ELIZA ROSSI KOMNINOU

**Contribuição ao estudo da hematologia de bezerros da raça nelore, originados
por meio da técnica de transferência nuclear de célula somática (TNCS) -**

Clonagem

Dissertação apresentada ao
programa de Pós-graduação em
Clínica Veterinária da Faculdade
de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:
Clínica Médica

Área de concentração:
Clínica Veterinária

Orientador:
Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel
Junior

**SÃO PAULO
2008**

N.º CLASSIFICAÇÃO
N.º TOMBO
022802
SAB 1381

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

ref. ficha 81
BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP
27/7/08

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2023
FMVZ

Eliza Rossi Komninou
Contribuição ao estudo da hematologia de bezerros da raça nelore, originados por meio da técnica de transferência nuclear de célula somática (TNCS) - Clonagem / Eliza Rossi Komninou. – São Paulo : E. R. Komninou, 2008.
145 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, 2008.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.
Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Junior.

1. Eritrograma. 2. Metabolismo de ferro. 3. Tipos de hemoglobina. 4. Clonagem animal. 5. vino.. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Hematologia de bezerros da raça Nelote originados por meio da técnica de transferência nuclear de células somáticas adultas - clonagem", protocolado sob o nº914/2006, utilizando 20 (vinte) bovinos, sob a responsabilidade da Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Júnior, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 14/06/06".

(We certify that the Research "Calves hematology of Nelore's breed produced through nuclear transfer from somatic cell - cloning", protocol number 914/2006, utilizing 20 (twenty) bovines, under the responsibility of Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Júnior, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in the meeting of the day 06/14/2006).

São Paulo, 19 de junho de 2006

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: Komninou, Eliza Rossi

Título: Contribuição ao estudo da hematologia de bezerros da raça Nelore, originados por meio da técnica de transferência nuclear de célula somática (TNCS) - Clonagem

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: 22/8/08

Banca Examinadora

Prof. Dr. Eduardo Hany Buzal Jr Instituição: FMVZ-USP

Assinatura: [Assinatura] Julgamento: Aprovada

Prof. Dr. Fernando José Benesi Instituição: FMVZ-USP

Assinatura: [Assinatura] Julgamento: Aprovada

Prof. Dr. Flávio Vieira Leinek Instituição: FEA

Assinatura: [Assinatura] Julgamento: Aprovada

Dedico este trabalho

Aos meus pais, Nico e Angela companheiros de todos os momentos.

*No amor de vocês foi onde sempre me amparei.
Obrigada por me confortarem nos momentos difíceis e
por todo o apoio e carinho que recebi não somente durante este trabalho
mas durante toda a minha vida...
Eu não conseguiria sem vocês.*

*À minha querida amiga Lisiane, pessoa tão especial em minha vida,
que tantas vezes me recebeu em sua casa, lugar para onde corro
sempre que a saudade aperta e que necessito de alegria
Você não imagina o quanto seu apoio foi importante para a realização deste trabalho.
Obrigada.*

*Ao meu querido amor Micael, pessoa maravilhosa que um dia
cruzou o meu caminho e mudou completamente a minha vida.
Obrigada por me acompanhar e por compartilhar o meu cotidiano tornando-o
muito mais leve e cheio de alegrias.
Você me faz muito feliz ... amor da minha vida.*

Ao meu irmão

Fabio

*Único irmão... diferente de mim sobre todos os aspectos, porém único e especial
Você é um exemplo de trabalho e dedicação à família
Obrigada pelo apoio, pelo amor e por sempre tentar me ajudar nas horas difíceis.
Te amo muito*

À minha cunhada

Vanessa

*Exemplo de serenidade e de tranquilidade, esposa que sonhei para o meu irmão,
mãe perfeita dos meus sobrinhos e nora querida dos meus pais.
Obrigada por fazer parte da minha vida. Você é muito especial.
Todos te amamos muito*

Aos meus queridos sobrinhos

Bruna, Vinicius e Mateus

*Obrigada por todos os momentos adoráveis que dividimos quando estamos juntos.
Vocês não sabem a imensa alegria que tenho em saber que vamos estar mais próximos daqui
pra frente*

À minha querida avó

Maria José

*Meu agradecimento por tudo que você faz pela família e por ser tão importante para mim
~~porque sem elas não teria como chegar com tanta facilidade sempre desejando coisas boas para a minha~~
vida.*

Sem elas talvez eu não estivesse aqui

Ao meu irmão

Fabio

*Único irmão... diferente de mim sobre todos os aspectos, porém único e especial
Você é um exemplo de trabalho e dedicação à família
Obrigada pelo apoio, pelo amor e por sempre tentar me ajudar nas horas difíceis.
Te amo muito*

À minha cunhada

Vanessa

*Exemplo de serenidade e de tranquilidade, esposa que sonhei para o meu irmão,
mãe perfeita dos meus sobrinhos e nora querida dos meus pais.
Obrigada por fazer parte da minha vida. Você é muito especial.
Todos te amamos muito*

Aos meus queridos sobrinhos

Bruna, Vinicius e Mateus

*Obrigada por todos os momentos adoráveis que dividimos quando estamos juntos.
Vocês não sabem a imensa alegria que tenho em saber que vamos estar mais próximos daqui
pra frente*

À minha querida avó

Maria José

*Meu agradecimento por tudo que você faz pela família e por ser tão importante para mim.
Obrigada pelas velas que acende com tanta fé sempre desejando coisas boas para a minha
vida.
Sem elas talvez eu não estivesse aqui*

Aos meus queridos tios, primos e amigos, obrigada

Ao meu orientador
Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Junior
*meus sinceros agradecimentos pela confiança no meu trabalho, pelos
ensinamentos e pela minha formação profissional.*

Agradecimentos

Ao meu amigo e orientador *Eduardo*, pela confiança em mim depositada, por todas as coisas que me ensinou e pelo exemplo de integridade. Agradeço por ter ficado ao meu lado nos momentos difíceis desta jornada. Jamais me esquecerei do seu apoio.

À *Fundação de amparo à pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP*, pela concessão da bolsa e pelo apoio financeiro desta pesquisa.

Ao *Programa de pós-graduação do departamento de Clínica Médica* da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e aos seus *docentes* pelos ensinamentos transmitidos.

Às *empresas de Biotecnologia da Reprodução* que permitiram a coleta de amostras dos animais clonados e todo o desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor *Flavio Vieira Meirelles*, pela confiança no cuidado com os bezerros, pelo incentivo ao raciocínio, ao estudo e pelo exemplo de busca incessante pelo conhecimento e à sua família, por me receber de forma tão gentil durante tão longo período.

Aos professores do Departamento de Clínica Médica, especialmente ao *Prof. Dr. Fernando José Benesi*, ao *Prof. Dr. Enrico Ortolani*, ao *Prof. Wanderley Araújo*, à *Profa. Dra. Lilian Gregory*, à *Profa. Dra. Alice Della Libera* e à *Profa. Dra. Maria Claudia Sucupira*, pelos ensinamentos durante a residência e o mestrado.

Aos professores *Paulo Mayorka*, *Angélica Miglino*, *Eduardo Birgel*, *José Antônio Visintin*, *Anelise de Souza Traldi* e *Ed Hoffman* um especial agradecimento por compartilharem seu conhecimento durante este trabalho, contribuindo com sugestões e colaborando das mais variadas formas.

Aos queridos amigos *Maria e João*, que cuidaram de mim com tanto carinho e com quem tive a sorte de conviver durante todo o período de árduo trabalho. Obrigada pela amizade e por toda a ajuda.

Aos veterinários *José Carlos Ereno Junior e José Henrique Fortes Pontes* pela maneira com que me receberam e pela riquíssima troca de experiências.

Ao querido *Ademilson*, por toda a ajuda e principalmente por sua amizade.

À amiga *Christina Ramires Ferreira*, por ter me recebido em sua casa durante tanto tempo, por todo o carinho e pela ajuda com o resumo em inglês.

Às queridas *Marli, Clara e Samanta*, pela imensa ajuda durante a dura fase de processamento das amostras e também pela amizade. Não terei palavras para agradecê-las.

À querida *Cecília*, do Laboratório do Hospital Veterinário de Pirassununga, por sua enorme disposição em ajudar. Tive a sorte de conhecer esta pessoa incrível que mesmo sem me conhecer prestou tamanha ajuda. Obrigada.

À *Sandra Fatima Menosi Gualandro*, chefe do Laboratório de Hematologia do Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo pelo estágio concedido, e em especial às suas técnicas: *Deise Miyuki Tsuha Moromizato* e *Iara Keizo Yotomizo*, pelo carinho e pelo treinamento no setor de eletroforese, aplicadas no diagnóstico de hemoglobinopatias.

Aos queridos *Fabio, Marcelo, João, Huber e Tio Chico* e queridas *Raquel, Daniela, Mariana, Fernanda e Bárbara*, pela amizade, ajuda, troca de experiências e pelos momentos bons que passamos juntos. Vocês poderão sempre contar comigo.

Aos ex-residentes da Clínica de Bovinos e Pequenos Ruminantes: *Thales, Enoch e Frederico*, por toda ajuda e pela amizade.

Aos queridos amigos do Hospital de Bovinos: *Maria, Elias, Francisco, Édson, Luizinho, residentes e ex-residentes, alunos, estagiários, colegas de pós-graduação, ex-colegas e professores*, muito obrigada por tudo.

Aos amigos pós-graduandos de outros departamentos *José Rodrigo, Moisés, Adriana, Fernando Pardo e Fernando Braga* por toda a ajuda com os bezerros e com as amostras. Pela amizade e pelos bons momentos. Obrigada.

Ao meu pai, *Nicolas*, aos amigos *Fabio e Marcelo* e aos queridos *Eduardo e Daniela* pela imensa ajuda nas vésperas de entrega da dissertação. Não sei o que teria feito sem a ajuda de vocês. Obrigada.

Ao meu amor, *Micael*, por tudo o que ele representa em minha vida, pela paciência nas vésperas de entrega da tese e por toda a ajuda com o "computador".

À *Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas – UFPel*, onde concluí minha graduação e a todos os professores que contribuíram para a minha formação, em especial aos queridos *Marcio Nunes Corrêa e Lúcia Wachholz*.

Aos colegas de trabalho, *Juliana e Luciano* e especialmente às queridas *Andréa Cristina Basso e Alexandra Ereno* por toda a compreensão e incentivo na fase final de confecção e entrega da dissertação. Sem vocês eu não teria conseguido. Muitíssimo Obrigada.

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a minha formação e a realização deste trabalho.

"Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já tem a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos."

Fernando Pessoa

RESUMO

KOMNINOU, E. R. **Contribuição ao estudo da hematologia de bezerros da raça Nelore, originados por meio da técnica de transferência nuclear de células somáticas (TNCS) - Clonagem.** [Contribution to the study of hematology of Nelore calves produced by somatic cell nuclear transfer (SCNT) - Cloning]. 2008. 147 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008

A presente pesquisa teve a finalidade de estudar a hematologia de bezerros clonados da raça Nelore, originados por meio da técnica de transferência nuclear de células somáticas (TNCS) por meio da avaliação do quadro eritrocitário, da dinâmica dos tipos de hemoglobina e do metabolismo do ferro destes animais durante o primeiro mês de vida. O delineamento experimental envolveu a colheita de 260 amostras de sangue e soro sanguíneo de 20 bezerros distribuídas nos seguintes momentos: imediatamente após o nascimento, 12 horas após o nascimento, 1 dia de vida, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15, 20 e 30 dias de vida. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais: 12 bezerros obtidos por meio da técnica de TNCS pelos laboratórios A e B, 4 por meio de fertilização *in vitro* (FIV) e 4 por monta natural (MN). A ocorrência de anemia de grau moderado a grave, do tipo normocítico e normocrômico, foi observada em 100 % (5/5) dos 5 bezerros clonados pelo Laboratório A, enquanto a incidência nos bezerros clonados pelo Laboratório B foi igual a 14,2 % (1/7), nos bezerros obtidos por fertilização *in vitro* foi igual 50,0 % (2/4) e em bezerros obtidos por monta natural foi igual a 50,0 % (2/4). A avaliação do eritrograma dos bezerros clonados pelo Laboratório A evidenciou que a anemia instalou-se gradualmente a partir das 12 horas de vida atingindo ao final da primeira semana, a sua intensidade máxima, sendo observada a recuperação gradativa dos valores eritrograma a partir do 15º dia de vida. Os valores médios obtidos para o eritrograma dos bezerros clonados do Laboratório A no 7º dia de vida foram os seguintes: Hemácias - $4,33 \times 10^6/\text{mm}^3$; Volume Globular - 23 %, Taxa de Hemoglobina - 7,25 g/dL; VCM - $52,89 \mu^3$; HCM - 16,65 pg; CHCM - 31,47%. A anemia observada nos bezerros clonados pelo Laboratório A era de origem ferropriva, pois se evidenciou nesses animais uma significativa diminuição dos teores séricos de ferro associada à diminuição do índice de saturação da transferrina (IST), enquanto os valores da capacidade total de ligação do ferro (CTLF) não sofreram influência durante o período. Os valores médios obtidos para o

metabolismo de ferro dos bezerros clonados pelo Laboratório A no 7º dia de vida foram os seguintes: teores séricos de ferro - 47,35 mg/dL; capacidade total de ligação de ferro - 455,90 mg/dL, índice de saturação da transferrina - 9,64%. Durante o estudo dos tipos de hemoglobinas, utilizando-se técnica de eletroforese foram identificados três fenótipos de hemoglobina adulta (Hb-A; Hb-B e Hb-AB) e a presença de hemoglobina fetal (Hb-F), não sendo observadas anomalias que pudessem sugerir a ocorrência de hemoglobinopatias hereditárias e/ ou congênitas. Verificou-se que as taxas de Hb-A, nos clones com fenótipo Hb-AB e Hb-A, permaneceram estáveis durante todo o período experimental, enquanto nos bezerros obtidos por fertilização *in vitro* ou monta natural com os mesmos fenótipos (Hb-A e Hb-AB) observou-se a partir de 120 horas de vida um gradativo aumento das taxas de Hb-A. Durante a avaliação da dinâmica da hemoglobina do tipo fetal (Hb-F) no primeiro mês de vida observou-se, que todos os grupos animais apresentaram comportamento similar, caracterizado por sua diminuição com o desenvolvimento etário.

Palavras-chaves: eritrograma, metabolismo de ferro, tipos de hemoglobina, clonagem animal, bovino.

ABSTRACT

KOMNINOU, E. R. Contribution to the study of hematology of Nelore calves produced by somatic cell nuclear transfer [**Contribuição ao estudo da hematologia de bezerros da raça Nelore, originados por meio da da técnica de transferência nuclear de célula somática (TNCS) - Clonagem**]. 2008. 147 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008

The present work aimed to study the hematology of cloned Nelore calves produced using the technique of somatic cell nuclear transfer (SCNT), by evaluating erythrocyte parameters, hemoglobin dynamics, and iron metabolism in the animals during the first month after birth. The experimental design included the collection of 260 blood and blood serum samples from 20 calves in the following times: immediately after birth, 12 hours after birth, 1st of life, 2nd, 3rd, 4th, 5th, 7th, 20th and 30th day of life. The animals were classified in four experimental groups: 12 calves produced using SCNT for two commercial laboratories (laboratory A=5 calves and laboratory B= 7 calves), four calves produced by *in vitro* fertilization (IVF) and four calves produced by natural mating (NM). Mild to severe normocytic and normochromic anemia was observed in 100% (5/5) cloned calves from laboratory A, and 14.2% (1/7) cloned calves from laboratory B. In both IVF and NM calves, anemia was observed in 50% (2/4) of the calves. Erytrogram evaluation of cloned calves from laboratory A showed that anemia developed gradually from 12 hours after birth, was most intense at the end of the first week, and then erytrogram normal values were recovered after the 15th day of life. Mean values for the laboratory A cloned calves erytrogram in the 7th day of life were the following: Red cells $4.33 \times 10^6/\text{mm}^3$, hematocrit 23%, hemoglobin 7.25g/dL, MCV $52.89 \mu^3$; MCH 16.65, MCHC 31.47%. Anemia observed in cloned calves from laboratory A was caused by iron deficiency, since a significant decrease in iron serum levels together with a decrease in transferrin saturation index (TSI) was confirmed. At the same time, Total iron-binding capacity (TIBC) was not changed in this period of time. Mean iron metabolism values for cloned calves from laboratory A were the following: serum iron amount: 47,35mg/dL, TIBC 455,90 mg/dL and TSI 9,64%. Hemoglobin identification by eletrophoresis identified three adult hemoglobin phenotypes (A-Hb; B-Hb e AB-Hb) and the fetal hemoglobin (F-HB), and there was no sign of hereditary hemoglobin disorders were observed. The rate of A-Hb in cloned calves with A-Hb and AB-Hb

phenotypes was maintained during the experimental period. Nonetheless, for the IVF calves with the same phenotypes (A-Hb and AB-Hb) a constant increase in the the A-Hb was noticed. For the evaluation of F-Hb dynamics in the first month of life, results showed similar pattern, characterized by its decrease with age.

Keywords: erytrogram, iron metabolism, hemoglobin phenotypes, somatic cell nuclear transfer, bovine.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	OBJETIVOS	21
2	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1	EFICIÊNCIA DAS TÉCNICAS DE CLONAGEM	22
2.2	DISTÚRBIOS RELACIONADOS À GESTAÇÃO	23
2.3	ALTERAÇÕES NEONATAIS	25
2.3.1	Síndrome do Neonato Anormal	25
2.3.1.1	Alterações Clínicas	27
2.3.1.2	Alterações Hematológicas	29
2.3.1.3	Alterações Bioquímicas e hormonais	30
2.4	ANEMIAS NEONATAIS	31
2.5	METABOLISMO DO FERRO	32
2.6	TIPOS DE HEMOGLOBINAS	35
3	MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1	COLHEITA DE SANGUE	37
3.2	DETERMINAÇÃO DO ERITROGRAMA	38
3.2.1	Contagem do Número de Hemácias	39
3.2.2	Determinação do Volume Globular	39
3.2.3	Dosagem de Hemoglobina	42
3.2.4	Cálculo dos Índices Hematimétricos Absolutos	40
3.3	DETERMINAÇÃO DOS TIPOS DE HEMOGLOBINAS POR MEIO DE ELETROFORESE ALCALINA EM ACETATO DE CELULOSE	40

3.4	DETERMINAÇÃO DO TEOR SÉRICO DE FERRO (FS), CAPACIDADE TOTAL DE LIGAÇÃO DO FERRO À TRANSFERRINA (CTLF) E ÍNDICE DE SATURAÇÃO DA TRANSFERRINA (IST)	41
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42
4	RESULTADOS	43
5	DISCUSSÃO.....	71
6	CONCLUSÕES.....	77
	REFERÊNCIAS	79
	ANEXOS.....	87

1 INTRODUÇÃO

A transferência nuclear de células somáticas (TNCS) tem sido usada com êxito para a produção de animais viáveis, porém a eficiência desta técnica ainda é baixa. Diversos problemas no desenvolvimento têm sido observados em clones, com alta mortalidade embrionária, fetal e pós-natal. A principal causa das mortes tem sido atribuída a distúrbios placentários e fetais devido à reprogramação nuclear anormal da célula somática doadora de núcleo e à expressão gênica alterada.

No Brasil, a clonagem comercial de animais é realizada por empresas privadas desde 2004. A grande maioria dos partos destes animais, que vem ocorrendo desde 2005, pôde ser acompanhada no período de realização deste trabalho. Ao longo desses anos, as mesmas dificuldades relatadas por pesquisadores de outros países foram observadas. Os partos são freqüentemente sujeitos à assistência veterinária e os animais originados não raramente apresentam peso acima do normal. Alterações placentárias ocorrem com freqüência e geralmente são acompanhadas de uma incidência alta de hidroalantóide e retardamento das fases de abertura e dilatação das vias fetais durante o parto.

Além disso, um grande número de bezerros morre durante a primeira semana de vida, especialmente nas primeiras 24-48 horas após o nascimento, devido a distúrbios de adaptação neonatal de diversas ordens. As perdas pós-natais atingiram cerca de 47% dos clones que se desenvolveram a termo durante os últimos três anos (n=55), sendo este um fato intrigante e talvez um dos principais desafios relacionados à produção comercial de animais clonados tanto no Brasil quanto no mundo.

As complicações peri e pós-natais observadas nos clones incluem o desenvolvimento de deficiências decorrentes de má formação congênita em órgãos como coração, rins, e vasos umbilicais. Outros distúrbios são em sua maioria consequência de hipoxemia e hipoxia tecidual e parecem originar-se ainda no intra-parto, em decorrência de um estado de sofrimento fetal provocado pela deficiência placentária e incluem dificuldade na regulação da glicemia, da temperatura e da pressão arterial, além de distúrbios nas funções digestiva e hepática evidentes logo após o parto.

Ao que parece, as trocas materno-fetais deficientes que ocorrem em consequência da disfunção placentária, levam ao comprometimento das trocas gasosas e conseqüentemente à redução da pressão parcial de oxigênio (pO_2) no território fetal. Isso provoca alterações hemodinâmicas com o objetivo de economizar oxigênio circulante, através da vasodilatação em órgãos vitais (sistema nervoso central, coração e adrenais do feto) e vasoconstrição generalizada, atingindo entre outros, sistema músculo esquelético, fígado, pele, rins e pulmões, o que impõe grande sacrifício a um extenso território do organismo fetal.

