênio em bovinos leiteiros do Estado de São Paulo II. Níveis de selênio nas forrageiras e concentrados. *Rev Fac Med Vet Zootec Univ São Paulo* 1984;21:71-6.

12. Moraes SS, Tokarnia CH, DöBereiner J. Deficiências e desequilíbrios de microelementos em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. *Pesq Vet Bras.* 1999;19:19-33.
13. Tokarnia CH, Döbereiner J, Moraes SS, Peixoto PV. Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos, revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. *Pesq Vet Bras.* 1999;19:47- 62.
14. Paulino PVR, Costa MAL, Filho SCV, Paulino MF, Valadares RFD, Magalhães KA. et al. Exigências nutricionais de zebuínos: minerais. *Rev Bras Zootec.* 2004;33:770-80.
15. AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis. Arlington: AOAC International; 1990.
16. Neves AR, Queiroz AC, Silva DJ. Análise de alimentos. Métodos químicos e bioquímicos. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2002.
17. Zar JH. Biostatistical Analysis. New Jersey: Prentice Hall; 1999.
18. Gil S, Hevia S, Dallorso M, Resnizky S. Selenium in bovine plasma, soil and forage measured by neutron activation analysis. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2004;56:264-6.
19. Pavlata L, Illek J, Pechová A, MatújíâEk M. Selenium status of cattle in the Czech Republic. *Acta Vet Brno.* 2002;71:3-8.
20. Moraes SS, Tokarnia CH, Döbereiner J. Deficiências e desequilíbrios de microelementos em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. *Pesq Vet Bras.* 1999;19:19-33.
21. Leonel FP, Pereira JC, Vieira RAM, Freitas JA, Dutra AR, Lima AV et al. Exigências nutricionais em macronutrientes minerais (Ca, P, Mg, Na e K) para novilhos de diferentes grupos genéticos. *Rev Bras Zootec.* 2006;35:584-90.
22. Reis LSLS, Chiacchio SB, Pardo PE, Takahira RT, Couto R, Oba E et al. Efeito da suplementação com selênio sobre a concentração sérica de creatina kinase em bovinos. *Arch Zootec.* 2009;58:753-6.



## **PRODUTIVIDADE E QUALIDADE DE SORGO PASTEJO CONSORCIADO COM DIFERENTES CULTIVARES DE *PANICUM MAXIMUM* E *UROCHLOA***

Amarildo Francisquini Junior<sup>1</sup>  
Tiago Aranda Catuchi<sup>2</sup>  
Júlio Cesar Dominato<sup>3</sup>  
Alexandre Paio Leite da Silva<sup>4</sup>  
Douglas Celestino Junior<sup>5</sup>  
Caroline Honorato Rocha<sup>5</sup>

### **RESUMO**

A consorciação entre sorgo pastejo e forrageiras tropicas pode ser uma estratégia para aumentar a qualidade e a quantidade de forragem produzida na entressafra devido a cultura do sorgo ter alta qualidade nutricional, alta produção de forragem e também caracterizam-se pela elevada capacidade de rebrota. De acordo com resultados na consorciação de sorgo pastejo e a forrageira capim Piatã, eles observaram que o consorcio obteve a maior produtividade de forragem e proteína bruta aos 70 dias após a germinação em relação ao cultivo solteiro. O objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho produtivo e qualidade nutricional de quatro cultivar de forrageiras tropical perene em consórcio com sorgo pastejo. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com cinco repetições. Os tratamentos constituídos foram de quatro cultivares de gramíneas forrageiras: Mombaça, Massai, Xaraés e Marandu solteiro e consorciado com sorgo de pastejo. A determinação da quantidade de matéria seca e a proteína bruta foi realizado no outono, inverno e primavera. Utilizou um quadrado de 1 m<sup>2</sup> para a coleta de cinco sub amostras dentro de cada parcela, este material foi pesado com o auxílio de uma balança de precisão o peso verde e posteriormente foi para a estufa a 65 °C por 72 horas. Após a saída da estufa, o material foi pesado e moído em moinho tipo Wiley e passada em peneira de 1 mm e posteriormente analisados para determinação dos teores matéria seca (MS), proteína bruta (PB). Os dados foram submetidos à análise de variância e os valores médios comparados através do teste Tukey (p<0,05). Os resultados de produção de matéria seca no outono não houve interação entre os cultivares e o sistema de forragem (SF), porém o Mombaça diferiu dos demais cultivares e para o SF o consórcio produziu mais do que o solteiro, isso se deve ao alto potencial produtivo que o *Sorghum bicolor* tem em um clima favorável para o seu desenvolvimento. No inverno e na primavera houve interação dos cultivares para com o SF na produção de matéria seca. O consórcio é uma excelente alternativa para a produção e qualidade de forragem independente da estação do ano. O cultivar Mombaça foi o que melhor se adequou ao consórcio com o sorgo pastejo.