A hipoxia tecidual faz com que as células, nos diferentes órgãos, passem a realizar preferencialmente o metabolismo anaeróbico com alto consumo de glicose, baixo rendimento energético e produção e acúmulo de ácido láctico no sistema orgânico. As reservas de glicogênio, principalmente no fígado, são mobilizadas. Além disso, concentrações crescentes de íons hidrogênio são produzidas, levando o animal a um desequilíbrio ácido-básico quando se esgotam os sistemas tampão (hemoglobina e bicarbonato).

O quadro de acidose metabólica, caracterizado pela redução das taxas de bicarbonato (HCO_3^-) e aumento de íons hidrogênio (H^+) e respiratória, caracterizada

pela redução das taxas de oxigênio (O_2) e aumento de dióxido de carbono (CO_2) no sangue e as injúrias provocadas pela hipoxia tecidual peri e pós-natal parecem ser a principal causa de mortalidade nos clones que não possuem má formações dos órgãos.

O quadro de depressão provocado pela acidose dá início a uma sequência de fatos que ocorrem de maneira sucessiva e culminam com a morte do animal. Este quadro inibe os reflexos de sucção e deglutição e impedem o bezerro de se alimentar e de levantar-se logo nas primeiras horas de vida. Nos animais que possuem peso corporal elevado, o decúbito torna-se ainda mais prejudicial pela compressão de nervos do aparelho locomotor. O bezerro não ingere colostro de forma adequada e mesmo quando o faz, não possui uma absorção perfeita das imunoglobulinas, o que leva ao aparecimento de infecções, principalmente onfalopatias, broncopneumonia, cistite, artrite e diarreia em bezerros que sobrevivem aos primeiros dias de vida.

Na hora do parto, devido ao sofrimento fetal que ocorre em consequência da disfunção placentária, geralmente nota-se tingimento de mecônio e freqüentemente os animais aspiram este elemento, o que leva a um quadro inflamatório nos pulmões que costuma durar de 12 a 24 horas. Associado a isto, as enzimas hepáticas estão alteradas e há hipoproteinemia, tanto por hipoalbuminemia quanto por hipoglobulinemia (pela ingestão ineficiente de colostro). Este fato juntamente com o decúbito, favorece a instalação de um quadro de edema pulmonar intenso, que prejudica a condição respiratória e contribui ainda mais para a redução da pO_2 . Nos casos em que ocorre má formação cardíaca, freqüentemente há insuficiência deste órgão e ocorre congestão passiva. A congestão atinge o pulmão, piora a condição respiratória e agrava a acidose.

Outra observação importante diz respeito a um fato importante relacionado à condição hematológica: a ocorrência de anemia de grau moderado a grave em boa parte dos neonatos, contribuindo com a diminuição da pO_2 e agravando ainda mais o quadro sintomático dos animais. Todos esses fatores conjuntamente levam a uma dificuldade respiratória intensa, aumento das frequências cardíaca e respiratória, distúrbios pressóricos associados a um colapso cárdio-circulatório que não raramente acabam levando o animal a um estado de choque e ao óbito, uma vez que determinam consequências orgânicas incompatíveis com a vida.

1.1 OBJETIVOS

Em vista de todos esses fatos, propusemo-nos a estudar alguns dos aspectos referentes à hematologia de animais clonados, diretamente relacionados às funções cardiovasculares e hemodinâmicas. Para tal, foi realizado um acompanhamento detalhado da condição hematológica de clones da raça Nelore, originados por meio da técnica de TNCS, durante o primeiro mês de vida, avaliando-se:

- 1- O quadro eritrocitário – com o objetivo de caracterizar a anemia e sua gravidade.
- 2- Os tipos de hemoglobina – com o objetivo de estudar a possibilidade de uma anemia hereditária, por hemoglobinopatia, caracterizada pela presença de hemoglobinas anormais.
- 3- Os níveis de ferro sérico e o metabolismo do ferro – com o objetivo de se estudar a possibilidade de uma anemia por deficiência deste elemento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EFICIÊNCIA DAS TÉCNICAS DE CLONAGEM

O advento da clonagem de animais a partir de embriões reconstruídos com núcleos provenientes de células em diferentes estágios de diferenciação tem sido responsável pelo aparecimento de diversas anomalias diagnosticadas durante a gestação e após o nascimento de animais clonados. Uma alta mortalidade, pré e peri-natal, têm sido demonstradas como resultado da produção *in vitro* – PIV (HASLER et al., 1995; SINCLAIR et al., 1995; SCHMIDT et al., 1996; KRUIP; DENDAAS, 1997; NUMABE et al., 1997; VAN WAGTENDONK-DE-LEEuw et al., 1998; JACOBSEN et al., 2000), da clonagem a partir da transferência nuclear de células embrionárias -TNCE (BONDIOLI et al., 1990; WILLADSEN et al., 1991; BONDIOLI, 1992; SEIDEL, 1992; KEEFER et al., 1994; BEHBOODI et al., 1995; WILSON et al., 1995; GARRY et al., 1996; KRUIP ; DENDAAS, 1997) e da clonagem a partir de células somáticas - TNCS (WELLS et al., 1997; SCHNIENEKE et al., 1997; KATO et al., 1998; RENARD et al., 1999; WELLS et al., 2004; CHAVATTE-PALMER et al., 2004). Estudos indicam que a causa dessas perdas em animais clonados está associada à reprogramação nuclear anormal da célula somática doadora de núcleo e à expressão anômala de genes fundamentais ao desenvolvimento do embrião, feto e placenta.

Em bovinos, as taxas de desenvolvimento de embriões reconstituídos, ainda durante o período *in vitro*, têm-se mostrado variável, desde inferiores a 5% até superiores a 65% (WESTHUSIN et al., 2001) e os resultados com células somáticas são, em geral, menores que 5 % (CIBELLI, 1998; WELLS, 1999).

Desde a criação da ovelha "Dolly" (WILMUT et al., 1997), as principais etapas da técnica de transferência nuclear (TN) não sofreram alterações. Trata-se de um procedimento em que cada uma das fases pode afetar o desenvolvimento subsequente. Os passos fundamentais podem ser sumarizados em: cultivo e seleção de células doadoras de núcleo, produção de ooplasto receptor, reconstituição oocitária, ativação e cultivo embrionário (PERECIN, 2007).

As alterações recentes na metodologia básica da clonagem têm sido dirigidas por duas necessidades principais: melhorar as taxas de desenvolvimento e a eficiência da técnica como um todo e simplificar e modernizar o procedimento (PERECIN, 2007). Recentes esforços na tentativa de modernizar e simplificar a técnica sugerem, por exemplo, o uso de oócitos sem zona pelúcida (BOOTH et al., 2001; OBACK et al., 2003), a clonagem sem o uso de micromanipuladores (VAJTA et al., 2001) ou a abolição da eletrofusão por injeção direta da célula no interior do citoplasto (LEE et al., 2003), sem que, no entanto, grandes melhorias tenham sido obtidas como resultado. Na tentativa de melhorar a eficiência da técnica, alguns estudos têm buscado alterar o estado epigenético da célula doadora de núcleo antes da reconstituição, seja por tratamentos químicos (ENRIGHT et al., 2003) ou pela transferência de cromatina remodelada *in vitro* (SULLIVAN et al., 2004), mas estes trabalhos também não geraram grandes avanços.

2.2 DISTÚRBIOS RELACIONADOS À GESTAÇÃO

Perdas embrionárias e fetais ocorrem em diferentes períodos de gestação e são descritas por praticamente todos os grupos de pesquisadores.

As falhas no desenvolvimento da placenta estão entre as causas mais comuns de perdas durante a gestação de clones, sendo as perdas iniciais, atribuídas à inadequada transição da nutrição do saco vitelínico para o alantóide em decorrência da falta de vascularização, à rejeição imune e alterações de placentomas (WELLS et al., 1999; HILL et al., 2000). Em vacas e ovelhas costumam ser mais freqüentes no primeiro trimestre e são atribuídas a vascularização placentária deficiente (CHAVATTE-PALMER et al., 2004).

Chavatte-Palmer et al. (2002), constataram em gestações de clones, placentomegalia e reduzido número de placentomas em relação a gestações de animais controle, produzidos *in vitro* (PIV). O número de placentomas no grupo de clones variou de $69,9 \pm 9,2$ com pesos de $144,3g \pm 21,4g$ e no grupo de PIV foi de 137 placentomas com média de peso de $32,4g$ a $34,8g$.

Perdas gestacionais também costumam ocorrer na segunda metade da gestação, especialmente em decorrência de hidroalantóide (HEIMAN et al., 2002; PACE et al., 2002; CONSTANT et al., 2006). Outras alterações incluem aumento na espessura do cordão umbilical e membranas placentárias edematosas, sendo essas alterações responsabilizadas por perdas fetais em diferentes estágios de prenhez (WALKER et al., 1996; KRUIP; DENDAAS, 1997; CIBELLI et al., 1998; KATO et al., 1998; YOUNG et al., 1998; WELLS et al., 1999; HILL et al., 1999; HEYMAN et al., 1999).

Além disso, o tempo de gestação prolongado é muito comum em vacas prenhas de clones. Segundo, Matsuzaki e Shiga, (2002) os níveis reduzidos de cortisol encontrados nestes animais seriam insuficientes para preparar o sistema IGF (fator de crescimento insulina-dependente) para o "modo adulto" no final da gestação, resultando em dificuldades durante o parto.

2.3 ALTERAÇÕES NEONATAIS

A mortalidade pós-natal dos animais oriundos de TNCS é muito elevada. Dos bezerros que chegam a termo, as seguintes doenças e/ou anomalias têm sido descritas (WILSON et al., 1995; GARRY et al., 1996; RENARD et al., 1999, CHAVATTE-PALMER et al., 2004; RANDALL et al., 2005; MAYORKA et al., 2005):

2.3.1 Síndrome do neonato anormal

A Síndrome do neonato grande ou LCS (do inglês "Large Calf Syndrome") é uma característica que tem sido descrita em gestações tardias e que ocorre em animais provenientes de embriões cultivados *in vitro* (YOUNG et al., 1998). É caracterizada por um desenvolvimento anormal que leva ao nascimento de bezerros com peso e tamanho muito elevados. Esta síndrome é muito freqüente em ruminantes oriundos da clonagem, principalmente aqueles produzidos por TNCS e está fortemente associada à alta mortalidade.

Dados apresentados por Wilson et al. (1995), que compararam o peso ao nascimento, desmame (205 dias) e peso aos 365 dias de vida, de bezerros produzidos por clonagem, transferência de embrião (TE), monta natural (MN) e inseminação artificial (IA), demonstraram que os clones foram em média 20% maiores ao nascimento do que os animais dos demais grupos. Além disso, a variabilidade de pesos ao nascimento nos animais clonados foi de 4 a 12 vezes maior do que dos demais. O crescimento acelerado e a variabilidade não continuaram após o nascimento, sendo que ao desmame e com um ano de idade, os pesos dos clones

sofreram menos variações do que ao nascimento e foram semelhantes aos pesos dos animais de TE, MN e IA.

O fenômeno foi denominado por Farin et al. (2006), como Síndrome do neonato anormal ou AOS (do inglês "Abnormal offspring syndrome"), que propôs um sistema de classificação para facilitar estudos relacionados aos fenótipos anormais. Segundo este autor a síndrome pode ser classificada em quatro tipos:

TIPO 1: Desenvolvimento anormal com morte do embrião ou do concepto (reabsorção embrionária/aborto) antes da organogênese completa (até aproximadamente 42 dias de gestação).

TIPO 2: Desenvolvimento anormal de membranas placentárias e do feto; com morte fetal/aborto entre a fase de completa diferenciação de órgãos e o termo (de 42 a 280 dias de gestação).

TIPO 3: Na qual a gestação chega ao termo, o feto e/ou a placenta possuem severas anormalidades de desenvolvimento e não há evidência de resposta compensatória pelo feto ou placenta. O parto é normal (eutócico) ou difícil (distócico). Os neonatos estão severamente comprometidos, com alterações clínicas, de parâmetros hematológicos e bioquímicos; a morte ocorre entre a hora do parto ou durante o período neonatal.

TIPO 4: A gestação chega ao termo e tanto o feto quanto a placenta possuem alterações moderadas; entretanto ocorrem compensações feto-placentárias e adaptações que fazem com que o animal sobreviva apesar dos distúrbios genéticos

e fisiológicos. O parto é eutócico ou distócico. Os neonatos podem ter tamanho normal ou serem maiores do que a média da raça e podem ter alterações clínicas e de parâmetros hematológicos e bioquímicos.

2.3.1.1 Alterações clínicas

Distúrbios respiratórios: relatados por inúmeros pesquisadores em clones de bovinos e ovinos e atribuído pela maioria dos pesquisadores a possíveis alterações de conformação e funcionamento da glândula adrenal, baixos níveis de cortisol fetal e insuficiência de surfactantes pulmonares no nenato. Hill et al. (1999), ao estudarem as características clínicas e patológicas de bezerros e fetos transgênicos clonados, diagnosticaram hipertensão pulmonar neonatal em 2 de 5 fetos e em 3 de 8 bezerros, um deles morrendo aos 4 dias de vida, devido à insuficiência de surfactantes pulmonares, associada à hipertensão pulmonar e elevação da pressão venosa sistêmica. Observou-se edema de placenta em ambos os bezerros e em um dos dois fetos que apresentaram anomalias cárdio-pulmonares. Os pesquisadores sugeriram que estas anormalidades observadas nos bezerros e nos fetos teriam ocorrido no útero associadas às anomalias placentárias, tendo a clonagem e /ou as condições de cultivo embrionário contribuído para tal.

Deformidades flexurais e articulares: relatadas freqüentemente em bezerros clonados, podem acometer membros anteriores ou posteriores, serem unilaterais ou bilaterais e atingir tendões flexores ou extensores. Garry et al. em 1996, relataram este tipo de deformidade em 6 de 14 clones da raça Brangus. Todos eles com pesos entre 34 a 66 Kg ao nascimento.

Disfunções imunes: sugerem uma possível deficiência imunológica em clones ou ainda, falhas na eficiência da absorção de imunidade passiva colostrar. Garry et al. em 1996, relataram que 6 de 8 bezerros clonados de células embrionárias morreram devido à septicemia ou pneumonia.

Anomalias umbilicais com infecção e persistência do úraco: são comuns e estão associadas ao aumento na espessura do cordão umbilical.

Chavatte-Palmer et al. (2004), descreveram perdas neonatais significativas antes dos 6 meses afetando cerca de 30% dos clones desenvolvidos à termo. As causas de morte incluíram dificuldade respiratória, asfixia neonatal, desenvolvimento anormal dos rins e esteatose hepática. Estes pesquisadores acreditam que animais sobreviventes aparentemente normais possam portar enfermidades não diagnosticadas que podem vir a se desenvolver na vida adulta e que um animal clonado não deve ser considerado fisiologicamente normal antes dos 50 dias de vida.

Mayorka et al. (2005) necropsiaram na FMVZ/USP, dois fetos oriundos de clonagem a partir de células embrionárias (CE) e cinco, oriundos de células somáticas (CS). Nos animais CE as principais alterações encontradas foram: alterações hemolinfáticas, malformação do sistema nervoso central e malformação crânio-facial. Nos animais CS: alterações hemolinfáticas, cardiovasculares e respiratórias, malformação cardíaca e alteração renal. O estudo histológico dos órgãos linfóides revelou alteração estrutural caracterizada como "dismorfogênese", além de alterações inflamatórias e degenerativas secundárias em diversos órgãos. Os

pesquisadores apontaram como a causa mortis mais freqüente, o colapso cardíaco-respiratório.

2.3.1.2 Alterações hematológicas

Na França, Renard et al. (1999), relataram um caso de aplasia linfóide em um clone bovino oriundo de TNCS. Após seis semanas de desenvolvimento normal, o bezerro apresentou uma queda súbita na contagem de linfócitos e redução da taxa de hemoglobina, o que o levou ao óbito aos 51 dias de vida, com um quadro de anemia severa. A necropsia não revelou qualquer tipo de anormalidade, exceto atrofia do timo, e aplasia do baço e linfonodos.

Ainda na França, Chavatte-Palmer et al. (2002), avaliaram dentre outros parâmetros, as características hematológicas de bezerros produzidos por TNCS, e não evidenciaram diferenças importantes ao compararem esses parâmetros com os do grupo controle, composto por animais de FIV. No entanto, verificaram que o volume celular dos eritrócitos destes animais era significativamente maior ao nascimento ($p < 0,01$) do que no grupo controle. Segundo os pesquisadores, o Volume Corpuscular Médio (VCM) elevado, indicaria que a maturação hematológica não foi completa nestes animais.

Lanza et al. (2001) estudaram 24 clones de bovinos e descreveram hematologia, bioquímica e populações de linfócitos normais, entretanto o estudo não continha grupos comparativos.

Em 2007, Batchelder et al, compararam o quadro eritrocitário de 8 bezerros clonados, da raça Holandesa ($n=5$) e da raça Hereford ($n=3$), com o de 6 animais controle obtidos por transferência de embrião (TE), da raça Holandesa ($n=3$) e da

raça Hereford (n=3). Os pesquisadores concluíram que o número de hemácias foi menor no grupo de bezerras clonados do que nos animais obtidos por TE no momento do nascimento até a primeira hora de vida, sendo os valores semelhantes entre os grupos logo após esse período.

2.3.1.3 Alterações bioquímicas e hormonais

Wells et al. (2004) encontrou diferenças significativas em parâmetros hematológicos, indicadores de lesão muscular, função hepática, proteínas séricas e função renal em clones que sobreviveram até 2 anos de idade.

Alguns pesquisadores acreditam que hormônios estariam relacionados às anomalias perinatais relatadas em clones. Em geral, estes dados sugerem que mudanças inapropriadas ou insuficientes durante o desenvolvimento podem ser parcialmente responsáveis pelo crescimento exagerado e pelas complicações perinatais associadas com o processo de clonagem. Garry et al. (1996), encontraram concentrações mais baixas de tiroxina e triiodotirosina e mais altas de insulina em clones do que no grupo referência com até 10 minutos de vida e interpretaram esses achados como sendo um indício de distúrbio na regulação de energia intra-útero, que seria responsável tanto pelo tamanho elevado ao nascimento quanto pelos problemas de saúde pós-natais. Chavatte-Palmer et al. (2004), encontraram concentrações mais baixas de T4 e IGF-II e mais altas de leptina em clones do que no grupo controle.

2.4 ANEMIAS NEONATAIS

Entre os processos patológicos que comprometem a saúde dos bovinos, principalmente dos bezerros, destacam-se aqueles que em sua evolução determinam o aparecimento de quadros clínicos de anemia. De fato, a ocorrência de anemia tem sido registrada em bezerros, particularmente, no período neonatal (KANEKO; MILLES, 1970; BIRGEL, 1972; TENNANT et al., 1975; REECE, 1980; MCGILLARY et al., 1985; JAIN, 1986; BAXTER, 1996). Nos Estados Unidos, em estudos realizados sobre a ocorrência de anemia em bezerros das raças Jersey e Holandesa demonstrou-se que 15,8% dos animais avaliados apresentavam essa deficiência da crase sangüínea (TENNANT et al., 1975). Muitas dessas observações foram feitas durante estudos de hematologia veterinária desenvolvidos em bezerros neonatos e que objetivaram tanto estabelecer, como avaliar as variações fisiológicas do quadro hemático nos primeiros momentos de vida. Nestes casos, paralelamente se evidenciou uma significativa incidência de anemia em bezerros no momento do nascimento e antes da ingestão do colostro, mesmo em bezerros gerados por vacas saudas (BIRGEL, 1972; TENNANT et al., 1975).

Na Alemanha, Birgel (1972) estudou o quadro eritrocitário de 454 amostras de sangue colhidas de bezerras da raça Holandesa preta e branca durante os primeiros 14 dias de vida, e entre vários fatores de variabilidade, avaliou a influência do desenvolvimento etário sobre o constituinte do eritrograma, analisando 200 amostras de sangue proveniente de animais saudas, verificando que as variações mais significativas eram observadas no primeiro dia de vida, ocorrendo a seguir, diminuição nos valores médios do número de hemácias, do volume globular, da taxa de hemoglobina e do volume corpuscular médio. O pesquisador ainda demonstrou

em 87 amostras de bezerros neonatos anêmicos que essa condição patológica poderia ser de origem ferropriva. Outro fato digno de realce foi a verificação de que as bezerras nascidas com o auxílio obstétrico (tração ou cesariana) apresentavam quadro eritrocitário com os valores médios de menor magnitude.

A anemia dos bezerros apresenta etiologia plurifatorial, no entanto, a deficiência de ferro foi considerada a causa determinante mais freqüentemente observada (BIRGEL, 1972; TENNANT et al., 1975). Tal fato poderia desenvolver-se prematuramente, durante o período de desenvolvimento fetal, pelo impedimento de transferência de íons de ferro da mãe para o feto (TENNANT et al., 1975). Uma segunda possibilidade da origem destas anemias, em bezerros, poderia estar relacionada à hemólise causada por mecanismos hereditários. Nessas anemias hereditárias, alterações de origem gênica, por mutações ou deleções, induziriam a produção de proteínas diferentes, determinando hemoglobinopatias, eritroenzimopatias e distúrbios proteicos da membrana dos eritrócitos. Tais situações determinariam um encurtamento da vida média das hemácias, configurando uma anemia hemolítica, ou seja, uma hematopatia causada pela destruição prematura das hemácias (BARRETO, 1992).

2.5 METABOLISMO DO FERRO

A contagem total de hemácias, a determinação do hematócrito, da concentração da hemoglobina e dos índices hematimétricos (Volume corpuscular médio - VCM, Hemoglobina corpuscular média - HCM Concentração hemoglobínica corpuscular média - CHCM) são os testes hematológicos mais indicados para a avaliação do metabolismo do ferro (SMITH, 1997).

Os índices eritrocitários geralmente estão normais durante o estágio inicial da deficiência, porém estágios crônicos caracterizam-se pela presença de anemia microcítica e hipocrômica (HARVEY, 2000).

De modo geral, a deficiência de ferro não é comum em ruminantes. Por esta razão existem poucas informações a respeito do metabolismo e do requerimento de ferro nestes animais. Entretanto, o ferro é de fundamental importância na dieta de animais jovens durante a fase de crescimento e a deficiência deste elemento pode ocorrer em bezerros alimentados exclusivamente com leite (HIDIROGLOU, 1980).

O ferro pode ser determinado pela espectrofotometria de absorção atômica ou por métodos colorimétricos. Na determinação colorimétrica, o ferro é separado da transferrina pela diminuição do pH e depois, reduzido à sua forma ferrosa (SMITH, 1997). Usualmente a transferrina total é medida indiretamente pela concentração de ferro depois de ter sido saturada com este elemento. Quando a transferrina é saturada com uma concentração conhecida de ferro, a quantidade de ferro é chamada de Capacidade Total de Ligação do Ferro (CTLF). Pelo fato de a transferrina poder ligar uma maior quantidade de ferro do que a normalmente presente no soro, a CTLF é maior do que o ferro sérico e a diferença entre eles é denominada de Capacidade Latente de Ligação do Ferro (CLLF). Dessa forma, o ferro pode ser expresso como uma porcentagem da CTLF, sendo reportado como Índice de Saturação de Transferrina (IST) (WINKELMAN, 1974; SWENSON, 1996).

O ferro sérico e a capacidade de ligação do ferro normais para a maioria dos animais domésticos é de 100 e 300 g/dL, respectivamente (SMITH, 1997).

2.6 TIPOS DE HEMOGLOBINAS

A hemoglobina é uma proteína conjugada, composta por uma proteína simples, a globina, e quatro núcleos prostéticos do tipo porfirina, o *heme*. A produção da hemoglobina (Hb) ocorre no interior dos eritroblastos da medula óssea (NAOUM, 1997). No entanto, muitas patologias resultam em síntese química anormal de hemoglobina, com capacidade de ligação ao oxigênio diminuída.

A realização da eletroforese de hemoglobinas permite a identificação das diferentes frações normais e patológicas da hemoglobina (NAOUM, 1997; ALVES et al., 2003) e permite sua quantificação através da densitometria.

Em animais têm-se verificado correlação direta entre o tipo de hemoglobina com resistência ao parasitismo por nematódeos gastrintestinais (ALTAIF; DARGIE, 1978; PRESTON; ALLONBY, 1979; BUVANENDRAN et al., 1981), intensidade da resposta imune (CUPERLOVIC et al., 1978) e parâmetros produtivos como eficiência reprodutiva e produção de lã e leite (DALLY et al., 1980). Além disto, a determinação da variante de hemoglobina pode ser um dos parâmetros genéticos empregados em estudos de identificação de indivíduos e de parentesco (SMITH, 1997). Neste sentido, futuramente estas variantes poderiam ser utilizadas como um dos parâmetros auxiliares para a seleção de novos animais, servindo como um dos marcadores genéticos ligados a aspectos de interesse produtivo. No entanto, ainda não foi comprovado se a determinação da variante de hemoglobina realmente pode servir como um marcador genético eficaz.

Em 1955, Cabannes e Serani realizaram pesquisa com o objetivo de estudar o fenótipo da Hb de bovinos e pela técnica de eletroforese em papel, determinaram três fenótipos em gado nativo da Argélia: a Hb A com um componente de migração

lenta; Hb B, com um componente de migração rápida e a Hb AB apresentando os dois tipos de componentes. Esses fenótipos seriam determinados por dois genes alelos codominantes: HbAA e HbBB.

Mais tarde, durante quase três décadas, outros autores puderam identificar os mesmos fenótipos ao estudarem diversas raças de bovinos de leite e de corte em animais *Bos taurus* e *Bos indicus* distribuídos por diversas partes do mundo. (GRIMES et al., 1957; SALISBURY; SHREFFLER, 1957; BANGHAM; BLUMERG, 1958; LEHMANN; ROLLISON, 1958; LEHMANN; ROSS, 1961; TEIXEIRA, 1980; QUEVAL; PETIT, 1982; TONHATI et al., 1992). Fenótipos menos comuns foram relatados por alguns autores em raças específicas, tais como a Hb C, detectada em raças nativas da Turquia (ÖZBEYAZ, 1991), Hb D-*zambia* (CARR, 1965) e Hb G (BRAEND, 1971) em rebanhos criados na África.

As alterações das hemoglobinas envolvem a síntese estrutural e quantitativa dos aminoácidos que compõem as diferentes cadeias de globinas, bem como as moléculas e enzimas que participam da formação do grupo *heme*. Alterações de genes responsáveis pelo sequenciamento e estrutura de cada tipo de polipeptídio, seriam responsáveis pela produção de moléculas de Hb com características bioquímicas alteradas, porém sem afetar a sua taxa de síntese, sendo denominadas hemoglobinas variantes (NAOUM, 1997).

3 MATERIAL E MÉTODOS

No período de fevereiro de 2006 a julho de 2007 foram colhidas 260 amostras de sangue e soro sanguíneo de 20 bezerros durante o primeiro mês de vida, sendo os animais divididos em quatro grupos experimentais: 12 bezerros obtidos por meio da técnica de clonagem, 4 bezerros obtidos por meio de fertilização *in vitro* e 4 bezerros concebidos por monta natural. Os animais originados a partir da técnica de clonagem foram produzidos com finalidade comercial por dois laboratórios de produção *in vitro* de embriões bovinos e portanto os procedimentos utilizados para a obtenção dos animais variou de acordo com o laboratório. Desta forma os bezerros provenientes da técnica de clonagem foram divididos em dois grupos, sendo 5 bezerros produzidos pela metodologia A (Grupo A) e 7 pela metodologia B (Grupo B). No quadro 1 estão apresentados a constituição dos grupos experimentais utilizados.

As amostras coletadas foram submetidas à determinação do eritrograma, determinação dos tipos de hemoglobinas, ferro sérico (FS), capacidade total de ligação do ferro (CTLF) e índice de saturação de transferrina (IST).

Momento da colheita das amostras	Clonagem Laboratório	Clonagem Laboratório	Fertilização <i>in vitro</i> (FIV)	Monta Natural (MN)
	A	B		
	N	N	N	N
1º dia de vida				
Imediatamente após o nascimento	5	7	4	4
1º dia de vida				
12 horas após o nascimento	5	7	4	4
1º dia de vida				
24 horas após o nascimento	5	7	4	4
2º dia de vida				
48 horas após o nascimento	5	7	4	4
3º dia de vida				
72 horas após o nascimento	5	7	4	4
4º dia de vida				
96 horas após o nascimento	5	7	4	4
5º dia de vida				
120 horas após o nascimento	5	7	4	4
7º dia de vida				
168 horas após o nascimento	5	7	4	4
10º dia de vida				
240 horas após o nascimento	5	7	4	4
15º dia de vida				
360 horas após o nascimento	5	7	4	4
20º dia de vida				
480 horas após o nascimento	5	7	4	4
30º dia de vida				
720 horas após o nascimento	5	7	4	4

N - Número de animais utilizados

Quadro 1 - Constituição dos grupos experimentais para avaliar o quadro eritrocitário, a dinâmica dos tipos de hemoglobinas e o metabolismo de ferro de bezerras da raça Nelore originados por meio da técnica de transferência nuclear de células somáticas - São Paulo - 2008

3.1 COLHEITA DE SANGUE

As amostras de sangue para a determinação do quadro eritrocitário, da dinâmica do tipo de hemoglobina e do metabolismo de ferro foram colhidas por punção da veia jugular externa, utilizando-se Sistema Vacutainer®.

As amostras para hematimetria e determinação dos tipos de hemoglobinas foram colhidas em tubos de vidro siliconizados contendo 0,05 mL de uma solução

aquosa de etilenodiamino-tetracética-dissódica (EDTA) a 10 % e com vácuo suficiente para aspirar 5 mL de sangue (Sistema Vacutainer®) sendo mantidas refrigeradas até o momento da realização dos exames, sempre concluídos antes de decorridas 24 horas de conservação. Para a determinação do metabolismo do ferro foram colhidas amostras em tubos de vidro siliconizados e sem anticoagulantes, mantidas à temperatura ambiente para facilitar a retração do coágulo, e a seguir centrifugadas, com força real de centrifugação igual a 1000 G, durante 15 minutos, para a ocorrência de uma adequada sinérese do coágulo, sendo os soros sangüíneos separados por aspiração e mantidos e conservados em freezer a menos 20°C, até a realização das provas.

3.2 DETERMINAÇÃO DO ERITROGRAMA

A avaliação do eritrograma será realizada pela contagem do número de hemácias, determinação do volume globular, dosagem de hemoglobina e cálculo dos índices hematimétricos absolutos, descritos a seguir.

3.2.1 Contagem do Número de Hemácias

A contagem do número de hemácias foi realizada em Câmara de Neubauer modificada, sendo as amostras de sangue diluídas em líquido de Gower, na proporção de 1:200, em pipeta hematimétrica específica para hemácias. Com esta suspensão, após a homogeneização e eliminação de um terço do conteúdo da pipeta, foi preenchida a Câmara de Neubauer modificada, efetuando-se a contagem das hemácias sobre uma área de 1/5 de mm do hemacitômetro. O número de

células contadas, a seguir, foi multiplicado por 10.000 e, desta forma, obteve-se o número de hemácias por mm^3 de sangue. As contagens foram efetuadas de acordo com as recomendações de Birgel (1982).

3.2.2 Determinação do Volume Globular

A técnica utilizada para a determinação do volume globular, conforme recomendações de Birgel (1982) foi a do microhematócrito, usando-se tubos capilares de diâmetros homogêneos com 75 mm de comprimento e 1 mm de diâmetro, preenchidos com sangue até dois terços de seu volume e após o fechamento a fogo de uma de suas extremidades, centrifugados em microcentrífuga durante 15 minutos, com aproximadamente 11.000 rpm (equivalente a uma força real de centrifugação igual a 13.000 G). A leitura da fração contendo os glóbulos sedimentados foi feita em cartão especial para avaliação do microhematócrito, sendo o resultado expresso em porcentagem.

3.2.3 Dosagem de Hemoglobina

A determinação do teor de hemoglobina no sangue foi feita por método que transforma a hemoglobina em cianometahemoglobina, com leitura da coloração desenvolvida em espectrofotômetro, utilizando comprimento de onda igual a 540 nm. Nas determinações, as amostras de sangue, após homogeneização, foram diluídas na proporção de 1:251, em líquido de Drabkin. Os resultados, expressos em grama por decilitro, foram obtidos comparando-se os resultados das provas com aqueles

obtidos em padrão contendo 10 g/dL. As dosagens foram realizadas obedecendo às recomendações de Birgel (1982).

3.2.4 Cálculo dos Índices Hematimétricos Absolutos

Por meio da correlação dos dados obtidos na contagem das hemácias, na determinação do volume globular e nas taxas de hemoglobina foram calculados os índices hematimétricos absolutos: volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). As técnicas empregadas na determinação do eritrograma seguiram as recomendações de Birgel (1982).

3.3 DETERMINAÇÃO DOS TIPOS DE HEMOGLOBINAS POR MEIO DE ELETROFORESE ALCALINA EM ACETATO DE CELULOSE

Os hemolisados destinados à caracterização das hemoglobinas de bovinos foram obtidos por lavagens do sangue em solução hipotônica e congelamento. Às amostras de sangue com anti-coagulante (2-3 mL) foram adicionadas iguais quantidades de solução salina a 0,85%, sendo a seguir homogenizadas e centrifugadas a 1.500 G, durante 5 minutos. A seguir fora desprezada a fração sobrenadante. Esta manobra foi repetida por três vezes para então ser adicionada à metade do volume de água destilada com a finalidade de provocar a hemólise, sendo a amostra em seguida, congeladas e descongeladas por três vezes. Finalmente, foi adicionado igual volume de clorofórmio ao hemolizado, sendo a

amostra centrifugada a 2.500 G, durante 20 minutos, e então, armazenada em congelador a -80° C até o momento da realização das técnicas de eletroforese.

A determinação dos tipos de hemoglobinas foi realizada por meio de eletroforese alcalina em acetato de celulose, segundo técnica padronizada por BirgeL et al. (2000) e Ayres et al. (2000). Nesta técnica, utiliza-se para a migração eletroforética das hemoglobinas, uma corrente de 240 volts durante 20 minutos. Após a corrida para separação das frações de hemoglobina, as fitas são coradas com o Ponceau "S" (corante de Ponceau em solução a 0,2% em ácido tricloroacético a 3%) durante 10 minutos. A descoloração das fitas coradas é obtida por sua imersão nas soluções descorantes e desidratantes durante 30 minutos, com freqüente e moderada agitação do recipiente. A diafanização das fitas é realizada a seguir com o uso de solução diafinizadora, sendo então estendidas sobre placas de vidro e mantidas em estufa graduada entre 60° e 80° C, durante 5 a 7 minutos, até sua completa transparentização. A leitura e interpretação das fitas coradas foram realizadas por densitometria, sendo os resultados comparados com corridas realizadas com padrões conhecidos de hemoglobina.

3.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR SÉRICO DE FERRO (FS), CAPACIDADE TOTAL DE LIGAÇÃO DO FERRO À TRANSFERRINA (CTLF) E ÍNDICE DE SATURAÇÃO DA TRANSFERRINA (IST)

A determinação dos teores séricos de ferro e capacidade total de ligação do ferro à transferrina (CTLF) foi realizada por meio de método colorimétrico, sendo a leitura da coloração da reação obtida pelo analisador bioquímico automático Liasys®. Nesta determinação, o pH ácido do reagente tampão libera o ferro sérico que está

ligado à transferrina sob a forma férrica. Há liberação do ferro férrico que é, então, reduzido para a forma ferrosa pela hidroxilamina. O ferro na forma ferrosa reage com o reativo Ferene[®] formando um complexo que desenvolve uma cor. A absorbância da coloração desse complexo é lida, utilizando-se comprimento de onda igual a 595 nm, sendo o resultado proporcional à concentração sérica de ferro na amostra. A presença de tiuréia na solução tampão suprime qualquer interferência do ferro.

Em pH alcalino os receptores não ocupados de transferrina podem ligar-se com o ferro na forma ferrosa. A adição de ferro não ligado à transferrina neste pH, reage com o Ferene[®] e forma uma cor. A absorbância da coloração desse complexo ferro-Ferene[®] é lida utilizando-se comprimento de onda igual a 595 nm, sendo o resultado inversamente proporcional à quantidade de receptores não ocupados. A capacidade total de ligação do ferro a transferrina (CTLF) é a soma da concentração sérica de ferro e a quantidade adicional de ferro necessária para saturar o sítio não ligado de transferrina.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para calcular os valores da média aritmética, do desvio padrão, do erro padrão da média e do coeficiente de variação dos resultados nesta pesquisa, bem como para realizar os testes estatísticos, comparando as médias obtidas nos vários grupos experimentais, foi utilizado o programa de computador SAS - Statistical Analysis System (SAS, 1985).

4 RESULTADOS

Com o objetivo de facilitar a visualização e interpretação dos resultados obtidos na presente dissertação sobre hematologia de bezerros da raça Nelore, originados por meio da técnica de transferência nuclear de células somáticas (TNCS) - Clonagem, optou-se por sua apresentação em tabelas e gráficos, sendo os 20 bezerros utilizados, subdivididos segundo os grupos experimentais em: bezerros obtidos por meio da técnica de TNCS pelos Laboratórios A (Clones A), bezerros obtidos por meio da técnica de TNCS pelos Laboratórios B (Clones B), bezerros obtidos por meio de fertilização *in vitro* (FIV) e bezerros obtidos por monta natural (MN).

Nas tabelas de números 1 a 6 e gráficos de número 1 a 6 estão apresentados a média e o desvio padrão, bem como a análise estatística dos elementos que constituem o eritrograma (número de hemácias, concentração de hemoglobina, determinação do volume globular e cálculo dos índices hematimétricos absolutos: VCM, HCM e CHCM)

Nas tabelas de números 7 a 9 e gráficos de número 7 a 9 estão apresentados a média e o desvio padrão, bem como a análise estatística dos parâmetros utilizados para avaliação do metabolismo de ferro (teores séricos de ferro, valores da capacidade total de ligação do ferro – CTLF e índice de saturação da transferrina - IST).

Nas tabelas de números 10 a 12 e gráficos de número 10 a 12 estão apresentados a média e o desvio padrão da avaliação das características das hemoglobinas (hemoglobina do Tipo A - Hb A, do Tipo B - Hb B e do Tipo Fetal - Hb F) e a dinâmica das Hemoglobinas do Tipo Fetal.

Nas tabelas de números 13 a 72, expostas nos anexos, foram apresentados os resultados individuais do quadro eritrocitário, do metabolismo do ferro e da dinâmica dos tipos de hemoglobina, dos animais de todos os grupos experimentais, durante os primeiros 30 dias de vida.

Conforme apresentado nas tabelas de resultados individuais (tabelas 13 a 17, 24, 25, 28, 31 e 32) a ocorrência de anemia de grau moderado a grave, do tipo normocítico e normocrômico, foi observada em 100 % dos bezerros clonados pelo Laboratório A (clone 6.5, clone 6.6, clone 7.1, clone 7.3 e clone 8.2), enquanto que nos bezerros clonados pelo Laboratório B (clone M8) foi igual a 14,2 %, nos animais obtidos por fertilização *in vitro* (FIV 1 e FIV 4) foi de 50 % e nos animais gerados por monta natural (MN 3 e MN 4) foi de 50 %.

A avaliação do eritrograma dos bezerros clonados pelo Laboratório A evidenciou que a anemia instalou-se gradualmente a partir das 12 horas de vida atingindo ao final da primeira semana, a sua intensidade máxima. Nesse período o número de hemácias observados imediatamente após o nascimento diminuíram de $6,31 \pm 0,33 \times 10^6$ hemácias/mm³ para $4,33 \pm 0,39 \times 10^6$ hemácias /mm³ em amostras colhidas 7 dias após o nascimento (Tabela 1 e Gráfico 1), enquanto para o volume globular a diminuição foi de $35,8 \pm 3,96$ % para $23,00 \pm 4,06$ % (Tabela 2 e Gráfico 2) e para os teores de hemoglobina de $11,07 \pm 1,16$ g/dL para $7,25 \pm 1,35$ g/dL (Tabela 3 e Gráfico 3). A partir do 15º dia de vida observou-se uma gradativa recuperação dos valores do eritrograma, sendo que no 30º dia de vida foram observados os seguintes valores médios para essas variáveis: hemácias - $6,28 \pm 1,12$ células $\times 10^6$ /mm³; volume globular - $24,4 \pm 2,88$ % e taxa de hemoglobina - $7,95 \pm 1,15$ g/dL.

A análise dos resultados obtidos para os índices hematimétricos absolutos evidenciou que, durante o período estudado, os valores de VCM, HCM e CHCM oscilaram sem que diferenças estatísticas fossem observadas (Tabelas 4 a 6 e Gráficos 4 a 6).

A análise dos resultados obtidos para o metabolismo do ferro nos clones do Laboratório A (Tabelas 7 a 9 e Gráficos 7 a 9) indicam ser a anemia de origem ferropriva, pois nos animais clonados pelo Laboratório A foi evidenciado uma significativa diminuição dos teores séricos de ferro associada à diminuição do índice de saturação da transferrina, enquanto os valores da Capacidade Total de Ligação do Ferro não sofreram influência durante o período. Os teores séricos de ferro, colhidos imediatamente após o nascimento diminuíram de $142,08 \pm 74,02 \mu\text{g/dL}$ para $47,35 \pm 38,15 \mu\text{g/dL}$ em amostras colhidas 7 dias após o nascimento (Tabela 7 e Gráfico 7), enquanto a diminuição do índice de saturação da transferrina - IST foi de $31,24 \pm 16,20 \%$ para $9,64 \pm 5,76 \%$ no mesmo período (Tabela 9 e Gráfico 9).

Ao se analisar os teores séricos de ferro clones do Laboratório B e nos bezerros fertilização *in vitro* verificou-se que os seus valores eram menores do que os observados nos bezerros de monta natural. Considerando-se a média dos resultados obtidos nos trinta dias que os animais foram examinados, os menores teores séricos de ferro foram observados nos clones obtidos pelo Laboratório A ($81,18 \mu\text{g/dL}$), seguido dos clones obtidos pelo Laboratório B ($88,14 \mu\text{g/dL}$) e dos obtidos por fertilização *in vitro* ($111,7 \mu\text{g/dL}$), sendo que os maiores valores foram encontrados nos animais nascidos por monta natural ($157,7 \mu\text{g/dL}$).