**Palavra-Chave:** Proteína, matéria seca, sorghum e pastagem.

---

<sup>1</sup> Doutorando no programa de pós graduação em produção vegetal - UNOESTE;

<sup>2</sup> Professor doutor na universidade do oeste paulista – UNOESTE;

<sup>3</sup> Professor mestre na Etec Prof. Dr. Antônio Eufrásio de Toledo;

<sup>4</sup> Mestrando no programa de pós graduação em produção vegetal – UNOESTE

<sup>5</sup> Graduandos na faculdade de agronomia –UNOESTE

\*Contato principal para correspondência: amarildofjunior@hotmail.com

Entidade financiadora: Latinsem Seeds

## **PRODUCTIVITY AND QUALITY OF SORGHUM INTERCROPPED WITH DIFFERENT CULTIVARS OF PANICUM MAXIMUM AND UROCHLOA**

### **ABSTRACT**

Sorghum consortium with tropical pastures may be a strategy to increase the quality and quantity of forage produced in the off-season due to the high nutritional quality of the sorghum, high forage production, and also characterized by high regrowth capacity. According to results found by studying sorghum and Piatã grass forage, they observed that the consortium obtained the highest productivity of forage and crude protein at 70 days after germination in relation to a single culture. The objective of this work was to evaluate the productive performance and nutritional quality of four perennial tropical forage cultivars in a consortium with sorghum grazing. The experimental design was in randomized blocks, with five repetitions. The treatments consisted of four cultivars of forage grasses: Mombaça, Massai, Xaraés and single Marandu and intercropped with grazing sorghum. The determination of the amount of dry matter and the crude protein was carried out in autumn, winter and spring. Using a square of 1 m<sup>2</sup> for the collection of five sub samples within each plot, this material was weighted with the aid of a precision scale the green weight and later went to greenhouse at 65 °C for 72 hours. After leaving the greenhouse, the material was weighed and ground in a Wiley mill and passed in a 1 mm sieve and analyzed for dry matter (DM), crude protein (CP). The data were submitted to analysis of variance and the mean values were compared using the Tukey test ( $p < 0.05$ ). The results of dry matter production in the autumn did not interact between the cultivars and the forage system (SF), however the Mombaça differed from the other cultivars and for the SF the consortium produced more than the single, this is due to the high potential Productive that Sorghum bicolor has in a favorable climate for its development. In the winter and spring, there was interaction of the cultivars with SF in dry matter production. The consortium is an excellent alternative for the production and quality of fodder independent of the time of year. The cultivar Mombaça was that best suited the consortium with grazing sorghum.

**Keywords:** protein, dry matter, sorghum e pasture.

## **PRODUCTIVIDAD Y CALIDAD DE SORGO PASTOREO CONSORCIADO CON DIFERENTES CULTIVARES DE PANICUM MAXIMUM Y UROCHLOA**

### **RESUMEN**

Sorgo con pasturas tropicales puede ser una estrategia para aumentar la calidad y la cantidad de forraje producido en temporada baja debido a la alta calidad nutricional del sorgo, la alta producción forrajera y también caracterizada por una alta capacidad de rebrote. De acuerdo con los resultados obtenidos al estudiar el forraje de sorgo y Piatã, se observó que el consorcio obtuvo la mayor productividad de forraje y proteína cruda a los 70 días después de la germinación en relación a un solo cultivo. El objetivo de este trabajo fue evaluar el rendimiento productivo y la calidad nutricional de cuatro cultivares perennes de forraje tropical en un consorcio con pastoreo de sorgo. El diseño experimental fue en bloques al azar, con cinco repeticiones. Los tratamientos consistieron en cuatro cultivares de gramíneas forrajeras: Mombaça, Massai, Xaraés y Marandú único y intercalados con pastoreo de sorgo. La determinación de la cantidad de materia seca y la proteína cruda se llevó a cabo en otoño, invierno y primavera.