Durante o estudo dos tipos de hemoglobinas, utilizando-se técnica de eletroforese foram identificados três fenótipos de Hemoblogina adulta (Hb-A; Hb-B e Hb-AB) e a presença de hemoglobina fetal (Hb-F), não sendo observadas anomalias

que pudessem sugerir a ocorrência de hemoglobinopatias hereditárias e/ ou congênitas.

Conforme apresentado nas tabelas 11 e 12 e gráficos 11 e 12, verificou-se que as taxas de Hb-A, nos clones com fenótipo Hb-AB e Hb-A, permaneceram estáveis durante todo o período experimental, enquanto nos bezerros obtidos por fertilização *in vitro* ou monta natural com os mesmos fenótipos (Hb-A e Hb-AB) observou-se a partir de 120 horas de vida um gradativo aumento das taxas de Hb-A.

Durante a avaliação da dinâmica da hemoglobina do tipo fetal (Hb-F) no primeiro mês de vida observou-se, que todos os grupos de animais apresentaram comportamento similar, caracterizado por sua diminuição com o desenvolvimento etário (Tabela 12 e Gráfico 12).

Tabela 1: Médias e desvio padrão do número de hemácias em bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Momento da colheita das amostras	Hemácias ($\times 10^6/\text{mm}^3$)											
	Clone Laboratório A				Clone Laboratório B				Fertilização in Vitro			
1º dia de vida												
Imediatamente após o nascimento	6,31	±	0,33	A	5,44	±	0,92	A	6,60	±	0,90	A
1º dia de vida												
6 horas após o nascimento	5,90	±	0,35	A	5,48	±	0,90	A	6,30	±	1,33	A
1º dia de vida												
12 horas após o nascimento	5,27	±	0,54	A	5,19	±	1,47	A	6,05	±	1,89	A
1º dia de vida												
24 horas após o nascimento	4,51	±	0,79	A	4,82	±	0,94	A	5,99	±	1,74	A
2º dia de vida												
48 horas após o nascimento	4,73	±	0,66	A	5,30	±	1,08	A	5,91	±	1,66	A
3º dia de vida												
72 horas após o nascimento	4,75	±	0,87	A	5,54	±	1,01	A	5,99	±	1,54	A
4º dia de vida												
96 horas após o nascimento	4,49	±	0,45	A	5,44	±	1,33	A	5,84	±	1,60	A
5º dia de vida												
120 horas após o nascimento	4,26	±	0,73	A	5,46	±	0,98	A	6,00	±	1,76	A
7º dia de vida												
168 horas após o nascimento	4,33	±	0,39	A	5,38	±	1,32	A	6,23	±	0,76	A
10º dia de vida												
240 horas após o nascimento	4,99	±	0,85	B	5,88	±	0,87	A	6,73	±	1,10	A
15º dia de vida												
360 horas após o nascimento	4,67	±	0,36	B	6,34	±	1,29	A	7,26	±	0,21	A
20º dia de vida												
480 horas após o nascimento	5,22	±	0,76	B	6,33	±	1,09	A	7,71	±	0,23	A
30º dia de vida												
720 horas após o nascimento	6,28	±	1,12	B	7,16	±	0,87	A	7,90	±	0,58	A

GRÁFICO 1: Número de hemácias por milímetros cúbicos de sangue, de bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Tabela 2: Médias e desvio padrão do volume globular em bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Momento da colheita das amostras	Volume Globular (%)															
	Clone Laboratório A				Clone Laboratório B				Fertilização in Vitro			Monta Natural				
1º dia de vida																
Imediatamente após o nascimento	35,80	±	3,96	A	35,43	±	7,11	A	37,50	±	6,40	A	34,75	±	7,27	A
1º dia de vida																
6 horas após o nascimento	30,80	±	4,92	A	32,86	±	8,05	A	35,75	±	8,42	A	33,75	±	6,85	A
1º dia de vida																
12 horas após o nascimento	27,60	±	4,39	A	31,71	±	8,71	A	33,50	±	10,47	A	32,00	±	6,27	A
1º dia de vida																
24 horas após o nascimento	26,00	±	7,31	A	32,71	±	8,92	A	32,75	±	10,87	A	30,50	±	5,74	A
2º dia de vida																
48 horas após o nascimento	25,40	±	5,22	A	32,29	±	8,62	A	34,50	±	8,74	A	30,50	±	6,86	A
3º dia de vida																
72 horas após o nascimento	25,00	±	5,48	A	30,71	±	7,97	A	34,25	±	7,37	A	30,00	±	6,53	A
4º dia de vida																
96 horas após o nascimento	24,20	±	5,26	A	30,71	±	7,99	A	32,50	±	8,10	A	29,50	±	5,57	A
5º dia de vida																
120 horas após o nascimento	23,60	±	5,68	A	30,14	±	8,07	A	31,75	±	7,80	A	28,75	±	4,99	A
7º dia de vida																
168 horas após o nascimento	23,00	±	4,06	A	30,29	±	8,40	A	33,25	±	6,08	A	30,50	±	6,45	A
10º dia de vida																
240 horas após o nascimento	23,40	±	4,62	B	32,86	±	7,13	A	34,25	±	6,08	A	30,50	±	6,35	AB
15º dia de vida																
360 horas após o nascimento	22,20	±	4,21	B	36,86	±	7,22	A	35,50	±	3,70	A	32,25	±	4,50	A
20º dia de vida																
480 horas após o nascimento	22,60	±	3,91	B	35,00	±	5,00	A	37,50	±	1,73	A	37,25	±	3,40	A
30º dia de vida																
720 horas após o nascimento	24,40	±	2,88	B	36,43	±	5,19	A	39,50	±	2,65	A	36,75	±	2,87	A

GRÁFICO 2: Volume globular em percentagem, de bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Tabela 3: Médias e desvio padrão dos teores de hemoglobina em bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Momento da colheita das amostras	Hemoglobina (g/dl)											
	Clone Laboratório A				Clone Laboratório B				Fertilização in Vitro			
1º dia de vida												
Imediatamente após o nascimento	11,07	±	1,16	A	10,93	±	2,52	A	11,49	±	1,93	A
1º dia de vida												
6 horas após o nascimento	9,70	±	1,49	A	10,39	±	2,66	A	11,44	±	2,89	A
1º dia de vida												
12 horas após o nascimento	8,99	±	1,39	A	9,98	±	2,72	A	10,30	±	3,66	A
1º dia de vida												
24 horas após o nascimento	8,31	±	2,23	A	10,25	±	2,75	A	10,23	±	3,19	A
2º dia de vida												
48 horas após o nascimento	8,24	±	1,55	A	10,55	±	2,94	A	10,98	±	3,08	A
3º dia de vida												
72 horas após o nascimento	8,24	±	1,72	A	10,29	±	2,61	A	10,62	±	2,92	A
4º dia de vida												
96 horas após o nascimento	7,77	±	1,81	A	9,84	±	2,83	A	10,39	±	2,58	A
5º dia de vida												
120 horas após o nascimento	7,70	±	2,03	A	10,07	±	2,63	A	10,13	±	2,53	A
7º dia de vida												
168 horas após o nascimento	7,25	±	1,35	B	9,72	±	2,68	A	10,69	±	2,07	A
10º dia de vida												
240 horas após o nascimento	7,51	±	1,38	B	10,41	±	2,35	A	10,98	±	1,87	A
15º dia de vida												
360 horas após o nascimento	6,92	±	1,18	B	11,27	±	2,42	A	11,30	±	1,03	A
20º dia de vida												
480 horas após o nascimento	7,16	±	1,44	B	10,66	±	1,71	A	12,04	±	0,54	A
30º dia de vida												
720 horas após o nascimento	7,95	±	1,15	B	10,99	±	1,60	A	11,97	±	1,02	A

GRÁFICO 3: Valores de hemoglobinas em gramas por decilitro de sangue, de bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Tabela 4: Médias e desvio padrão do volume corpuscular médio (VCM) em bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Montagem Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Momento da colheita das amostras	VCM (μ^3)															
	Clone Laboratório A				Clone Laboratório B				Fertilização in Vitro				Monta Natural			
1º dia de vida																
Imediatamente após o nascimento	56,83	±	6,48	A	65,30	±	9,64	A	56,64	±	2,84	A	48,52	±	9,97	A
1º dia de vida																
6 horas após o nascimento	52,19	±	7,64	A	59,50	±	8,04	A	56,59	±	2,73	A	52,68	±	2,49	A
1º dia de vida																
12 horas após o nascimento	52,06	±	7,25	A	61,49	±	10,83	A	55,37	±	3,70	A	56,57	±	8,45	A
1º dia de vida																
24 horas após o nascimento	57,10	±	8,44	B	67,32	±	10,73	A	54,23	±	2,92	AB	49,79	±	3,88	B
2º dia de vida																
48 horas após o nascimento	53,49	±	6,23	A	60,69	±	10,24	A	59,20	±	6,77	A	53,77	±	6,06	A
3º dia de vida																
72 horas após o nascimento	52,92	±	8,22	A	55,38	±	10,54	A	57,70	±	3,79	A	48,92	±	6,01	A
4º dia de vida																
96 horas após o nascimento	53,68	±	8,14	A	56,82	±	9,45	A	56,01	±	2,63	A	51,03	±	5,66	A
5º dia de vida																
120 horas após o nascimento	54,99	±	4,43	A	54,96	±	9,62	A	53,47	±	3,11	A	46,25	±	3,19	A
7º dia de vida																
168 horas após o nascimento	52,89	±	5,24	A	56,85	±	11,03	A	53,08	±	3,87	A	49,73	±	4,92	A
10º dia de vida																
240 horas após o nascimento	47,15	±	7,70	A	55,65	±	6,28	A	50,89	±	3,57	A	47,15	±	2,00	A
15º dia de vida																
360 horas após o nascimento	45,66	±	4,92	A	59,01	±	10,97	A	49,00	±	6,12	A	46,41	±	8,00	A
20º dia de vida																
480 horas após o nascimento	44,02	±	4,54	A	55,75	±	5,15	A	48,69	±	2,22	A	45,76	±	6,05	A
30º dia de vida																
720 horas após o nascimento	39,62	±	4,25	A	50,94	±	4,94	A	50,14	±	4,17	A	42,67	±	6,53	A

GRÁFICO 4: Valores de Volume Corpuscular Médio em micras cúbica de sangue, de bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Tabela 5: Médias e desvio padrão do hemoglobina corpuscular média (HCM) em bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Momento da colheita das amostras	HCM (pg)															
	Clone Laboratório A				Clone Laboratório B				Fertilização in Vitro				Monta Natural			
1º dia de vida				A				A				A				A
Imediatamente após o nascimento	17,57	±	1,83		20,11	±	3,45		17,35	±	0,76		14,58	±	2,72	
1º dia de vida				A				A				A				A
6 horas após o nascimento	16,43	±	2,23		18,80	±	3,02		18,11	±	1,70		16,92	±	1,52	
1º dia de vida				A				A				A				A
12 horas após o nascimento	17,07	±	1,86		19,35	±	3,38		16,82	±	0,98		17,47	±	2,48	
1º dia de vida				AB				A				AB				B
24 horas após o nascimento	18,27	±	2,46		21,15	±	3,42		17,01	±	0,40		15,42	±	1,41	
2º dia de vida				A				A				A				A
48 horas após o nascimento	17,34	±	1,48		19,76	±	3,34		18,66	±	1,29		16,53	±	2,02	
3º dia de vida				A				A				A				A
72 horas após o nascimento	17,43	±	2,33		18,61	±	3,83		17,67	±	0,79		15,46	±	2,12	
4º dia de vida				A				A				A				A
96 horas após o nascimento	17,20	±	2,74		18,08	±	3,36		17,93	±	1,10		15,85	±	2,18	
5º dia de vida				A				A				A				A
120 horas após o nascimento	17,91	±	2,04		18,44	±	3,72		17,05	±	1,30		14,87	±	1,55	
7º dia de vida				A				A				A				A
168 horas após o nascimento	16,65	±	1,76		18,32	±	3,94		17,05	±	1,47		15,58	±	1,97	
10º dia de vida				A				A				A				A
240 horas após o nascimento	15,16	±	2,45		17,63	±	2,17		16,31	±	0,79		14,73	±	0,76	
15º dia de vida				A				A				A				A
360 horas após o nascimento	14,76	±	1,91		17,93	±	3,14		15,59	±	1,72		15,31	±	3,44	
20º dia de vida				A				A				A				A
480 horas após o nascimento	13,67	±	1,69		16,97	±	1,98		15,63	±	0,70		14,70	±	2,19	
30º dia de vida				A				A				A				A
720 horas após o nascimento	12,79	±	1,67		15,25	±	1,34		15,21	±	1,69		13,51	±	2,56

GRÁFICO 5: Valores de volume corpuscular médio em picrograma de sangue, de bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Tabela 6: Médias e desvio padrão do concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Momento da colheita das amostras	CHCM (%)											
	Clone Laboratório A				Clone Laboratório B				Fertilização in Vitro			
1º dia de vida												
Imediatamente após o nascimento	30,95	±	0,75	A	30,72	±	1,00	A	30,64	±	0,48	A
1º dia de vida												
6 horas após o nascimento	31,94	±	1,61	A	31,52	±	1,52	A	31,95	±	1,50	A
1º dia de vida												
12 horas após o nascimento	32,61	±	1,23	A	31,48	±	0,57	A	30,44	±	1,97	A
1º dia de vida												
24 horas após o nascimento	32,03	±	0,42	A	31,44	±	1,49	A	31,41	±	1,17	A
2º dia de vida												
48 horas após o nascimento	32,51	±	1,11	A	32,55	±	1,81	A	31,64	±	1,53	A
3º dia de vida												
72 horas após o nascimento	33,03	±	1,13	A	33,54	±	2,37	A	30,75	±	2,81	A
4º dia de vida												
96 horas após o nascimento	32,04	±	0,96	A	31,87	±	3,57	A	32,01	±	1,03	A
5º dia de vida												
120 horas após o nascimento	32,50	±	1,30	A	33,47	±	2,47	A	31,89	±	1,27	A
7º dia de vida												
168 horas após o nascimento	31,47	±	0,53	A	32,13	±	1,16	A	32,10	±	0,68	A
10º dia de vida												
240 horas após o nascimento	32,16	±	0,86	A	31,66	±	1,35	A	32,10	±	1,15	A
15º dia de vida												
360 horas após o nascimento	32,30	±	2,03	A	30,49	±	1,76	A	31,88	±	0,77	A
20º dia de vida												
480 horas após o nascimento	31,01	±	0,92	A	30,39	±	0,99	A	32,10	±	0,20	A
30º dia de vida												
720 horas após o nascimento	32,29	±	2,60	A	30,17	±	1,10	A	30,29	±	0,92	A

GRÁFICO 6: Valores de concentração hemoglobínica corpuscular média em percentagem, de bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Tabela 7: Médias e desvio padrão dos teores séricos de ferro em bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Momento da colheita das amostras	Ferro Sérico (µg/dl)											
	Clone Laboratório A			Clone Laboratório B			Fertilização in Vitro			Monta Natural		
1º dia de vida			A			A			A			A
Imediatamente após o nascimento	142,08	± 74,02		89,96	± 25,11		160,15	± 59,43		229,63	± 75,98	
1º dia de vida			A			A			A			A
6 horas após o nascimento	70,12	± 37,94		58,19	± 30,45		68,74	± 53,87		174,58	± 24,23	
1º dia de vida			A			A			A			A
12 horas após o nascimento	54,80	± 28,00		76,97	± 25,65		48,08	± 12,45		128,65	± 17,64	
1º dia de vida			A			A			A			A
24 horas após o nascimento	95,39	± 102,53		80,84	± 26,67		83,15	± 31,78		79,27	± 37,70	
2º dia de vida			A			A			A			A
48 horas após o nascimento	96,49	± 104,49		145,50	± 33,12		71,73	± 23,28		117,12	± 121,50	
3º dia de vida			A			A			A			A
72 horas após o nascimento	95,76	± 120,30		85,73	± 33,29		71,13	± 28,91		139,99	± 176,26	
4º dia de vida			A			A			A			A
96 horas após o nascimento	27,67	± 14,36		69,31	± 63,72		101,46	± 75,01		112,32	± 148,76	
5º dia de vida			A			A			A			A
120 horas após o nascimento	33,68	± 44,61		42,73	± 8,85		99,29	± 65,17		130,15	± 174,63	
7º dia de vida			A			A			A			A
168 horas após o nascimento	47,35	± 38,15		113,47	± 98,76		168,78	± 55,80		161,73	± 153,44	
10º dia de vida			A			A			A			A
240 horas após o nascimento	14,71	± 5,57		99,74	± 74,72		131,92	± 145,36		187,51	± 151,11	
15º dia de vida			B			AB			AB			A
360 horas após o nascimento	20,53	± 20,30		140,16	± 115,99		146,96	± 136,08		256,99	± 111,46	
20º dia de vida			A			A			A			A
480 horas após o nascimento	67,05	± 49,08		115,17	± 67,78		132,32	± 59,80		159,33	± 51,21	
30º dia de vida			A			A			A			A
720 horas após o nascimento	53,58	± 47,48		68,36	± 41,27		168,26	± 81,59		173,00	± 51,98

GRÁFICO 7: Valores de ferro sérico, em miligramas por decilitro de sangue, de bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Tabela 8: Médias e desvio padrão dos teores séricos da capacidade total de ligação do ferro (CTLF) em bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Momento da colheita das amostras	Capacidade Total de Ligação do Ferro ($\mu\text{g/dl}$)											
	Clone Laboratório A			Clone Laboratório B			Fertilização in Vitro			Monta Natural		
1º dia de vida			A			A			A			A
Imediatamente após o nascimento	457,40	± 65,71		476,84	± 50,47		394,62	± 24,46		465,85	± 129,28	
1º dia de vida			A			A			A			A
6 horas após o nascimento	455,99	± 54,61		423,67	± 59,25		358,73	± 25,19		444,35	± 39,93	
1º dia de vida			A			A			A			A
12 horas após o nascimento	409,92	± 48,15		449,41	± 39,68		363,66	± 23,70		424,77	± 38,71	
1º dia de vida			A			A			A			A
24 horas após o nascimento	359,11	± 103,83		368,99	± 47,63		323,31	± 45,37		351,28	± 24,66	
2º dia de vida			A			A			A			A
48 horas após o nascimento	358,08	± 137,68		405,07	± 22,13		419,29	± 78,51		419,33	± 54,31	
3º dia de vida			A			A			A			A
72 horas após o nascimento	416,42	± 60,00		462,77	± 49,54		440,41	± 12,05		417,57	± 56,88	
4º dia de vida			A			A			A			A
96 horas após o nascimento	469,09	± 70,57		439,13	± 155,00		461,91	± 53,82		411,43	± 71,85	
5º dia de vida			A			A			A			A
120 horas após o nascimento	444,80	± 114,35		465,34	± 87,68		454,27	± 47,61		413,23	± 100,34	
7º dia de vida			A			A			A			A
168 horas após o nascimento	455,90	± 129,34		538,66	± 44,32		568,11	± 42,90		507,98	± 113,30	
10º dia de vida			A			A			A			A
240 horas após o nascimento	362,76	± 90,35		461,50	± 108,71		493,32	± 136,13		463,91	± 105,36	
15º dia de vida			A			A			A			A
360 horas após o nascimento	435,75	± 91,79		539,64	± 47,63		569,68	± 69,74		503,80	± 78,04	
20º dia de vida			A			A			A			A
480 horas após o nascimento	422,59	± 164,03		508,57	± 19,88		518,81	± 85,85		459,22	± 71,11	
30º dia de vida			A			A			A			A
720 horas após o nascimento	424,32	± 121,92		457,81	± 110,79		509,34	± 113,62		410,37	± 57,27

GRÁFICO 8: Valores de capacidade total de ligação do ferro, em miligramas por decilitro de sangue, de bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Tabela 9: Médias e desvio padrão do índice de saturação da transferrina (IST) em bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Momento da colheita das amostras	Índice de Saturação da Transferrina (%)															
	Clone Laboratório A				Clone Laboratório B				Fertilização in Vitro				Monta Natural			
1º dia de vida				A				A				A				A
Imediatamente após o nascimento	31,24	±	16,20		19,03	±	5,25		40,54	±	14,21		51,20	±	18,83	
1º dia de vida				A				A				A				A
6 horas após o nascimento	15,32	±	8,40		13,23	±	4,91		18,88	±	14,14		39,88	±	9,04	
1º dia de vida				A				A				A				A
12 horas após o nascimento	13,11	±	5,90		17,63	±	7,38		13,34	±	3,92		30,46	±	4,81	
1º dia de vida				A				A				A				A
24 horas após o nascimento	25,14	±	24,74		22,61	±	9,39		25,42	±	7,82		22,56	±	10,67	
2º dia de vida				A				A				A				A
48 horas após o nascimento	26,51	±	24,37		36,14	±	8,90		18,13	±	7,99		27,73	±	29,39	
3º dia de vida				A				A				A				A
72 horas após o nascimento	22,56	±	28,53		18,66	±	7,19		16,14	±	6,55		35,20	±	46,12	
4º dia de vida				A				A				A				A
96 horas após o nascimento	5,82	±	2,61		19,10	±	16,49		21,83	±	15,98		28,81	±	38,86	
5º dia de vida				A				A				A				A
120 horas após o nascimento	6,62	±	6,89		9,27	±	1,55		21,04	±	12,48		35,49	±	52,54	
7º dia de vida				A				A				A				A
168 horas após o nascimento	9,64	±	5,76		20,68	±	17,15		29,74	±	9,37		40,25	±	50,30	
10º dia de vida				A				A				A				A
240 horas após o nascimento	4,25	±	2,02		20,83	±	14,09		23,66	±	20,13		46,26	±	46,34	
15º dia de vida				B				AB				AB				A
360 horas após o nascimento	4,95	±	5,45		27,50	±	26,55		24,06	±	19,13		51,77	±	25,84	
20º dia de vida				A				A				A				A
480 horas após o nascimento	14,49	±	5,81		22,68	±	13,81		25,24	±	9,17		35,76	±	14,34	
30º dia de vida				A				A				A				A
720 horas após o nascimento	11,76	±	9,03		14,51	±	6,91		35,62	±	23,60		42,06	±	11,43

GRÁFICO 9: Índice de saturação da transferrina, em percentagem, de bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Tabela 10: Médias e desvio padrão das taxas de hemoglobina Tipo A (Hb-A), do Tipo B (Hb-B) e do Tipo Fetal (Hb-F) obtidos de bezerros da raça Nelore com Fenotipo AB produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo Laboratório A (Clone A) ou por Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Momento da colheita das amostras	Hemoglobina Tipo A (Hb-A)		Hemoglobina Tipo B (Hb-B)		Hemoglobina Tipo Fetal (Hb-F)	
	Clone A Fenotipo AB	FIV e MN – Fenotipo AB	Clone A Fenotipo AB	FIV e MN – Fenotipo AB	Clone A Fenotipo AB	FIV e MN – Fenotipo AB
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	3,01 ± 0,70	2,72 ± 0,97	5,29 ± 1,70	6,18 ± 2,61	2,77 ± 0,69	2,74 ± 1,33
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	2,53 ± 0,57	3,29 ± 1,11	4,53 ± 1,49	5,95 ± 2,56	2,64 ± 0,53	2,80 ± 1,05
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	2,45 ± 0,62	3,19 ± 1,19	4,17 ± 1,34	5,49 ± 2,79	2,37 ± 0,56	2,43 ± 0,82
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	2,19 ± 0,57	3,12 ± 0,91	4,06 ± 1,46	5,48 ± 2,51	2,06 ± 0,64	2,28 ± 0,64
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	2,37 ± 0,50	3,26 ± 0,82	4,03 ± 1,21	5,87 ± 2,72	1,84 ± 0,49	2,15 ± 0,72
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	2,40 ± 0,63	2,88 ± 0,56	3,81 ± 1,22	5,80 ± 2,42	2,02 ± 0,62	2,45 ± 0,90
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	2,34 ± 0,63	3,10 ± 1,04	3,80 ± 1,48	5,10 ± 2,46	1,63 ± 0,53	2,44 ± 0,58
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	2,33 ± 0,87	2,98 ± 1,29	3,85 ± 1,54	5,24 ± 2,51	1,53 ± 0,59	2,37 ± 0,66
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	2,21 ± 0,58	3,68 ± 1,12	3,47 ± 0,97	5,28 ± 2,42	1,57 ± 0,52	1,92 ± 0,53
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	2,34 ± 0,42	4,33 ± 1,47	3,61 ± 1,11	5,19 ± 2,50	1,55 ± 0,70	1,45 ± 0,48
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	2,26 ± 0,36	5,12 ± 1,61	3,26 ± 0,84	5,06 ± 2,29	1,40 ± 0,68	1,20 ± 0,44
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	2,42 ± 0,75	5,80 ± 2,61	3,41 ± 0,88	5,24 ± 2,12	1,32 ± 0,54	1,22 ± 0,34
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	2,82 ± 0,90	5,54 ± 2,15	3,76 ± 0,65	5,15 ± 2,19	1,37 ± 0,69	1,19 ± 0,24

Gráfico 10: Taxas de hemoglobina Tipo A (Hb-A), do Tipo B (Hb-B) e do Tipo Fetal (Hb-F) obtidos de bezerros da raça Nelore com Fenotipo AB produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo Laboratório A (Clone A) ou por Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Tabela 11 - Médias e desvio padrão das taxas de hemoglobina do Tipo A (Hb-A) e hemoglobina do Tipo Fetal (Hb-F) obtidos de bezerros da raça Nelore com Fenotipo A *produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo Laboratório B (Clone B) ou por Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida

Momento da colheita das amostras	Hemoglobina Tipo A (Hb-A)						Hemoglobina Tipo Fetal (Hb-F)					
	Clone B - Fenotipo A*			FIV e MN - Fenotipo A*			Clone B - Fenotipo A*			FIV e MN - Fenotipo A*		
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	9,64	±	2,16	5,82	±	2,64	2,42	±	1,10	3,99	±	1,15
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	9,10	±	2,07	6,46	±	3,11	2,52	±	0,81	3,19	±	1,35
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	8,10	±	1,70	4,90	±	2,74	2,83	±	0,99	3,49	±	0,30
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	8,12	±	2,07	4,44	±	1,95	3,33	±	1,12	3,66	±	0,67
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	8,17	±	2,22	4,45	±	2,34	3,69	±	1,39	3,86	±	0,33
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	7,96	±	2,21	4,29	±	1,83	3,61	±	0,55	3,91	±	0,49
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	8,18	±	1,72	4,88	±	1,96	2,98	±	1,60	3,46	±	0,30
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	10,01	±	3,10	4,49	±	1,36	1,40	±	0,40	3,76	±	0,68
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	9,07	±	2,77	5,78	±	1,36	1,94	±	0,99	2,99	±	0,38
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	9,77	±	2,88	6,75	±	2,18	2,44	±	0,39	2,30	±	0,32
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	9,17	±	4,25	7,36	±	1,82	2,04	±	0,95	2,78	±	1,25
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	8,47	±	3,17	9,54	±	1,23	1,86	±	0,91	2,01	±	1,10
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	8,77	±	3,51	9,43	±	1,55	2,05	±	1,32	2,19	±	

*por serem do Fenotipo A, os animais utilizados nesta avaliação não possuem Hemoglobina do Tipo B.

*por serem do Fenotipo A, os animais utilizados nesta avaliação não possuem Hemoglobina do Tipo B

Gráfico 11: Taxas de hemoglobina do Tipo A (Hb-A) e hemoglobina do Tipo Fetal (Hb-F) obtidos de bezerros da raça Nelore com Fenotipo A *produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo Laboratório B (Clone B) ou por Fertilização in Vitro (FIV) e Montagem Natural, nos primeiros 30 dias de vida.

Tabela 12 - Médias e desvio padrão das taxas de Hemoglobina do Tipo Fetal (Hb F), de bezerros da raça Nelore, produzidos por meio de Transferência nuclear de células somáticas por dois laboratórios diferentes (Clones A e Clones B), Fertilização in Vitro (FIV) e Monta Natural, nos primeiros 30 dias de vida

Momento da colheita das amostras	Hemoglobina Fetal (Hb-F)															
	Clone Laboratório A				Clone Laboratório B				Fertilização in Vitro			Monta Natural				
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	2,77	±	0,69	A	2,79	±	0,88	A	2,92	±	1,91	A	3,50	±	0,57	A
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	2,64	±	0,53	A	2,68	±	0,94	A	2,98	±	1,55	A	2,91	±	0,61	A
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	2,37	±	0,56	A	2,71	±	1,01	A	2,61	±	1,17	A	3,04	±	0,42	A
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	2,06	±	0,64	A	3,07	±	1,20	A	2,64	±	1,16	A	2,95	±	0,80	A
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	1,84	±	0,49	A	2,94	±	1,29	A	2,56	±	1,32	A	3,02	±	0,84	A
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	2,02	±	0,62	B	3,07	±	1,08	AB	2,39	±	1,10	AB	3,60	±	0,62	A
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	1,63	±	0,53	A	2,84	±	1,16	A	2,59	±	0,97	A	3,05	±	0,28	A
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	1,53	±	0,59	A	2,27	±	1,06	A	2,45	±	0,90	A	3,33	±	0,88	A
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	1,57	±	0,52	A	2,32	±	0,99	A	2,03	±	0,53	A	2,62	±	0,83	A
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	1,55	±	0,70	A	2,31	±	0,63	A	1,62	±	0,62	A	1,92	±	0,63	A
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	1,40	±	0,68	A	1,90	±	0,86	A	1,15	±	0,46	A	2,43	±	1,25	A
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	1,32	±	0,54	A	1,67	±	0,69	A	1,02	±	0,27	A	2,02	±	0,79	A
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	1,37	±	0,69	A	1,91	±	0,98	A	1,23	±	0,36	A	1,90	±	0,74	A

5 DISCUSSÃO

O advento da clonagem de animais a partir de embriões reconstruídos com núcleos provenientes de células em diferentes estágios de diferenciação tem sido responsável pelo aparecimento de diversas anomalias diagnosticadas durante a gestação e após o nascimento de animais clonados. Ao consultar-se a literatura sobre possíveis transtornos associados a clonagem existe consenso que os principais problemas seriam a macrosomia ou síndrome do bezerro grande ou LCS (do inglês "large calf syndrome"), os problemas cardio-respiratórios e as anomalias umbilicais com infecção e persistência do úraco (WILSON et al. 1995; GARRY et al. 1996; CIBELLI et al., 1998; RENARD et al., 1999; HILL et al., 1999).

Afora essas alterações, estudos desenvolvidos por pesquisadores do Centro de Pesquisa e Diagnóstico de Enfermidades de Ruminantes - CPDER, do Departamento de Clínica Médica, em conjunto com pesquisadores de outros Departamentos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP (VCI, VPT e VRA), da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos USP e do Instituto Butantã tem evidenciado a ocorrência de sofrimento fetal e hipóxia durante a vida intra-uterina, distúrbios do metabolismo de carboidratos, possíveis distúrbios na síntese e absorção de vitaminas, que poderiam estar associados aos quadros freqüentes de alopecia e anemias de grau moderado a severo em bezerros obtidos por transferência nuclear de célula somática.

Apesar de encontrar-se na literatura algumas referências sobre distúrbios do eritrograma em bezerros clonados a partir da transferência nuclear de células somáticas, nas quais relatou-se associado a um quadro de aplasia linfóide a ocorrência de anemia diagnosticada pela redução da taxa de hemoglobina

(RENARD et al., 1999) ou, ainda, existirem autores que observaram que o volume corpuscular médio das hemácias era maior em bezerros clonados e relacionaram este achado com uma possível imaturidade do sistema hematopoiético (CHAVATTE-PALMER et al., 2002), existe na literatura uma aparente concordância de que esses transtornos seriam transitórios e limitados às primeiras horas de vida dos animais (BATCHELDER et al., 2007).

Os achados da presente dissertação discordam dos referidos por Chavatte-palmer et al. (2002) e Batchelder et al. (2007), pois em 100 % dos clones obtidos pelo Laboratório A ocorreu anemia normocítica e normocrômica que instalou-se gradualmente a partir das 12 horas de vida atingindo ao final da primeira semana, a sua intensidade máxima, sendo que no 7º dia de vida foram observados os seguintes valores médios para essas variáveis: Hemácias - $4,33 \times 10^6/\text{mm}^3$; Volume Globular - 23 %, Taxa de Hemoglobina - 7,25 g/dl; VCM - $52,89 \mu^3$; HCM - 16,65 pg; CHCM - 31,47%. Verificou-se pelos resultados obtidos nesta pesquisa que esta anemia, cuja intensidade variava de grau moderado a grave é um distúrbio que pode acometer parte dos bezerros clonados e que poderia determinar diminuição da pressão de oxigênio arterial e agravamento do quadro cardio-respiratório observado nos animais.

A ocorrência de anemias em bezerros no período neonatal tem sido descrita em bezerros por diversos autores (KANEKO; MILLES, 1970; BIRGEL, 1972; TENNANT et al., 1975; REECE, 1980; MCGILLARY et al., 1985; JAIN, 1986; BAXTER, 1996), sendo que cerca de 15 % dos bezerros nascidos por vacas sadias apresentam anemia no momento do nascimento e antes da ingestão do colostro (TENNANT et al., 1975). Os resultados da presente pesquisa evidenciaram a ocorrência de anemia em 14,2 % dos bezerros obtidos transferência nuclear de

célula somática pelo Laboratório B (Clone B), em 50 % nos animais obtidos por fertilização in vitro e 50 % dos animais gerados por monta natural. Cabe comentar que uma das explicações da ocorrência de um grande número de animais com anemia no grupo por FIV e Monta Natural poderiam estar relacionados ao tipo de assistência obstétrica utilizada (FIV 1 – cesariana, FIV 4 – tração, Monta Natural 1,2,3 e 4 – cesariana) , pois BIRGEL (1972) verificou que bezerras nascidas com o auxílio obstétrico (tração ou cesariana) apresentavam quadro eritrocitário com os valores médios de menor magnitude.

A análise dos resultados obtidos para o metabolismo do ferro evidenciou que a anemia observada nos bezerros clonados pelo Laboratório A eram de origem ferropriva, pois nesses animais ocorria uma significativa diminuição dos teores séricos de ferro associada à diminuição do índice de saturação da transferrina (IST), enquanto os valores da capacidade total de ligação do ferro (CTLF) não sofreram influência durante o período.

Apesar das anemias ferroprivas serem classicamente classificadas como microcíticas e hipocrômicas, verifica-se que nos estágios iniciais da deficiência de ferro os índices hematimétricos estão dentro da normalidade (HARVEY, 2000). Após o esgotamento das reservas de ferro seriam, ainda, necessários pelo menos dez dias para que a anemia passasse a ser microcítica hipocrômica (BIRGEL, 1985).

Ao consultar-se a literatura sobre a etiologia das anemias dos bezerros verificou-se que a deficiência de ferro é considerada a causa determinante mais freqüentemente associada a esta condição (BIRGEL, 1972; TENNANT, 1975; HIDIROGLON, 1980). Segundo Birgel (1999) a carência de ferro na alimentação ocorre, particularmente, nos animais lactentes, pois além do leite ser um alimento pobre em ferro existe nessa fase da vida um balanço negativo, pois os bezerros

nascem com uma pequena reserva de ferro que é rapidamente consumida, sendo este elemento considerado como de fundamental importância na dieta de animais jovens durante o período de rápido crescimento (HIDIROGLON, 1980).

Afora as alterações do eritrograma e do metabolismo de ferro observou-se nos bezerros clonados alterações no pelame sugestivas de distúrbios na síntese e absorção de vitaminas e /ou deficiências minerais. Em ambos os grupos de clones (produzidos pelo Laboratório A e pelo Laboratório B) a incidência de alopecia por diversas partes do corpo era alta: 63,6 % (7/11) nos bezerro clonados pelo Laboratório A e 60,0 % (9/15) nos bezerros clonados pelo Laboratório B. Afora isso, os animais apresentavam alterações do apetite caracterizado pela ingestão de terra e urina, comportamento comum em casos de deficiências nutricionais.

Ao analisar-se os teores séricos de ferro nos bezerros obtidos por transferência nuclear de célula somática e obtidos por fertilização in vitro verificou-se que os seus valores eram menores do que os observados em animais nascidos por monta natural. Considerando-se a média dos resultados obtidos nos trinta dias que os animais foram examinados, os menores teores séricos de ferro foram observados nos clones obtidos pelo Laboratório A (81,18 $\mu\text{g/dl}$), seguido dos clones obtidos pelo Laboratório B (88,14 $\mu\text{g/dl}$) e dos obtidos por fertilização in vitro (111,7 $\mu\text{g/dl}$), sendo que os maiores valores foram encontrados nos animais nascidos por monta natural (157,7 $\mu\text{g/dl}$).

As disfunções placentárias poderiam estar relacionadas com os distúrbios do metabolismo de ferro, pois Tennant et al. (1975) consideraram a impedimento de transferência de íons de ferro da mãe para o feto e conseqüente deficiência de ferro durante a vida intra-uterina um importante fator para explicar a patogenia das anemias em bezerros recém-nascidos.

Por outro lado, diversos autores relataram uma alta mortalidade pré e perinatal como resultado da produção de clones por transferência nuclear de célula somática (SCHNIENEKE et al., 1997; WELLS et al., 1997; KATO et al., 1998; RENARD et al., 1999; WELLS et al., 2004; CHAVATTE-PALMER et al., 2004; BATCHELDER et al., 2007b) relacionadas a desenvolvimento anormal da placenta, possivelmente devido ao crescimento inapropriado da membrana alantóide em decorrência da falta de vascularização nos estágios iniciais do desenvolvimento (WELLS, 1999) ou a alterações nos vilos coriônicos da placenta de bovinos clonados, (LACERDA, 2006) determinando disfunção placentária que leva a formação de hidroalantóide, aparecimento de placentomas maiores e em menor quantidade, aumento na espessura do cordão umbilical e membranas placentárias edematosas (WALKER et al., 1996; KRUIP; DENDAAS, 1997; CIBELLI et al., 1998; KATO et al., 1998; YOUNG et al., 1998; WELLS et al., 1999; HILL et al., 1999; HEYMAN et al., 1999; CHAVATTE-PALMER et al., 2002; BATCHELDER et al., 2007a).

Possivelmente as diferença observadas entre os grupos experimentais reflitam e diferentes graus de deficiência placentária. Onde quanto maior o grau de deficiência, maiores as chances de um impedimento de transferência de íons de ferro da mãe para o feto e conseqüentemente maiores as chances de ocorrer anemia por deficiência de ferro. Fatores inerentes à técnica estariam envolvidos no melhor ou no pior desempenho ou eficiência dos grupos de clonagem. Isso inclui qualidade de oócitos, manipulação, ativação, formulações de meios de cultivo de embriões e ainda habilidade do técnico de laboratório ou particularidades de cada técnica.

Uma segunda possibilidade da origem das anemias observados nos bezerros clonados obtidos pelo Laboratório A poderiam estar relacionada à hemólise causada por mecanismos hereditários Tennant et al. (1975). Nessas anemias hereditárias, alterações de origem gênica, por mutações ou deleções, induziriam a produção de proteínas diferentes, determinando hemoglobinopatias, eritroenzimopatias e distúrbios protéicos da membrana dos eritrócitos. Tais situações determinariam um encurtamento da vida média das hemácias, configurando uma anemia hemolítica, ou seja, uma hematopatia causada pela destruição prematura das hemácias. (BARRETO, 1992).

Durante o estudo dos tipos de hemoglobinas, utilizando-se técnica de eletroforese foram identificados três fenótipos de Hemoglobina adulta (Hb-A; Hb-B e Hb-AB) e a presença de hemoglobina fetal (Hb-fetal), não sendo observadas anomalias que pudessem sugerir a ocorrência de hemoglobinopatias hereditárias e/ou congênitas. Verificou-se que as taxas de Hb-A, nos clones com fenótipo Hb-AB e Hb-A, permaneceram estáveis durante todo o período experimental, enquanto nos bezerros obtidos por fertilização in vitro ou monta natural com os mesmos fenótipos (Hb-A e Hb-AB) observou-se a partir de 120 horas de vida um gradativo aumento das taxas de Hb-A. Durante a avaliação da dinâmica da hemoglobina do tipo fetal (Hb-fetal) no primeiro mês de vida observou-se, que todos os grupos de animais apresentaram comportamento similar, caracterizado por sua diminuição com o desenvolvimento etário.

6 CONCLUSÕES

A interpretação e discussão dos resultados obtidos na presente pesquisa sobre hematologia de bezerros da raça Nelore, originados por meio da técnica de transferência nuclear de células somáticas (TNCS) - Clonagem possibilitaram as conclusões a seguir detalhadas:

1ª Conclusão -A ocorrência de anemia de grau moderado a grave, do tipo normocítico e normocrômico, foi observada em 100 % (5/5) dos 5 bezerros clonados pelo Laboratório A, enquanto a incidência nos bezerros clonados pelo Laboratório B foi igual a 14,2 % (1/7), nos bezerros obtidos por Fertilização in vitro foi igual 50,0 % (2/4) e em bezerros obtidos por monta natural foi igual a 50,0 % (2/4).

2ª Conclusão - A avaliação do eritrograma dos bezerros clonados pelo Laboratório A evidenciou que a anemia instalou-se gradualmente a partir das 12 horas de vida atingindo ao final da primeira semana a sua intensidade máxima, sendo observada a recuperação gradativa destes valores do eritrograma a partir do 15º dia de vida.

3ª Conclusão – A anemia observada nos bezerros clonados pelo Laboratório A eram de origem ferropriva, pois foi evidenciado nesses animais uma significativa diminuição dos teores séricos de ferro associada à diminuição do índice de saturação da transferrina (IST), enquanto os valores da capacidade total de ligação do ferro (CTLF) não sofreram influência durante o período.