Utilizando un cuadrado de 1 m<sup>2</sup> para la recogida de cinco submuestras dentro de cada parcela, este material se pesó con ayuda de una escala de precisión el peso en verde y posteriormente fue a invernadero a 65 °C durante 72 horas. Después de dejar el invernadero, el material se pesó y molió en un molino de Wiley y se pasó en un tamiz de 1 mm y se analizó la materia seca (MS), proteína cruda (CP). Los datos se sometieron a análisis de varianza y los valores medios se compararon mediante la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los resultados de la producción de materia seca en el otoño no interactuaron entre los cultivares y el sistema de forraje (SF), sin embargo el Mombaça difirió de los otros cultivares y para el SF el consorcio produjo más que el único, esto se debe al alto potencial Productivo que *Sorghum bicolor* tiene en un clima favorable para su desarrollo. En el invierno y primavera, hubo interacción de los cultivares con SF en la producción de materia seca. El consorcio es una excelente alternativa para la producción y calidad de forraje independiente de la época del año. El cultivar Mombaça fue que mejor se adaptó al consorcio con pastoreo de sorgo.

**Palabra clave:** proteína, materia seca, sorgo y pastoreo.

## INTRODUÇÃO

A produção de carne no Brasil atualmente engloba um rebanho de 198,7 milhões de cabeça sendo produzidas em geral em condições de pastagem com gramíneas forrageiras tropicais. Estas pastagens ocupam cerca de 156 milhões de hectares, compostas preferencialmente por forrageiras do gênero *Urochloa* spp. (braquiárias), e *Panicum maximum* (1). Diante da importância que as pastagens desempenham para a maioria dos modelos de produção praticados, é fundamental que seu uso esteja condicionado a práticas sustentáveis de manejo, que garantam a manutenção da produtividade ao longo dos anos sem comprometer os componentes principais do ecossistema.

No Brasil, há uma marcada sazonalidade na produção de forragem em razão das variações climáticas ao longo do ano, que faz se necessário o planejamento dos sistemas de produção de forragem a pasto com alta seca tolerância. Neste contexto o cultivo de sorgo *Sorghum bicolor* pode ser uma estratégia para ser usado como alimentação de ruminantes, especialmente em regiões com baixa pluviosidade, sendo resistente à seca, temperaturas elevadas, com alto rendimento e valor nutricional (2). A utilização de gramíneas anuais no período de outono-inverno é uma alternativa pouco explorada para produção de forragem de alto valor nutritivo nas condições edafoclimáticas do Brasil Central (3).

A consorciação entre sorgo de pastejo e forrageiras tropicais pode ser uma estratégia para aumentar a qualidade e a quantidade de forragem produzida na entressafra devido a cultura do sorgo ter alta qualidade nutricional, alta produção de forragem e também caracterizam-se pela elevada capacidade de rebrota (4).

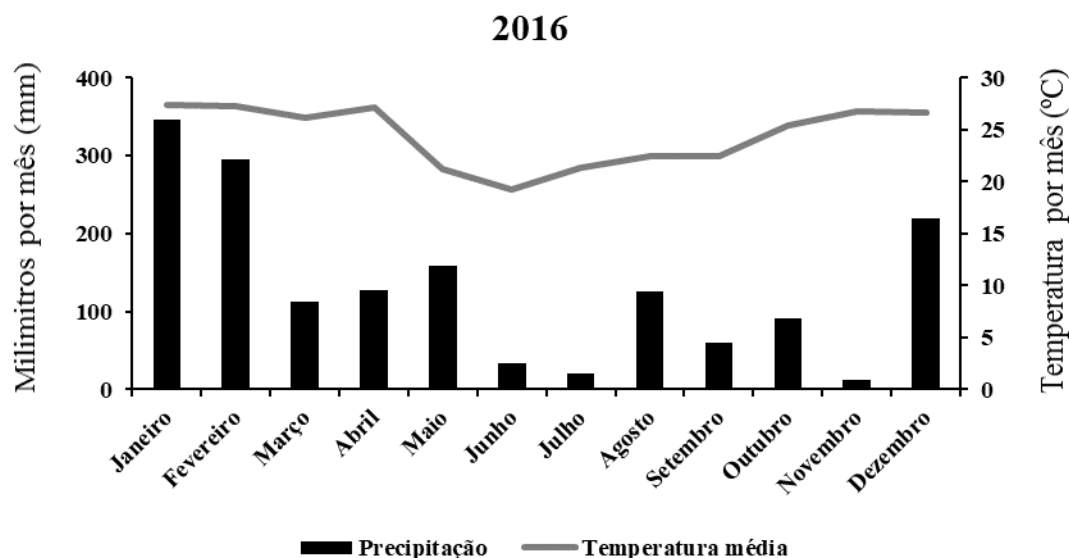
De acordo com resultados encontrados por Quintino et al. (2013) (5), estudando consorciação de sorgo pastejo e a forrageira capim piatã, eles observaram que o consorcio obteve a maior produtividade de forragem e proteína bruta aos 70 dias após a germinação em relação ao cultivo solteiro.

O objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho produtivo e qualidade nutricional de quatro cultivar de forrageiras tropical perene em consórcio com sorgo pastejo.

## MATERIAL E MÉTODOS

A instalação do experimento ocorreu em março de 2016, no Colégio Agrícola Prof. Dr. Antônio Eufrásio de Toledo, em Presidente Prudente-SP, em um solo classificado como Argissolo Vermelho distroférico (6), com relevo suave ondulado e teor de argila de 16% na camada de 0-20 cm.

O clima da região de Presidente Prudente-SP, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cwa, com temperaturas médias anuais em torno de 25°C e regime pluvial caracterizado por dois períodos distintos, um chuvoso de outubro a março e outro de baixa precipitação pluvial de abril a setembro.



**Figura 3.** Precipitação e temperatura mensal do ano de 2016.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 4 x 2, com cinco repetições. Os tratamentos constituídos foram de quatro cultivares de gramíneas forrageiras (*Panicum maximum* cv. Mombaça, *Panicum maximum* cv. Massai, *Urochloa brizantha* cv. Xaraés e *Urochloa brizantha* cv. Marandu) em interação com o sistema de forragem (SF) (solteira e consorciado com sorgo pastejo).

Em dezembro de 2015 realizou a caracterização química do solo da área (Tabela 1), para tanto foram coletadas amostras de solo de 0-20 e 20-40 cm de profundidade. As amostras foram secas ao ar e analisadas quanto às seguintes características: pH (CaCl<sub>2</sub>), matéria orgânica, bases trocáveis, alumínio e hidrogênio extraíveis e fósforo disponível, e foram calculadas a capacidade de troca de cátions (CTC) e a saturação por bases (V%), conforme metodologia proposta por Raij et al. (7). A correção de acidez do solo e adubação foi recomendada de acordo com a necessidade da área experimental, sendo aplicadas 2 t ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico para elevar a saturação de base do solo para 70%, e 1 t ha<sup>-1</sup> de gesso agrícola para o fornecimento de enxofre. A calagem e a gessagem foram realizadas em janeiro de 2016, incorporadas com grade pesada na profundidade de 40 cm.

**Tabela 1.** Características químicas do solo nas profundidades 0-0,20 e 0,20-0,40 m, determinadas em dezembro de 2016.

Profundidade	pH (CaCl <sub>2</sub> )	M.O.	P <sub>resina</sub>	H+Al	K	Ca	Mg	CTC	V
--------------	----------------------------	------	---------------------	------	---	----	----	-----	---

(m)	(g dm <sup>-3</sup> )	(mg dm <sup>-3</sup> )	————	(mmol <sub>c</sub> dm <sup>3</sup> )	——	%
0-0,20	5,2	18,6	3,1	21	0,8 10 7	40
0,20-0,40	5,1	15,2	2,8	21	0,7 10 6	39

A semeadura do sorgo cv. BM 500 e das gramíneas forrageiras, foram a lançar manualmente no dia 10/03/2016, sendo 5 kg ha<sup>-1</sup> e 10 kg ha<sup>-1</sup> de sementes, respectivamente. As sementes das gramíneas forrageiras tinham o VC 80%. A adubação nitrogenada de cobertura foi realizada na dose de 100 kg ha<sup>-1</sup> de N 30 dias após a emergência (DAE).