4ª Conclusão – Na caracterização dos tipos de hemoglobinas não foram encontradas alterações relacionadas com a ocorrência de hemoglobinopatias

hereditárias e/ou congênitas, sendo identificadas durante o estudo três fenótipos de Hemoglobina adulta (Hb-A; Hb-B e Hb-AB) e a presença de hemoglobina fetal (Hb-F).

5ª Conclusão – Verificou-se que as taxas de Hb-A, nos clones com fenótipo Hb-AB e Hb-A, permaneceram estáveis durante todo o período experimental, enquanto nos bezerros obtidos por fertilização in vitro ou monta natural com os mesmos fenótipos (Hb-A e Hb-AB) observou-se a partir de 120 horas de vida um gradativo aumento das taxas de Hb-A. Durante a avaliação da dinâmica da hemoglobina do tipo fetal (Hb-F) no primeiro mês de vida observou-se, que todos os grupos animais apresentaram comportamento similar, caracterizado por sua diminuição com o desenvolvimento etário.

REFERÊNCIAS

- ALTAIF, K. I.; DARGIE, J. D. Genetic resistance to helminthes. The influence of breed and hemoglobin type on response of sheep to reinfection with *Haemonchus contortus*. **Parasitology**, v. 77, p. 177-187, 1978.
- ALVES, R. T.; MATTOS, L. C.; FERRARI, F.; BONINI-DOMINGUES, C. R. Avaliação do polimorfismo de grupos sanguíneo e fenótipos de hemoglobinas em um grupo de universitários de São José do Rio Preto, SP. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 25, n. 1, p. 65-71, 2003.
- AYRES, M. C. C. **Tipos de hemoglobina de bovinos; Dinâmica das hemoglobinas fetal e adulta e das atividades das enzimas do metabolismo eritrocitário de bezerros desde o nascimento até os 180 dias de vida criados no estado de São Paulo**. 2005. 207 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2002.
- BAXTER, K. Haemolytic anaemia in na embryo transfer calf. **Veterinary Record**, v. 138, p. 941-967. 1996.
- BATCHELDER, C. A.; BERTOLINI, M.; MASON, J. B.; MOYER, A. L.; KOFFERT, K. A.; PETKOV, S. G.; FAMULA, T. R.; ANGELOS, J.; GEORGE, L. W.; ANDERSON, G. B. Perinatal physiology in cloned and normal calves: Hematologic and biochemical profiles. **Cloning and Stem Cells**, v. 9, n. 1, p. 83-96, 2007
- BEHBOODI, E.; ANDERSON, G. B.; BONDURANT, R. H.; CARGILL, S. L.; KREUSCHER, B. R.; MURRAY, J. D. Birth of large calves that developed from in vitro-derived bovine embryos. **Theriogenology**, v. 44, p. 227-232, 1995.
- BERQUÓ, E. S.; SOUZA, J. M. P.; GOTLIEB, S. L. D. **Bioestatística**. São Paulo: Pedagógica e Universitária, 1981.
- BANGHAM, A. D. Distribution of electrophoretically different haemoglobins among cattle breeds of Great Britain. **Nature**, v. 179, p. 467-468, 1957.
- BARRETO, O. C. O. Como diagnosticar e tratar anemias. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 49, n. 10, p. 711-733, 1992.
- BIRGEL, E. H. **Estudo do quadro eritrocitário de caprinos (*Capra hircus*, L.) normais, criados no Estado de São Paulo. Influência dos fatores raciais, sexuais, etários e alimentares**. 1974. 92 f. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1974.
- BIRGEL, E. H. Hämatologische Untersuchungen bei Kälbern der Rasse "Deutsches Scharzbuntes Rind" in den ersten 14 Lebenstagen. 1972. 89 f. Inaugural Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doctor Medicine Veterinariae durch die Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover, 1972.

BIRGEL, E. H. Hematologia Clínica Veterinária. In: BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. **Patologia clínica veterinária**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982, p. 2-34.

BONDIOLI, K. R. Comercial cloning of cattle by nuclear transfer. Proc.symp on cloning mamals by nuclear transplantation. **Colorado University**, 1992, p.35-38.

BONDIOLI, K. R.; WESTHUSIN, M. E. LOONEY, C. R. Production of identical bovine offspring by nuclear transfer. **Theriogenology**, v. 22, p. 165-174, 1990.

BOOTH, P. J.; TAN, S. J.; REIPURTH, R.; HOLM, P.; CALLESEN, H. Simplification of bovine somatic cell nuclear transfer by applocation of a zona-free manipulation technique. **Cloning and Stem Cells**, v. 3, p. 139-150, 2001.

BRAEND, M. Haemoglobin variants in cattle. **Animal Blood Groups Biochemic Genetics**, v. 2, p. 15-21, 1971.

BUVANENDRAN, V.; SOORIYAMOORTHY, T.; OGUNSUSI, R. A.; ADU, I. F. Haemoglobin polymorphism and resistance to helminths in red Sokoto goats. **Tropical Animal Health and Production**, v. 13, p.217-221, 1981.

CABANES, R.; SERANI, C. H. Heterogeneité de l' hemoglobine des bovines. Identification életrrophorétic deux hémoglobines bovines. **Comptes Rendus, Soc. Biol.** v. 149, p. 1-5, 1995.

CAAR, W. R. A new bovine haemoglobin variant. **Rhod. J. Agricultural Research**, v. 3, p. 62, 1965.

CHAVATTE-PALMER P.; HEYMAN Y.; RICHARD C.; MONGET P.; LeBOURHIS D.; KANN G.; CHILLIARD Y.; VIGNON X.; RENARD J. P. Clinical, hormonal, e hematologic characteristics of bovine calves derived from nuclei from somatic cells. **Biology of Reproduction**, v. 66, p. 1596-1603, 2002.

CHAVATTE-PALMER, P.; REMY, D.; CORDONNIER, N. et al. Health status of cloned cattle at different ages. **Cloning and Stem Cells**, v. 6, p. 94-100, 2004.

CIBELLI, J. B.; STICE, S. L.; GOLUEKE, P. J.; KANE,J. J.; JERRY, J.; BLACKWELL, C.; PONCE DE LEON, F. A.; ROBL, J. L.; Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts. **Science**, v. 280, p. 1256-1258, 1998.

CONSTANT, F.; GUILLOMOT, M.; HUGHES, J.; DEAN, W.; FERGUSON-SMITH, A.; FUNDELE, R.; STEWART, F.; KELSEY, G.; FOWDEN, A.; SIBLEY, C.; REIK, W. Placental-specific IGF-II is a major modulator of placental and fetal growth. **Nature**, London, v. 417, p. 945-948, 2002.

CUPERLOVIC, K.; ALTAIF, K. I.; DARGIE, J. D. Genetic resistance to helminths: a possible relationship between haemoglobin type and the immune response of sheep to non-parasitic antigens. **Research in veterinary Science**, v. 25, p. 125-126, 1978.

DALLY, M. R.; HOHENBOKEN, W.; THOMAS, D. L.; CRAIG, A. M. Relationship between hemoglobin type and reproduction, lamb, wool and milk production and health – related traits in crossbred ewes. **Journal of Animal Science**, v. 50; p. 418 – 427, 1980.

DI VITO, A.; SCHWANTES, A. R.; SCHWANTES, M. L. B. Functional properties of the three hemoglobin phenotypes of Nelore cattle. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 2, p. 135-138, 2002.

ENRIGHT, B. P.; KUBOTA, C.; YANG, X.; TIAN, X. C. Epigenetic characteristics and development of embryos cloned from donor cells treated by trichostatin A or 5-aza-2c-deoxycytidine. **Biology of Reproduction**, v. 69, p. 896-901, 2003.

FARIN, P. W.; PIEDRAHITA, J. A.; FARIN, C. E. Errors in development of fetuses and placentas from in vitro-produced bovine embryos. **Theriogenology**, v. 65, p. 178-191, 2006.

GARRY, F. B.; ADAMS, R.; McCANN J. P.; ODDE, K. G. Postnatal characteristics of calves produced by nuclear transfer cloning. **Theriogenology**, v. 45, p. 142-152, 1996.

GRIMES, R. M.; DUNCAN, C. W.; LASSITER, C. A. Occurrence of multiple hemoglobin in certain breeds of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 40, p. 7-12, 1957.

HARVEY, J. W. Microcytic anemias. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Shalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Lipincott Williams & Willkins, 2000. p. 200-204.

HASLER, J. F.; HENDERSON, W. B.; HURTGEN, J. P.; JIN, Z. Q.; McCAULEY, A. D.; MOWER, S. A.; NEELY, B.; SHUEY, L. S.; STOKES, J. E.; TRIMMER, S. A. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. **Theriogenology**, v. 43, p. 141-152, 1995.

HAYS, V. W.; SWENSON, M. J. Minerais. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 471-487.

HENRY, R.J.; CANNON, D.C.; WINKELMAN, J.W. **Clinical Chemistry: Principles and Techniques**. New York: Harper & Row, 1974. p. 687-695.

HEYMAN Y.; CHAVATTE-PALMER P.; LEBOURHIS D.; DENIAU F.; LAIGRE P.; VIGNON X.; RENARD J. P. Evaluation of pregnancies after transfer of cloned bovine blastocysts from fetal or adult somatic cells. In: AETE Meeting, 15., 1999, Lyon, France. **Proceeding...** p. 166.

HEYMAN, Y.; CHAVATTE-PALMER, P.; LeBOURHIS, D.; VIGNON, X.; RENARD, J.P., Frequency and occurrence of late-gestacional losses from cattle cloned embryos. **Biology of Reproduction**, v. 66, p. 6-13, 2002.

HIDIROGLOU, M. Trace elements in the fetal and neonate ruminant: A review. **Canadian Veterinary Journal**, v. 21, p. 328-335, 1980.

HILL, J. R.; ROUSSEL, A. J.; CIBELLI, J. B.; EDWARDS, J. F.; HOOPER, N. L.; MILLER, M. W.; THOMPSON, J. A.; LOONEY, C. R.; WETSHUSIN, M. E.; ROBL, J. M.; STICE, S. L. Clinical and pathologic features of cloned transgenic calves and fetuses (13 case studies). **Theriogenology**, v. 51, p. 1451-1465, 1999.

JACOBSEN, H.; SCHMIDT, M.; HOLM, P.; SANGILD, P. T.; GREVE, T.; CALLESEN, H. Ease calving, blood chemistry, insulin and bovine growth hormone of newborn calves derived from embryos produced in vitro culture systems with serum and co-culture or with PVA. **Theriogenology**, v. 54, p. 147-158, 2000.

JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 4. ed. Philadelphia: Lea&Fabiger, 1986. 1221 p.

LEE, R. S.; DEPREE, K. M.; DAVEY, H. W. The sheep (*Ovis aries*) H19 gene: genomic structure and expression patterns, from the preimplantation embryo to adulthood. **Gene**, v. 301, p. 67-77, 2002.

LEHMANN, H.; ROSS, J. G. Haemoglobin phenotypes in Nigerian cattle. **Man**, v. 61, p. 81-83, 1961.

KANEKO, J. J.; MILLS, R. Hematological and blood chemical observations in neonatal normal and porphyric calves en early life. **Cornell Veterinarian**, v. 60. p. 52-60, 1970.

KATO, Y.; TANI T.; SOTOMARU, Y.; KUROKAWA, K.; KATO, J.; DOGUSHI, H.; YASUE, H.; TSUNODA, Y. Eight calves cloned from somatic cells of a single adult. **Science**, v. 282 p. 2095-2098, 1998.

KEEFER, C. L.; STICE, S. L.; MATEWS, D. L.; Bovine inner cell as donor nuclei in the production of a nuclear transfer embryos and calves. **Biology of Reproduction**, v. 50, p. 935-939, 1994.

KLOBUCARIC, A.; BENESI, F. J.; BIRGEL. E. H. In: Semana de Veterinária, 4., 1986. São Paulo. **Anais**. São Paulo, 1986. p. 12.

KRUIP, Th. A. M.; DEN DAAS, J. H. G. In vitro produced and cloned embryos: effects on pregnancy, parturition and offspring. **Theriogenology**, v. 47, p. 43-52, 1997.

LANZA, R.P. et al. **Science**, v. 294, p. 1893-1894, 2001.

MATSUZAKI, M.; SHIGA, K. Endocrine characteristics of cloned calves. **Cloning and Steam Cells**, v. 4, p. 261-267, 2002.

MAYORKA, P. C.; MEIRELLES, F. V.; VISINTIN, J. A.; BIRGEL Jr., E. H.; MIGLINO, M. A.; DAGLI, M. L. Z. Patologia de fetos e neonatos bovinos clonados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, p. 113, 2005. suplemento, 1.

MEIRELLES, F. V.; PROVIDELO, F. D.; PERECIN, F.; MERIGHE, G. K. F.; FERREIRA, C. F.; FERRAZ, J. B. S.; ELER, J. P.; MIRANDA, M. S.; CHIARATTI, M. R.; DE BEM, T. H. C. Transferência de Núcleo: Potenciais aplicações no controle genético nuclear e citoplasmático. **Revista Brasileira de Reprodução**, v. 31, n. 3, p. 382-390, 2007.

McGILLIVARY, S. R.; SEAROY, G. P.; HIRSCH, V. M. Serum iron, total iron binding capacity, plasma copper and hemoglobin types in anemic and poikilocytic calves. **Canad. J. Com. Med.** v. 49, p. 286-290, 1985.

NAOUM, P. C. Hemoglobinopatias e talassemias. São Paulo: Sarvier, 1997. 171 p.

NUMABE, T.; OIKAWA, T.; SATOH, TAKADA, N.; HORIUCHI, T. Birthweights of calves conceived by transfer of Japanese black cow embryos produced in vitro. **Theriogenology**, v. 47, p. 378, 1997. Abstract.

OBACK, B.; WIERSEMA, A. T.; GAYNOR, P.; LAIBLE, G.; TUCKER, F. C.; OLIVER, J. E.; MILLER, A. L.; TROSKIE, H. E.; WILSON, K. L.; FORSYTH, J. T.; BERG, M. C.; COCKREM, K.; McMILLAN, V.; TERVIT, H. R.; WELLS, D. N. Cloned cattle derived from a novel zona-free embryo reconstitution system. **Cloning and Stem Cells**, v. 5, p. 3-12, 2003.

OZBEYAZ, C. Hemoglobin polymorphism in Turkish native breeds. **Ars Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 38, p. 53-59, 1991.

PACE, M. M.; AUGENSTEIN, M. L.; BETTHAUSER, J. M.; CHILDS, L. A.; EILERTSEN, K. J.; ENOS, J. C.; KOPPANG, R. W.; LANGE, G.; LESMEISTER, T. L.; MALLON, K. S.; MELL, G. D.; MISICS, P. M.; PFISTER-GENSKOW, M.; STRELCHENKO, N. S.; VOELKER, G. R.; WATT, S. R.; BISHOP, M. D. Ontogeny of cloned cattle to lactation. **Biology of Reproduction**, v. 67, p. 334-339, 2002.

PERECIN, F. **Epigenética do desenvolvimento em bovinos: DNA metiltransferases e genes "imprinted" em embriões, fetos e placentas**. 2007. 83 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

PRESTON, J. M.; ALLONBY, E. W. The influence of haemoglobin phenotype on the susceptibility of sheep to *Haemonchus contortus* infection in Kenya. **Research in Veterinary Science**, v. 26, p. 140-144, 1979.

QUEVAL, R.; PETITI, J. P. Polymorfisme biochimique de l'hémoglobine de populations bovines trypanosensibles, trypanotolérantes et de leur croisement dans l'Ouest africain. **Révue d'Élevage Médecine Vétérinaire Pays Tropicaux**, v. 35, p. 173-176, 1982.

RANDALL, R. S.; KELLIE, L. K. T.; YUKIKO, Y.; RYUZO, Y. Cloning and assisted reproductive techniques: Influence on early development and adult phenotype. **Birth Defects Research, Part C**, v. 75, p. 151-162, 2005.

REECE, W. O. Acid-base balance and selected hematologic electrolyte and blood chemical variable in calves: milk-feed vs convencionally fed. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41, p. 109-113, 1980.

RENARD, J. P.; CHASTANT, S.; CHESNÉ, P.; RICHARD, C.; MARCHAL, J.; CORDONNIER, N.; CHAVATTE, P.; VIGNON, X. Lymphoid hypoplasia and somatic cloning. **Lancet**, v. 353, p. 1489-1491, 1999.

SALISBURY, G. W.; SHREFFLER, D. C. Hemoglobin variants in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 40, p. 1198-1190, 1957.

SAS. STATISTICAL ANALISYS SYSTEM. **Sas user's guide: statistics**. Cary: SAS, 1985. p. 956.

SHREFFLER, D. C.; SALISBURY, G. W. Distribution and inheritance of hemoglobin variants in American Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 42, p. 1147-1156, 1959.

SCHMIDT, M.; GREVE, T.; AVERY, B.; BECKERS, J. F.; SULON, J.; HANSEN, H. B. Pregnancies, calves and calf viability after transfer of in vitro produced bovine embryos. **Theriogenology**, v. 46, p. 527-539, 1996.

SCHNIEKE, A. E.; KIND, A. J.; RITCHIE, W. A.; MYCOCK, K.; SCOTT, A. R.; RITCHIE, M.; WILMUT, I.; COLMAN, A.; CAMPBELL, K. H. Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. **Science**, v. 278, p. 2130-2133, 1997.

SMITH, B. P. **Medicina Interna de grandes animais**. 3. ed. São Paulo: Manole Ltda, 2002. cap.35, p.1064.

SEIDEL JR., G. E. Overview of cloning mamals by nuclear transplantation. **Proc. Symp on Cloning Mamals by Nuclear Transplantation**. Colorado State University, p.1-4. 1992. (é um artigo de livro falta autor do livro)

SINCLAIR, K. D.; McEVOY, T. G.; MAXFIELD, E. K., et al., Aberrant fetal growth and development after in vitro culture of sheep zygotes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 116, p. 177-186.

SMITH, J. E. Iron metabolism and its diseases. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. New York: Academic Press, 1977. p. 223-240.

SULLIVAN, E. J.; KASINATHAN, S.; KASINATHAN, P.; ROBL, J. M.; COLLAS, P. Cloned calves from chromatin remodeled in vitro. **Biology of Reproduction**. v. 70, p. 146-153, 2004.

TEIXEIRA, U. A. **Estudos do porfirismo de hemoglobina em gado Canchim**. 1980. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1980.

- TENNANT, B.; HAROLD, D.; REINA-GUERRA, M.; KENDRICK, J. W.; LABEN, R. C. Hematological of the neonatal calf erythrocyte and leucocyte values of normal calves. **Cornell Veterinary**, v. 64, p. 516-532, 1975.
- TONHATI, H.; PARANHOS DA COSTA, M. J. R.; QUEIROZ, S. A.; ALBUQUERQUE, L. G. Polimorfismo de hemoglobina, taxas de hemoglobina e hematócrito em bovinos das raças Aberdeen Angus e Brangus. **Ars Veterinária**, v. 8, p. 330-338, 1992.
- VAJTA, G.; LEWIS, I. M.; HYTTTEL, P.; THOUAS, G. A.; TROUNSON, A. O. Somatic cell cloning without micromanipulators. **Cloning**, v. 3, p. 89-95, 2001.
- VAN WAGTENDONK-DE-LEEuw, A. M.; AERTS, B. J.; DEEN DAAS, J. H. Abnormal offspring following in vitro production of bovine preimplantation embryos: a field study. **Theriogenology**, v. 49 p. 883-894, 1998.
- WALKER S, K.; HARTWICH K, M.; SEAMARK, R. F. The production of unusually large offspring following embryo manipulation: concepts and challenges. **Theriogenology**, v. 45, p. 11-120, 1996.
- WELLS, D. N.; MISCA, P. M.; DAY, A. M.; TERVIT, H. R. Production of cloned lambs from an established embryonic cell line: a comparison between in vivo-and-in vitro-matured cytoplasts. **Biology of Reproduction**, v. 57, p. 385-393, 1997.
- WELLS, D. N. Animal cloning: current process, challenges and future prospects. **Revista Brasileira de. Reprodução. Animal**, v. 23, p. 86-97, 1999.
- WELLS, D. N.; FORSYTH J. T.; McMILLAN V, et al. The healt of somatic cell cloned cattle and their offspring. Cloned cattle and their offspring. **Cloning and Stem Cells**, v. 6, p. 101-110, 2004.
- WESTHUSIN, M. E.; LONG, C. R.; SCHIN, T.; HILL, J. R.; LOONEY, C. R.; PRYOR, J. H.; PIEDRAHITA, J. A. Cloning to reproduce desired genotypes. **Theriogenology**, v. 55, p. 35-49, 2001.
- WILLADSEN, S. M.; JANZEN, R. E.; McCALISTER, R. J; SHEA, B. F.; HAMILTON, G; McDERMAND, D. The viability of late morulae and blastocysts produced by nuclear transplantation in cattle. **Theriogenology** v. 35 p. 161-170, 1991.
- WILMUT, I.; SCHNIEKE, A. E.; McWHIR, J.; KIND, A. J.; CAMPBELL, K. H. S. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. **Nature**, v. 385, p. 810-813, 1997.
- WILSON, J. M.; WILLIAMS, J. D.; BONDIOLI, K. R.; et al. Comparison of birth weight and growth characteristics of bovine calves produced by nuclear transfer (cloning), embryo transfer and natural mating. **An. Reprod. Sci.** v. 38, p. 73-83, 1995.
- YOUNG, L. E.; SINCLAIR, K. D.; WILMUT, I. Large offspring syndrome in cattle and sheep. **Rev. Reprod.** v. 3, p. 155-163, 1998.

ANEXOS

ANEXO A - Tabela 13 - Valores individuais do eritrograma do bezerro 6.5, da raça Nelore, produzido por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo laboratório A, nos primeiros 30 dias de vida

CLONE LABORATÓRIO A - Nº 6.5						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	6,43	36	10,85	55,99	16,87	30,13
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	5,64	25	7,84	44,33	13,91	31,38
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	5,07	23	7,42	43,36	14,64	32,26
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	4,06	21	6,81	51,72	16,77	32,43
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	4,22	21	6,96	49,76	16,50	33,15
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	3,52	21	6,75	59,66	19,17	32,14
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	4,39	21	6,57	47,84	14,97	31,30
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	4,16	22	7,07	52,88	16,99	32,12
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	4,54	23	7,28	50,66	16,03	31,65
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	4,27	24	7,56	56,21	17,71	31,50
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	4,47	21	6,89	46,98	15,41	32,81
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	5,16	23	7,00	44,57	13,56	30,42
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	6,72	25	7,63	37,20	11,36	30,53

ANEXO B Tabela 4 - Valores individuais do eritrograma do bezerro 6.6, da raça Nelore, produzido por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo laboratório A, nos primeiros 30 dias de vida

CLONE LABORATÓRIO A - Nº 6.6						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	6,08	30	9,54	49,34	15,69	31,80
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	5,91	26	8,48	43,99	14,35	34,65
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	5,43	26	9,01	47,88	16,59	34,65
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	5,15	26	8,34	50,49	16,19	32,08
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	5,35	26	8,66	48,60	16,18	33,30
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	5,68	25	8,37	44,01	14,74	33,50
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	4,80	22	7,31	45,83	15,24	33,25
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	3,82	21	7,07	54,97	18,50	33,65
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	4,16	21	6,71	50,48	16,14	31,97
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	4,75	21	6,93	44,21	14,58	32,98
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	4,48	22	7,00	49,11	15,62	31,80
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	4,89	22	6,71	44,99	13,73	30,51
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	6,16	24	8,83	38,96	14,34	36,80

ANEXO C - Tabela 15 - Valores individuais do eritrograma do bezerro 7.1, da raça Nelore, produzido por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo laboratório A, nos primeiros 30 dias de vida

CLONE LABORATÓRIO A - Nº7.1						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	6,07	35	10,64	57,66	17,52	30,39
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	5,60	33	10,04	58,93	17,92	30,41
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	5,89	30	9,82	50,93	16,68	32,74
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	4,78	28	9,01	58,58	18,85	32,18
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	5,10	27	9,01	52,94	17,67	33,37
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	4,94	27	8,62	54,66	17,45	31,93
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	4,51	25	8,06	55,43	17,86	32,22
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	4,10	24	7,95	58,54	19,39	33,13
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	4,21	24	7,45	57,01	17,70	31,04
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	4,87	26	8,55	53,39	17,56	32,88
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	5,17	25	7,53	48,36	14,56	30,10
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	6,51	28	8,94	43,01	13,73	31,93
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	7,92	28	8,90	35,35	11,24	31,80

ANEXO D - Tabela 16 - Valores individuais do eritrograma do bezerro 7.3, da raça Nelore, produzido por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo laboratório A, nos primeiros 30 dias de vida

CLONE LABORATÓRIO A - Nº 7.3						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	6,83	37	11,72	54,17	17,16	31,67
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	6,47	35	10,98	54,10	16,97	31,38
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	4,46	25	7,89	56,05	17,70	31,58
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	3,36	18	5,79	53,57	17,23	32,16
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	3,85	20	6,39	51,95	16,58	31,93
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	4,25	19	6,60	44,71	15,52	34,72
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	3,79	20	6,18	52,77	16,29	30,88
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	3,69	18	5,47	48,78	14,83	30,41
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	3,85	18	5,54	46,75	14,40	30,79
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	4,59	17	5,51	37,04	12,00	32,40
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	4,32	16	5,01	37,04	11,60	31,31
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	4,54	17	5,12	37,44	11,28	30,13
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	4,99	20	6,11	40,08	12,23	30,53

ANEXO E - Tabela 17 - Valores individuais do eritrograma do bezerro 8.2, da raça Nelore, produzido por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo laboratório A, nos primeiros 30 dias de vida

CLONE LABORATÓRIO A - Nº 8.2						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	6,12	41	12,61	66,99	20,61	30,77
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	5,87	35	11,17	59,63	19,02	31,90
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	5,48	34	10,81	62,04	19,73	31,80
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	5,20	37	11,59	71,15	22,29	31,32
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	5,14	33	10,18	64,20	19,80	30,84
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	5,36	33	10,85	61,57	20,24	32,87
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	4,96	33	10,74	66,53	21,66	32,55
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	5,52	33	10,95	59,78	19,84	33,19
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	4,87	29	9,26	59,55	19,00	31,92
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	6,45	29	9,00	44,90	13,95	31,03
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	4,91	27	8,16	46,84	16,62	35,49
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	4,99	23	8,02	50,10	16,07	32,08
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	5,59	25	8,27	46,51	14,79	31,80

ANEXO F - Tabela 18 - Valores individuais do eritrograma do bezerro M1, da raça Nelore, produzido por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo laboratório B, nos primeiros 30 dias de vida

CLONE LABORATÓRIO B - Nº M1						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	7,08	38	11,73	53,67	16,57	30,87
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	6,24	32	9,58	51,28	15,36	29,95
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	5,54	32	10,03	57,76	18,11	31,36
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	4,99	33	10,90	66,13	21,84	33,03
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	6,16	33	11,21	53,57	18,20	33,97
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	6,27	33	10,85	52,63	17,31	32,88
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	7,73	33	10,67	42,69	13,81	32,34
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	6,10	29	9,72	47,54	15,93	33,50
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	5,29	32	9,96	60,49	18,84	31,14
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	4,84	30	9,50	61,98	19,63	31,68
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	8,56	38	12,76	44,39	14,90	33,57
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	7,50	37	11,38	49,33	15,17	30,75
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	8,54	41	12,55	48,01	14,01	30,61

ANEXO G - Tabela 19 - Valores individuais do eritrograma do bezerro M2, da raça Nelore, produzido por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo laboratório B, nos primeiros 30 dias de vida

CLONE LABORATÓRIO B - Nº M2						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	5,83	36	11,11	61,75	19,05	30,85
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	6,36	36	11,56	56,60	18,17	32,10
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	5,87	35	11,14	59,63	18,98	31,83
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	5,96	37	10,90	62,08	18,29	29,46
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	5,44	32	10,80	58,82	19,84	33,73
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	7,06	32	10,28	45,33	14,57	32,13
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	5,67	33	10,21	58,20	18,01	30,95
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	6,68	32	10,21	47,90	15,29	31,91
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	6,92	35	10,64	50,58	15,37	30,39
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	6,30	32	10,25	50,79	16,27	32,03
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	7,52	42	12,93	55,85	17,20	30,79
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	7,84	41	12,48	52,30	15,92	30,44
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	7,44	34	11,03	45,70	14,83	32,45

ANEXO H - Tabela 20 - Valores individuais do eritrograma do bezerro M3, da raça Nelore, produzido por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo laboratório B, nos primeiros 30 dias de vida

CLONE LABORATÓRIO B - Nº M3						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	4,44	24	7,16	54,05	16,13	29,84
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	3,96	20	5,95	50,51	15,03	29,76
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	3,18	16	4,98	50,31	15,67	31,14
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	3,49	17	5,57	48,71	15,96	32,76
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	4,02	18	5,40	44,78	13,43	29,98
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	3,98	18	5,71	45,23	14,34	31,72
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	3,74	18	5,04	48,13	13,46	27,97
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	4,36	18	5,74	41,28	13,17	31,91
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	5,05	18	5,74	35,64	11,37	31,91
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	5,53	26	7,73	47,02	13,98	29,73
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	6,36	35	10,24	55,03	16,10	29,26
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	6,39	35	10,45	54,77	16,35	29,85
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	7,55	38	11,41	50,33	15,12	30,03

ANEXO I - Tabela 21 - Valores individuais do eritrograma do bezerro M5, da raça Nelore, produzido por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo laboratório B, nos primeiros 30 dias de vida

CLONE LABORATÓRIO B - Nº M5						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	6,00	48	15,61	80,00	26,01	32,51
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	6,38	47	14,80	73,67	23,20	31,49
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	7,85	45	14,01	57,32	17,85	31,14
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	5,96	47	14,95	78,86	25,08	31,80
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	7,03	47	15,45	66,86	21,97	32,87
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	5,94	45	14,55	75,76	24,50	32,34
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	6,39	44	14,34	68,86	22,44	32,58
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	6,62	45	14,55	67,98	21,98	32,34
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	7,34	45	14,70	61,31	20,02	32,66
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	7,34	45	14,28	61,31	19,45	31,72
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	6,18	50	15,17	80,91	24,55	30,34
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	6,66	41	12,83	61,56	19,26	31,29
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	7,05	41	12,21	58,16	17,31	29,77

ANEXO J - Tabela 22 - Valores individuais do eritrograma do bezerro M6, da raça Nelore, produzido por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo laboratório B, nos primeiros 30 dias de vida

CLONE LABORATÓRIO B - Nº M6						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	5,00	33	9,93	66,00	19,86	30,09
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	5,16	30	9,41	58,14	18,24	31,37
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	4,79	29	9,00	60,54	18,78	31,02
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	4,45	30	9,71	67,42	21,83	32,38
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	4,48	28	9,75	62,50	21,76	34,82
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	5,38	29	9,25	53,90	17,19	31,89
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	4,35	26	8,24	59,77	18,94	31,70
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	4,67	27	8,79	57,82	18,83	32,57
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	5,10	29	9,24	56,86	18,12	31,87
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	5,43	31	9,38	57,09	17,27	30,25
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	5,07	30	8,34	59,17	16,46	27,81
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	5,23	28	8,03	53,54	15,36	28,69
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	5,65	28	8,17	49,56	14,46	29,19

ANEXO K - Tabela 23 - Valores individuais do eritrograma do bezerro M7, da raça Nelore, produzido por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo laboratório B, nos primeiros 30 dias de vida

CLONE LABORATÓRIO B - Nº M7						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	4,69	34	10,65	72,49	22,70	31,31
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	4,99	31	10,65	62,12	21,33	34,34
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	4,99	30	9,78	60,12	19,61	32,61
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	4,91	33	9,71	67,21	19,78	29,43
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	4,39	34	10,39	77,45	23,68	30,57
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	5,41	29	10,90	53,60	20,14	37,57
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	5,23	28	10,89	53,54	20,82	38,89
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	4,76	28	10,90	58,82	22,89	38,91
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	4,26	27	9,10	63,38	21,37	33,71
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	6,52	40	12,97	61,35	19,90	32,44
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	5,50	33	10,14	60,00	18,43	30,72
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	5,01	32	10,14	63,87	20,23	31,68
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	7,13	41	12,07	57,50	16,93	29,43

ANEXO L - Tabela 24 - Valores individuais do eritrograma do bezerro M8, da raça Nelore, produzido por meio de Transferência nuclear de células somáticas pelo laboratório B, nos primeiros 30 dias de vida

CLONE LABORATÓRIO B - Nº M8						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	5,06	35	10,36	69,17	20,47	29,59
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	5,30	34	10,75	64,15	20,29	31,62
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	4,13	35	10,93	84,75	26,47	31,23
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	3,96	32	10,00	80,81	25,25	31,25
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	5,59	34	10,86	60,82	19,43	31,94
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	4,74	29	10,52	61,18	22,19	36,28
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	4,96	33	9,46	66,53	19,08	28,67
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	5,05	32	10,61	63,37	21,01	33,15
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	3,73	26	8,64	69,71	23,16	33,22
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	5,20	26	8,78	50,00	16,89	33,77
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	5,20	30	9,28	57,69	17,84	30,92
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	5,65	31	9,31	54,87	16,48	30,03
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	6,76	32	9,52	47,34	14,08	29,74

ANEXO M - Tabela 25 - Valores individuais do eritrograma do bezerro FIV 1, da raça Nelore, produzido por meio de fertilização *in vitro*, nos primeiros 30 dias de vida

FIV - N° 1						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	5,81	32	9,96	55,08	17,15	31,14
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	5,07	28	8,82	55,23	17,39	31,49
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	4,07	21	6,27	51,60	15,41	29,87
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	3,96	21	6,59	53,03	16,65	31,40
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	3,80	26	7,63	68,42	20,09	29,36
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	4,60	29	7,71	63,04	16,75	26,57
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	4,17	25	8,06	59,95	19,34	32,26
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	4,64	25	7,63	53,88	16,45	30,54
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	5,60	28	8,71	50,00	15,55	31,10
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	6,07	29	9,28	47,78	15,29	32,01
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	7,29	31	9,96	42,52	13,67	32,14
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	7,90	36	11,60	45,57	14,68	32,21
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	8,47	42	12,86	49,59	15,19	30,62

ANEXO N - Tabela 26 - Valores individuais do eritrograma do bezerro FIV 2, da raça Nelore, produzido por meio de fertilização *in vitro*, nos primeiros 30 dias de vida

FIV - Nº 2						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	7,23	44	13,30	60,86	18,39	30,22
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	7,62	42	12,72	55,12	16,70	30,30
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	7,43	40	13,08	53,84	17,61	32,71
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	7,58	42	13,23	55,41	17,45	31,49
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	7,11	41	13,33	57,67	18,75	32,52
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	7,20	39	12,44	54,17	17,27	31,89
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	7,13	39	11,94	54,70	16,74	30,60
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	7,11	38	11,83	53,45	16,63	31,12
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	7,07	38	12,26	53,75	17,34	32,26
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	6,98	39	11,90	55,87	17,05	30,51
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	7,12	38	12,23	53,37	17,18	32,19
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	7,70	39	12,59	50,65	16,35	32,28
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	7,30	41	12,83	56,16	17,57	31,29

ANEXO O - Tabela 27 - Valores individuais do eritrograma do bezerro FIV 3, da raça Nelore, produzido por meio de fertilização *in vitro*, nos primeiros 30 dias de vida

FIV - Nº3						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	7,52	42	13,01	55,85	17,30	30,98
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	7,25	44	14,91	60,69	20,57	33,89
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	7,89	44	13,69	55,77	17,35	31,12
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	7,29	42	12,58	57,61	17,26	29,95
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	7,34	43	13,84	58,58	18,85	32,17
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	7,45	42	13,73	56,38	18,43	32,68
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	7,29	40	13,23	54,87	18,14	33,06
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	7,88	39	12,72	49,49	16,15	32,63
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	6,69	39	12,69	58,30	18,97	32,53
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	8,17	40	13,15	48,96	16,10	32,89
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	7,54	34	11,03	45,09	14,63	32,44
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	7,39	36	11,56	48,71	15,64	32,11
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	8,32	39	11,34	46,88	13,63	29,09

ANEXO P - Tabela 28 - Valores individuais do eritrograma do bezerro FIV 4, da raça Nelore, produzido por meio de fertilização *in vitro*, nos primeiros 30 dias de vida

FIV - Nº 4						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	5,84	32	9,68	54,79	16,57	30,24
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	5,24	29	9,32	55,34	17,78	32,13
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	4,81	29	8,14	60,29	16,91	28,06
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	5,11	26	8,53	50,88	16,69	32,81
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	5,37	28	9,10	52,14	16,95	32,51
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	4,72	27	8,60	57,20	18,22	31,86
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	4,77	26	8,35	54,51	17,51	32,12
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	4,38	25	8,32	57,08	18,98	33,26
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	5,57	28	9,10	50,27	16,34	32,51
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	5,69	29	9,57	50,97	16,82	33,00
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	7,09	39	11,99	55,01	16,90	30,73
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	7,83	39	12,41	49,81	15,85	31,82
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	7,51	36	10,86	47,94	14,46	30,17

ANEXO Q - Tabela 29 - Valores individuais do eritrograma do bezerro MN 1, da raça Nelore, produzido por meio de monta natural, nos primeiros 30 dias de vida

MONTA NATURAL - Nº 1						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida						
Imediatamente após o nascimento	7,12	40	11,86	56,18	16,66	29,66
1º dia de vida						
6 horas após o nascimento	7,03	39	12,33	55,48	17,54	31,61
1º dia de vida						
12 horas após o nascimento	6,18	37	11,40	59,87	18,44	30,80
1º dia de vida						
24 horas após o nascimento	6,76	35	10,54	51,78	15,59	30,11
2º dia de vida						
48 horas após o nascimento	6,48	35	10,72	54,01	16,54	30,62
3º dia de vida						
72 horas após o nascimento	6,30	30	9,71	47,62	15,42	32,38
4º dia de vida						
96 horas após o nascimento	5,66	32	10,36	56,54	18,30	32,37
5º dia de vida						
120 horas após o nascimento	6,81	32	10,50	46,99	15,42	32,82
7º dia de vida						
168 horas após o nascimento	6,75	35	10,22	51,85	15,13	29,19
10º dia de vida						
240 horas após o nascimento	7,26	33	10,87	45,45	14,97	32,92
15º dia de vida						
360 horas após o nascimento	8,70	36	11,30	41,38	12,99	31,39
20º dia de vida						
480 horas após o nascimento	9,27	36	11,77	38,83	12,70	32,70
30º dia de vida						
720 horas após o nascimento	9,17	33	10,00	35,99	10,91	30,30

ANEXO R - Tabela 30 - Valores individuais do eritrograma do bezerro MN 2, da raça Nelore, produzido por meio de monta natural, nos primeiros 30 dias de vida

MONTA NATURAL - Nº 2						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	8,06	38	11,11	47,15	13,78	29,23
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	7,09	38	13,29	53,60	18,74	34,97
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	5,67	37	11,35	65,26	20,02	30,67
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	6,48	35	11,18	54,01	17,25	31,93
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	5,81	36	11,14	61,96	19,18	30,95
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	6,69	38	11,90	56,80	17,79	31,32
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	6,48	35	10,69	54,01	16,50	30,55
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	7,09	33	11,28	46,54	15,91	34,18
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	6,51	36	11,66	55,30	17,91	32,39
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	7,50	37	11,20	49,33	14,93	30,27
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	8,95	35	11,20	39,11	12,51	32,00
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	8,05	37	11,13	45,96	13,83	30,09
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	8,55	39	12,10	45,61	14,15	31,03

ANEXO S - Tabela 31- Valores individuais do eritrograma do bezerro MN 3, da raça Nelore, produzido por meio de monta natural, nos primeiros 30 dias de vida

MONTA NATURAL - Nº 3						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	6,87	24	7,61	34,93	11,08	31,72
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	4,84	24	7,79	49,59	16,08	32,44
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	5,30	24	7,51	45,28	14,17	31,28
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	4,78	23	7,16	48,12	14,98	31,14
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	4,08	21	6,57	51,47	16,11	31,30
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	4,49	22	7,16	49,00	15,95	32,55
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	5,05	22	6,60	43,56	13,07	30,00
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	5,25	22	6,60	41,90	12,57	30,00
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	4,60	22	7,40	47,83	16,09	33,64
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	4,55	22	7,00	48,35	15,38	31,82
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	4,57	26	9,15	56,89	20,02	35,18
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	6,35	34	11,30	53,54	17,80	33,24
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	7,15	36	12,00	50,35	16,78	33,33

ANEXO T - Tabela 32 - Valores individuais do eritrograma do bezerro MN 4, da raça Nelore, produzido por meio de monta natural, nos primeiros 30 dias de vida

MONTA NATURAL - Nº 4						
Grupos Experimentais	Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	Volume Globular (%)	Hemoglobina (g/dl)	VCM (μ ³)	HCM (pg)	CHCM (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	6,63	37	11,14	55,81	16,80	30,11
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	6,53	34	10,00	52,07	15,31	29,41
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	5,37	30	9,27	55,87	17,27	30,91
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	6,41	29	8,89	45,24	13,87	30,66
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	6,30	30	9,00	47,62	14,29	30,00
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	7,10	30	9,00	42,25	12,68	30,00
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	5,80	29	9,00	50,00	15,52	31,03
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	5,65	28	8,80	49,56	15,58	31,43
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	6,60	29	8,70	43,94	13,18	30,00
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	6,60	30	9,00	45,45	13,64	30,00
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	6,63	32	10,43	48,27	15,72	32,58
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	9,40	42	13,60	44,68	14,47	32,38
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	10,07	39	12,30	38,73	12,21	31,54

ANEXO U - Tabela 33 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina de bezerros obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone Método A - Nº 6.5) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	222,06	431,12	51,51
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	76,26	510,63	14,93
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	40,26	396,87	10,14
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	13,34	223,13	5,98
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	86,27	411,62	20,96
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	77,61	515,58	15,05
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	33,19	523,17	6,34
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	10,38	501,56	2,07
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	39,44	531,03	7,43
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	16,80	505,95	3,32
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	12,53	503,43	2,49
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	35,13	346,31	10,14
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	97,92	423,78	23,11