A determinação da quantidade de matéria seca e a proteína bruta foi realizado no outono (19/05/), inverno (15/07) e primavera (25/09). Utilizou um gabarito de 1 m<sup>2</sup> para a coleta de cinco sub amostras dentro de cada parcela na altura de corte de 30cm. O material coletado foi levado para o laboratório para realizar a quantificação de matéria fresca com o auxílio de uma balança de precisão, posteriormente foi seco em estufa a 65 °C por 72 horas. Após a saída da estufa, o material foi pesado para a determinação da produtividade de forragem em kg ha<sup>-1</sup> de matéria seca. Esse material foi moído em moinho tipo Wiley, passada em peneira de 1 mm e posteriormente analisado para determinação do teor e proteína bruta (PB), segundo método descrito por Silva e Queiroz (8).

Os dados foram submetidos à análise de variância e os valores médios comparados através do teste Tukey (p<0,05) de acordo com Ferreira (9).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O cultivar Mombaça diferiu dos demais cultivares na estação do outono, apresentando maior produtividade de matéria seca. Para o sistema de forragem (SF) o consórcio produziu mais do que o solteiro, isso se deve ao alto potencial produtivo do sorgo. O sorgo é uma planta que exige temperaturas superiores a 21 ° C e devido a sua estrutura que é resistente a seca necessita entre 500 a 600 milímetros para dar melhores produtividades (10), corroborando com os dados climáticos encontrados no presente estudo (Figura 1). Não houve interação entre os cultivares e o SF para os resultados de matéria seca no outono (Tabela 2).

**Tabela 2.** Produtividade de matéria seca de cultivares de *Panicum Maximum* cv. Mombaça, *Panicum Maximum* cv. Massai, *Urochloa Brizantha* cv. Xaraés, *Urochloa Brizantha* cv. Marandu consorciado ou não com *Sorghum bicolor*.

Cultivares	Outono	Inverno	Primavera
	kg ha <sup>-1</sup>		
Mombaça	4287a	3337a	4086a
Massai	3022bc	2761b	3054b
Xaraés	3213b	2967ab	3083b
Marandu	2566c	2672b	2947b
Sistema de Forragem			
Solteiro	2524b	2708b	2844b
Consórcio	4020a	3161a	3900a
Interação C x SF	ns	*	*
CV%	13,60	11,58	15,23

Médias seguidas de letras distintas na coluna, dentro do fator cultivar e sistema de forragem, diferem entre si pelo teste Tukey a 5% probabilidade. ns: Não significativo. \* e \*\* a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F

Na estação do inverno e da primavera houve interação entre cultivares de forrageiras e os SF para a produtividade de matéria seca (Tabela 3). No desdobramento da interação (Tabela 3), no inverno o consórcio entre sorgo pastejo e Mombaça produziu mais matéria seca do que os demais cultivares consorciados. Já no SF solteiro o Mombaça, Massai e Xaraés foram superiores ao cultivar Marandu, este resultado já era esperado devido este cultivar Marandu não ter altas produtividades, resultado este que corrobora com Alencar et al. (11) que comparando espécies forrageiras a *Urochloa brizantha* cv. Xaraés e o *Panicum Maximum* cv. Mombaça no inverno obtiveram maior quantidade de matéria seca do que o cultivar Marandu, esse resultado é devido ao Xaraés e o Mombaça serem plantas muito vigorosas, que apresenta boa resposta à adubação e possuem folhas mais largas que as do Marandu.

Em relação ao SF, o consórcio nos cultivares de Mombaça e Marandu diferiram do SF solteiro, porém não atingiram as mesmas produtividades do consórcio Marandu e sorgo, onde a produtividade de matéria seca de forragem (PMSF) foi acima de 5.000 kg ha<sup>-1</sup> observada na primeira estação de avaliação (inverno) considerada satisfatória, já na segunda estação (Primavera), tal produtividade foi superior a 8.000 kg ha<sup>-1</sup>, esta PMSF mostra a viabilidade do consórcio do sorgo com o cultivar Marandu, pois refere-se à produção de alta quantidade de forragem durante a entressafra, no período de maior escassez de forragem (meados de inverno/início de primavera) (12).

Na primavera, o cultivar Mombaça produziu 27, 31 e 35% mais matéria seca do que os cultivares Massai, Xaraés e Marandu, respectivamente, em consórcio com sorgo de pastejo, segundo Calvo et al. (13) há consorciação de sorgo e guandu-anão há maior sincronismo de crescimento entre ambas as espécies, o que favorece o equilíbrio na composição da fitomassa de ambas as culturas, assim o sorgo se mostra uma excelente alternativa para consórcios agropecuários. Já no SF solteiro não houve diferença entre os cultivares.

Em relação ao SF o consórcio nos cultivares de Mombaça, Massai e Xaraés diferiram do SF solteiro, os resultados apresentados no presente trabalho corrobora com os resultados apresentados por Benicio et al. (14) estudando cultivares de *Panicum maximum* em consórcio com sorgo, os valores de produtividade das cultivares avaliadas apresentam boa capacidade de produção, mesmo após um longo período de estiagem, porém assim que as chuvas se reestabeleceram as plantas obtiveram produção elevada, não havendo interferência das forrageiras no desenvolvimento do sorgo devido sua elevada capacidade de competição e o consórcio não interfere no estabelecimento da pastagem, pois ao final do primeiro ano as plantas apresentaram boa capacidade de produção.

**Tabela 3.** Desdobramento da interação significativa de massa da matéria seca entre cultivares de *Panicum Maximum* cv. Mombaça, *Panicum Maximum* cv. Massai, *Urochloa Brizantha* cv. Xaraés, *Urochloa Brizantha* cv. Marandu e sistemas de forragem (SF) solteiro e consorciado *Sorghum bicolor*

Sistema de forragem	Cultivares <sup>(1)</sup>			
	Mombaça	Massai	Xaraés	Marandu
	MS (kg ha <sup>-1</sup> ) Inverno			
Consórcio	3661Aa	2791Ab	3050Ab	3139Aab
Solteiro	3013Ba	27331Aab	2883Aa	2203Bb

	MS (kg ha <sup>-1</sup> ) Primavera			
Consórcio	5037Aa	3655Ba	3431Ba	3231Ba
Solteiro	3135Ab	2453Ab	2733Ab	2662Aa

Médias seguidas de letras distintas (maiúscula na coluna e minúscula na linha) diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados de proteína bruta (PB) (Tabela 4) no outono e na primavera o cultivar Mombaça diferiu dos demais cultivares alcançando o maior teor de PB em relação as outras cultivares estudadas e no inverno não houve diferença entre as cultivares, podendo ter relação com a grande quantidade de folhas senescentes. No SF o consórcio diferiu do sistema solteiro em todas as estações avaliadas. O cultivar Mombaça sempre apresentou maior teor de PB, isso se deve ao cultivar Mombaça ter mais folhas que os demais cultivares de forrageiras e também por ter um alto teor de proteína bruta, resultados estes que não corroboram com Silva et al. (15) que trabalharam com diferentes cultivares de forrageiras onde na análise da composição bromatológica dos gêneros *Braquiária* e *Panicum* indicou diferenças entre as cultivares não havendo efeito para os teores de PB, com valores médios de 9,07%, no qual foi considerado satisfatório para as condições de clima tropical, haja vista que teores mínimos de 7,0% são exigidos para o adequado funcionamento do rúmen. Porém Costa et al. (16) estudando o consórcio de sorgo com *Panicum maximum* cv. Tanzânia nos dois anos agrícolas o teor de PB sempre foi maior no consórcio.

De acordo com resultados encontrados por Quintino et al. (5), estudando a consorciação de sorgo pastejo e a forrageira Piatã, eles observaram que o sorgo consorciado com a forrageira Piatã obteve a maior produtividade da forragem aos 70 dias após a semeadura as forragens apresentaram valores maiores em PB do que o sistema solteiro e independentemente da idade de corte, o sorgo em monocultivo apresentou os maiores teores de PB.

**Tabela 4.** Proteína Bruta (PB) de cultivares de *Panicum Maximum* cv. Mombaça, *Panicum Maximum* cv. Massai, *Urochloa Brizantha* cv. Xaraés, *Urochloa Brizantha* cv. Marandu consorciado ou não com *Sorghum bicolor*.