ANEXO V - Tabela 34 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone Método A - Nº 6.6) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	95,04	538,21	17,66
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	66,67	495,41	13,46
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	69,48	480,26	14,47
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	53,60	489,14	10,96
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	21,24	139,87	15,19
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	21,04	405,97	5,18
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	10,81	501,58	2,13
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	113,32	604,61	18,74
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	112,18	594,56	18,87
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	13,91	375,85	3,70
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	56,31	383,89	14,67
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	110,49	598,54	18,46
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	96	581,8	17

ANEXO W - Tabela 35 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone Método A - N° 7.1) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	52,38	415,95	12,59
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	36,87	371,42	9,93
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	23,59	384,84	6,13
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	274,38	405,45	67,67
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	284	442,01	64
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	306,06	420,65	72,76
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	46,13	514,38	8,97
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	18,27	331,04	5,52
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	10,98	318,97	3,44
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	22,63	304,21	7,44
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	13,58	496,29	2,74
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	34,03	238,22	14,29
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	35,68	319,09	11,18

ANEXO X - Tabela 36 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone Método A - Nº 7.3) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	213,19	515,06	41,39
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	130,88	441,47	29,65
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	95,36	432,61	22,04
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	18,72	506,78	3,69
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	65,15	387,71	16,80
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	16,33	362,11	4,51
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	15,63	352,19	4,44
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	12,32	341,82	3,60
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	33,68	316,63	10,64
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	12,78	270,46	4,73
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	5,66	297,94	1,90
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	25,82	335,97	7,69
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	8,90	301,52	2,95

ANEXO Y - Tabela 37- Valores individuais do ferro sérico capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone Método A - Nº 8.2) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	127,71	386,65	33,03
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	39,92	461,00	8,66
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	45,30	355,04	12,76
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	81,82	326,67	25,05
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	70,50	290,12	24,30
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	57,77	377,79	15,29
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	32,57	454,15	7,17
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	14,13	444,95	3,18
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	40,47	518,32	7,81
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	7,45	357,35	2,08
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	14,59	497,21	2,93
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	130	593,92	22
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	112	575,77	19

ANEXO Z - Tabela 38 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone Método B - N° M1) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	85,28	539,31	15,81
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	117,29	550,20	21,32
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	72,56	475,64	15,26
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	106,14	337,53	31,45
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	125,47	396,86	31,62
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	47,11	509,16	9,25
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	40,11	530,18	7,57
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	48,00	507,80	9,45
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	326,47	570,59	57,22
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	98,59	587,07	16,79
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	92,92	574,28	16,18
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	136,69	540,27	25,30
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	106,28	504,11	21,08

ANEXO Aa - Tabela 39 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone Método B - N° M2) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	118,46	496,53	23,86
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	43,90	409,31	10,73
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	49,81	501,92	9,92
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	52,94	412,74	12,83
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	153,03	419,66	36,47
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	96,05	453,26	21,19
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	166,39	484,35	34,35
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	42,67	363,64	11,73
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	99,82	588,05	16,97
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	58,72	329,15	17,84
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	365,88	441,93	82,79
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	146,18	515,83	28,34
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	132,50	515,36	25,71

ANEXO Ab - Tabela 40 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone Método B - N° M3) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	47,61	512,75	9,29
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	40,35	383,41	10,52
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	51,91	490,08	10,59
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	74,43	454,57	16,37
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	111,21	435,35	25,54
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	124,50	445,20	27,96
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	157,84	471,08	33,51
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	28,15	316,90	8,88
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	61,88	550,39	11,24
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	221,11	507,93	43,53
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	86,03	572,52	15,03
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	211,97	478,06	44,34
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	38,48	296,28	12,99

ANEXO Ac - Tabela 41 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone Método B - N° M5) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	86,29	470,15	18,35
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	31,03	374,54	8,28
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	126,67	396,26	31,97
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	120,27	318,44	37,77
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	104,34	410,50	25,42
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	69,15	371,50	18,61
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	31,85	502,74	6,34
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	56,63	520,81	10,87
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	114,58	476,54	24,04
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	83,14	507,13	16,39
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	119,99	572,99	20,94
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	112,12	513,56	21,83
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	92,78	576,94	16,08

ANEXO Ad - Tabela 42 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone Método B - N° M6) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	90,01	429,53	20,96
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	40,25	395,57	10,18
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	72,21	426,77	16,92
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	57,50	348,61	16,49
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	194,23	410,72	47,29
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	108,16	523,95	20,64
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	29,69	491,83	6,04
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	45,46	529,54	8,58
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	52,41	538,74	9,73
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	23,56	290,46	8,11
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	48,43	533,39	9,08
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	32,78	492,90	6,65
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	33,64	505,91	6,65

ANEXO Ae - Tabela 43 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone Método B - N° M7) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	122,23	496,64	24,61
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	79,96	423,95	18,86
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	82,75	433,07	19,11
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	95,77	360,53	26,56
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	172,58	397,62	43,40
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	41,26	463,45	8,90
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	21,76	503,64	4,32
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	40,20	530,25	7,58
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	106,43	567,05	18,77
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	180,40	489,32	36,87
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	222,57	558,88	39,82
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	146,20	517,13	28,27
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	42,67	501,99	8,50

ANEXO Af - Tabela 44 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone Método B - N° M8) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	79,86	392,99	20,32
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	54,56	428,72	12,73
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	82,88	422,14	19,63
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	58,81	350,51	16,78
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	157,65	364,77	43,22
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	113,87	472,90	24,08
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	37,50	90,11	41,62
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	38,00	488,45	7,78
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	32,68	479,28	6,82
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	32,66	519,44	6,29
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	45,29	523,48	8,65
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	20,24	502,23	4,03
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	32,15	304,06	10,57

ANEXO Ag - Tabela 45 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por fertilização in vitro – FIV (Nº 1) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	246,25	410,01	60,06
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	149,34	372,71	40,07
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	53,10	388,30	13,67
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	78,25	371,40	21,07
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	41,97	522,10	8,04
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	29,05	437,77	6,64
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	45,03	524,14	8,59
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	19,55	413,93	4,72
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	132,82	621,31	21,38
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	39,69	435,66	9,11
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	56,42	515,11	10,95
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	113,32	503,60	22,50
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	120,80	470,11	25,70

ANEXO Ah - Tabela 46 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por fertilização in vitro – FIV (Nº 2) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	118,23	386,54	30,59
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	37,76	340,52	11,09
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	45,86	346,26	13,24
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	75,50	289,12	26,11
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	98,82	362,46	27,26
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	93,57	433,56	21,58
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	178,50	477,23	37,40
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	169,84	521,83	32,55
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	251,99	583,56	43,18
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	348,49	652,53	53,41
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	344,04	670,98	51,27
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	211,34	635,99	33,23
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	208,27	645,08	32,29

ANEXO Ai - Tabela 47 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina em bezerras da raça Nelore obtidos por fertilização in vitro – FIV (Nº 3) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	123,10	418,04	29,45
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	46,83	386,99	12,10
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	32,00	379,40	8,43
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	127,29	352,39	36,12
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	74,32	438,94	16,93
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	85,40	458,13	18,64
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	152,60	451,20	33,82
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	77,78	429,76	18,10
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	143,14	526,80	27,17
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	58,57	338,22	17,32
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	131,38	557,66	23,56
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	68,23	506,21	13,48
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	82,29	545,07	15,10

ANEXO Aj - Tabela 48 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por fertilização in vitro – FIV (Nº 4) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	153,01	363,89	42,05
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	41,01	334,70	12,25
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	61,37	340,69	18,01
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	51,54	280,31	18,39
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	71,81	353,66	20,30
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	76,49	432,19	17,70
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	29,72	395,07	7,52
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	129,97	451,55	28,78
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	147,18	540,78	27,22
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	80,91	546,85	14,80
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	55,99	534,95	10,47
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	136,40	429,42	31,76
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	261,67	377,10	69,39

ANEXO Ak - Tabela 49 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por monta natural (Nº 1) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	235,65	307,38	76,66
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	169,38	477,97	35,44
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	121,25	476,16	25,46
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	61,64	383,03	16,09
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	93,62	485,52	19,28
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	39,90	407,08	9,80
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	16,84	369,67	4,56
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	16,15	347,81	4,64
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	76,78	569,19	13,49
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	279,14	545,67	51,16
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	282,57	538,86	52,44
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	205,73	494,48	41,61
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	200,00	494,62	40,44

ANEXO AI - Tabela 50 -

Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por monta natural (Nº 2) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	328,77	615,45	53,42
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	202,11	394,99	51,17
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	109,66	402,76	27,23
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	49,43	322,94	15,31
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	47,50	425,02	11,18
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	64,11	500,61	12,81
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	31,35	518,66	6,04
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	76,16	557,13	13,67
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	103,56	556,37	18,61
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	51,40	449,88	11,43
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	96,43	460,89	20,92
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	119,17	538,44	22,13
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	232,05	397,71	58,35

ANEXO Am - Tabela 51 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por monta natural (Nº 3) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	146,05	434,18	33,64
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	144,34	475,60	30,35
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	151,07	431,72	34,99
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	134,12	351,41	38,17
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	295,11	413,80	71,32
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	403,97	387,20	104,33
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	333,11	385,72	86,36
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	389,45	341,30	114,11
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	391,08	338,26	115,62
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	352,20	320,21	109,99
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	295,10	594,82	49,61
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	201,38	378,57	53,19
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	139,68	371,66	37,58

ANEXO An - Tabela 52 - Valores individuais do ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação da transferrina obtidos por monta natural (Nº 4) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Ferro Sérico (µg/dl)	Capacidade Total de Ligação do Ferro (µg/dl)	Índice de Saturação da Transferrina (%)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	208,03	506,37	41,08
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	182,48	428,85	42,55
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	132,61	388,42	34,14
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	71,88	347,73	20,67
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	32,23	352,97	9,13
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	51,99	375,39	13,85
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	67,98	371,65	18,29
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	38,85	406,66	9,55
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	75,51	568,11	13,29
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	67,28	539,86	12,46
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	353,85	420,64	84,12
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	111,02	425,38	26,10
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	120,27	377,48	31,86

ANEXO Ao - Tabela 53 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone A - Nº 6.5) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	3,23	4,01	3,61
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	2,17	2,60	3,07
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	2,05	2,32	3,05
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	1,87	2,47	2,46
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	2,33	2,49	2,14
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	2,21	2,46	2,08
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	2,12	2,42	2,03
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	2,14	2,80	2,13
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	2,38	2,78	2,12
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	2,34	2,99	2,23
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	2,12	2,72	2,04
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	2,28	2,89	1,83
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	3,11	3,26	1,26

ANEXO Ap - Tabela 54 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone A - Nº 6.6) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	2,84	3,53	3,17
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	2,42	3,29	2,77
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	2,84	3,43	2,74
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	2,45	3,47	2,42
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	2,54	3,67	2,46
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	2,45	2,96	2,96
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	2,17	2,89	2,25
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	2,19	2,73	2,15
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	2,11	2,60	2,00
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	2,20	2,61	2,11
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	2,15	2,67	2,18
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	2,17	2,67	1,86
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	2,92	3,58	2,33

ANEXO Aq - Tabela 55 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone A - N° 7.1) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	4,09	4,73	1,82
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	2,57	5,69	1,78
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	2,66	5,54	1,62
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	2,07	5,14	1,80
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	2,18	5,04	1,78
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	2,14	4,55	1,93
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	2,08	4,29	1,69
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	1,85	4,67	1,43
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	1,73	4,17	1,55
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	2,38	4,36	1,81
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	2,61	3,89	1,03
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	3,67	4,47	0,80
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	4,05	4,47	0,38

ANEXO Ar - Tabela 56 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb-B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone A - Nº 7..3) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	2,31	7,01	2,41
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	2,03	5,92	3,03
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	1,60	4,21	2,08
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	1,54	3,21	1,05
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	1,71	3,50	1,19
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	1,77	3,61	1,22
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	1,89	3,24	1,04
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	1,63	2,86	0,99
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	1,71	2,98	0,85
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	1,81	2,92	0,78
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	1,79	2,61	0,61
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	1,65	2,74	0,72
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	1,60	3,09	1,42

ANEXO As- Tabela 57 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone A - Nº 8.2) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	2,57	7,18	2,86
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	3,47	5,15	2,54
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	3,12	5,33	2,36
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	3,03	6,00	2,56
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	3,08	5,48	1,63
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	3,44	5,48	1,93
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	3,45	6,14	1,14
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	3,84	6,19	0,93
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	3,11	4,82	1,33
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	2,98	5,18	0,83
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	2,63	4,42	1,11
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	2,34	4,27	1,41
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	2,40	4,41	1,46

ANEXO At - Tabela 58 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone B - Nº 1) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	0,00	8,05	3,68
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	0,00	7,34	2,24
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	0,00	8,62	1,41
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	0,00	9,94	0,95
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	0,00	10,06	1,15
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	0,00	9,62	1,23
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	0,00	8,10	2,57
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	0,00	6,13	3,58
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	0,00	6,81	3,14
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	0,00	7,36	2,14
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	0,00	11,65	1,11
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	0,00	10,39	0,98
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	0,00	11,38	1,17

ANEXO Au - Tabela 59 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone B - Nº 2) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	0,00	7,45	3,66
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	0,00	7,29	4,27
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	0,00	7,37	3,76
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	0,00	6,95	3,95
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	0,00	7,54	3,26
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	0,00	6,54	3,74
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	0,00	6,44	3,77
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	0,00	6,51	3,69
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	0,00	6,94	3,70
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	0,00	7,52	2,73
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	0,00	10,30	2,63
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	0,00	10,36	2,12
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	0,00	9,31	1,72

ANEXO Av - Tabela 60 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone B - Nº 3) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	0,00	4,93	2,23
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	0,00	4,32	1,63
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	0,00	3,10	1,88
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	0,00	2,84	2,73
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	0,00	3,47	1,93
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	0,00	3,75	1,95
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	0,00	3,56	1,48
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	0,00	3,94	1,80
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	0,00	4,40	1,34
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	0,00	6,64	1,08
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	0,00	9,34	0,90
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	0,00	9,38	1,07
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	0,00	10,11	1,29

ANEXO Aw- Tabela 61 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerras da raça Nelore obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone B - Nº 5) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	12,12	0,00	3,49
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	11,48	0,00	3,32
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	10,05	0,00	3,96
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	10,44	0,00	4,51
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	10,62	0,00	4,83
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	10,45	0,00	4,10
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	10,16	0,00	4,17
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	13,16	0,00	1,38
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	12,15	0,00	2,55
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	12,28	0,00	2,00
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	13,65	0,00	1,52
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	11,43	0,00	1,40
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	11,48	0,00	0,72

ANEXO Ax - Tabela 62 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezeros da raça Nelore obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone B - Nº 6) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	8,64	0,00	1,29
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	7,70	0,00	1,71
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	6,89	0,00	2,10
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	7,44	0,00	2,27
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	7,61	0,00	2,14
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	6,24	0,00	3,01
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	7,08	0,00	1,16
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	6,97	0,00	1,81
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	6,78	0,00	2,46
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	6,63	0,00	2,75
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	5,20	0,00	3,14
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	5,12	0,00	2,91
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	4,80	0,00	3,37

ANEXO Ay - Tabela 63 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb-B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerras da raça Nelore obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone B - Nº 7) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	8,16	0,00	2,49
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	8,12	0,00	2,53
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	7,36	0,00	2,41
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	6,48	0,00	3,23
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	6,29	0,00	4,10
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	7,19	0,00	3,71
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	7,30	0,00	3,59
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	9,89	0,00	1,01
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	8,30	0,00	0,80
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	10,39	0,00	2,58
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	8,66	0,00	1,47
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	8,85	0,00	1,29
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	10,02	0,00	2,05

ANEXO Az - Tabela 64 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb-B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por transferência nuclear de células somáticas (Clone B - Nº 8) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	0,00	7,63	2,73
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	0,00	7,69	3,06
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	0,00	7,45	3,48
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	0,00	6,16	3,84
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	0,00	7,68	3,18
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	0,00	6,80	3,72
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	0,00	6,35	3,11
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	0,00	7,99	2,61
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	0,00	6,37	2,27
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	0,00	5,91	2,87
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	0,00	6,71	2,57
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	0,00	7,37	1,94
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	0,00	6,48	3,04

ANEXO Ba - Tabela 65 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb-B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por Fertilização *in vitro* (Nº 1) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	4,70	0,00	5,26
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	4,07	0,00	4,75
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	2,49	0,00	3,78
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	2,57	0,00	4,02
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	3,40	0,00	4,23
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	3,71	0,00	4,00
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	4,26	0,00	3,80
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	4,21	0,00	3,42
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	6,15	0,00	2,56
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	7,25	0,00	2,02
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	8,54	0,00	1,42
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	10,78	0,00	0,82
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	11,13	0,00	1,73

ANEXO Bb - Tabela 66 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb-B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por Fertilização *in vitro* (Nº 2) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	2,21	10,07	1,02
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	3,39	8,02	1,32
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	3,22	8,59	1,27
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	3,59	8,30	1,33
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	3,34	8,85	1,15
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	2,85	8,05	1,53
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	3,03	7,11	1,80
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	2,58	7,62	1,63
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	3,76	7,19	1,30
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	4,24	6,95	0,71
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	4,97	6,62	0,64
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	5,10	6,73	0,76
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	4,62	6,99	1,22

ANEXO Bc - Tabela 67 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerras da raça Nelore obtidos por Fertilização *in vitro* (Nº 3) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	3,81	7,44	1,76
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	3,93	8,86	2,11
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	3,69	7,97	2,03
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	3,07	7,35	2,16
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	3,45	8,40	1,99
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	3,64	8,06	2,03
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	3,51	7,90	1,82
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	3,29	7,68	1,75
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	3,23	7,39	2,07
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	3,87	7,31	1,96
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	3,30	6,08	1,65
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	3,96	6,33	1,27
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	4,44	5,82	1,08

ANEXO Bd - Tabela 68 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por Fertilização *in vitro* (Nº 4) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	1,39	4,65	3,63
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	1,37	4,21	3,74
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	1,17	3,60	3,37
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	1,64	3,83	3,06
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	1,85	4,36	2,88
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	2,08	4,52	2,00
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	1,48	3,91	2,96
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	0,95	4,37	3,00
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	2,02	4,89	2,19
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	2,47	5,33	1,78
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	4,74	6,35	0,90
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	5,18	5,99	1,23
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	4,50	5,47	0,89

ANEXO Be - Tabela 69 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por Monta Natural (Nº1) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	8,83	0,00	3,03
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	9,97	0,00	2,36
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	7,88	0,00	3,52
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	6,47	0,00	4,07
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	7,13	0,00	3,59
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	6,33	0,00	3,38
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	7,07	0,00	3,29
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	5,96	0,00	4,53
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	6,92	0,00	3,30
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	8,63	0,00	2,23
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	8,27	0,00	3,03
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	9,52	0,00	2,25
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	8,09	0,00	1,91

ANEXO Bf - Tabela 70 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por Monta Natural (Nº2) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	2,74	5,30	3,07
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	4,12	5,96	3,21
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	3,59	5,24	2,52
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	3,24	5,76	2,18
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	3,90	5,33	1,91
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	3,04	5,98	2,88
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	3,15	4,78	2,76
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	3,98	4,84	2,47
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	4,68	5,52	1,46
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	4,52	5,33	1,35
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	4,85	5,16	1,19
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	4,37	5,63	1,13
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	4,75	6,12	1,23

ANEXO Bg - Tabela 71 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerros da raça Nelore obtidos por Monta Natural (Nº3) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	3,93	0,00	3,68
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	5,33	0,00	2,45
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	4,34	0,00	3,17
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	4,27	0,00	2,89
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	2,82	0,00	3,75
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	2,82	0,00	4,34
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	3,31	0,00	3,29
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	3,29	0,00	3,31
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	4,28	0,00	3,11
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	4,35	0,00	2,65
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	5,26	0,00	3,88
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	8,32	0,00	2,98
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	9,07	0,00	2,93

ANEXO Bh - Tabela 72 - Valores individuais das taxas de Hemoglobina Tipo A (Hb-A), Tipo B (Hb- B) e Tipo Fetal (Hb-fetal) em bezerras da raça Nelore obtidos por Monta Natural (Nº4) nos primeiros 30 dias de vida

Grupos Experimentais	Hb-A (g/dl)	Hb-B (g/dl)	Hb-F (g/dl)
1º dia de vida Imediatamente após o nascimento	3,46	3,45	4,23
1º dia de vida 6 horas após o nascimento	3,66	2,71	3,63
1º dia de vida 12 horas após o nascimento	4,25	2,06	2,95
1º dia de vida 24 horas após o nascimento	4,06	2,18	2,65
2º dia de vida 48 horas após o nascimento	3,74	2,43	2,83
3º dia de vida 72 horas após o nascimento	2,79	2,39	3,81
4º dia de vida 96 horas após o nascimento	4,34	1,80	2,85
5º dia de vida 120 horas após o nascimento	4,11	1,67	3,02
7º dia de vida 168 horas após o nascimento	4,70	1,40	2,59
10º dia de vida 240 horas após o nascimento	6,54	1,02	1,44
15º dia de vida 360 horas após o nascimento	7,73	1,08	1,61
20º dia de vida 480 horas após o nascimento	10,38	1,51	1,71
30º dia de vida 720 horas após o nascimento	9,38	1,37	1,54