Cultivares	Outono	Inverno	Primavera
	Kg ha <sup>-1</sup>		
Mombaça	14,76a	6,91a	9,54a
Massai	12,66b	6,56a	8,69ab
Xaraés	11,32c	6,27a	8,91ab
Marandu	10,19d	6,08a	7,96b
Sistema de Forragem			
Solteiro	11,19b	5,46b	8,27b
Consórcio	13,28a	7,45a	9,34a
Interação C x SF	ns	ns	ns
CV%	4,45	12,35	8,89

Médias seguidas de letras distintas na coluna, dentro do fator cultivar e sistema de forragem, diferem entre si pelo teste Tukey a 5% probabilidade ns: Não significativo. \* e \*\* a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

## CONCLUSÃO

O consórcio é uma excelente alternativa para a produção e qualidade de forragem independente da estação do ano. O cultivar Mombaça foi o que melhor se adequou ao consórcio com o sorgo pastejo.

## REFERENCIAS

1. Anualpec. Anuário da Pecuária Brasileira. Instituto FNP. 2014; 360.
2. Quintino AC, Almeida RG, Abreu JG, Macedo MCM. Características morfogênicas e estruturais do Cultivar-Piatã em sistema de integração lavoura-pecuária. Vet. e Zootec. 2016;23(1):131-138.
3. Lima CB, Carneiro JC, Novaes LP, Lopes FCF, Rodrigues JAS. Potencial forrageiro e avaliação bromatológica de híbridos de sorgo com cultivar-sudão. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2005; 18.
4. Simili FF, Gomide CAM, Moreira AL, Reis RA, Lima MLP, Paz CCP. Respostas do híbrido de sorgo-Sudão as adubações nitrogenada e potássica: características estruturais e produtivas. ciênc. Agrotec. 2010;34(1):87-94.
5. Quintino AC, Abreu JG, Almeida RGA, Macedo MCM, Cabral LS, Galati RL. Production and nutritive value of piatã grass and hybrid sorghum at different cutting ages. Acta Sci., Anim. Sci. 2013;35(3):243-249.
6. Embrapa. Centro Nacional e Pesquisa em Solos. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Brasília: Embrapa-SPI. Embrapa-Solos. 2006; 306.
7. Raij BV, Andrade JC, Cantarella H, Quaggio JA. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas: Instituto Agrônomo. 2001; 284.
8. Silva DJ, Queiroz AC. Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002;235
9. Ferreira DF. Análise estatística por meio do sisvar para windows versão 4.0. In: Anais da 45ª Reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria; 2000, São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; p.255-258.
10. Cabarcas ADR, Caicedo JDP. Efecto de los fenómenos de El Niño y La Niña en la precipitación y su impacto en la producción agrícola del departamento del Atlántico (Colombia). Revista colombiana de geografía. 2013;22(2):2256-5442.
11. Alencar CAB, Cunha FF, Martins CE, Cóser AC, Oliveira RA, Araújo RAS. Adubação nitrogenada e estações anuais na produção de capins irrigados no leste mineiro sob corte. Rev. bras. saúde prod. anim. 2013;14(3):413-425.
12. Calvo CL, Foloni JSS, Brancalhão SR. Produtividade de fitomassa e relação c/n de monocultivos e consórcios de guandu-anão, milheto e sorgo em três épocas de corte Bragantia. 2010;69(1):77-86.



13. Crusciol CAC, Mateus GP, Pariz CM, Borghi E, Costa C, Silveira JPF. Nutrição e produtividade de híbridos de sorgo granífero de ciclos contrastantes consorciados com cultivar- marandu. *Pesq. agropec. bras.* 2011;46(10):1234-1240.
14. Benício LPF, Oliveira VA, Silva LL, Rosanova C, Lima SO. Produção de *Panicum maximum* consorciado com sorgo sob diferentes fontes de fósforo. *Tecnol. & Ciên. Agropec.* 2011;5(2):55-60.
15. Silva JL, Ribeiro KG, Herculano BN, Pereira OG, Pereira RC, Soares LFP. Massa de forragem e características estruturais e bromatológicas de cultivares de *brachiaria* e *Panicum*. *cienc. Anim. Bras.* 2016;17(3):342-348.
16. Costa NR, Andreotti M, Bergamaschine AF, Lopes KSM, Lima AES. Custo da produção de silagens em sistemas de integração lavoura-pecuária sob plantio direto. *Rev. Ceres.* 2015;62(1):09-19.