MARCELO ARNE FECKINGHAUS

**Influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina
(rBST) no lipidograma e composição do leite de bubalinos da raça
Murrah em lactação**

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

2009

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.2102
FMVZ

Feckinghaus, Marcelo Arne

Influência da Aplicação da Somatotropina Recombinante bovina (rBST) no lipidograma e composição do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação / Marcelo Arne Feckinghaus. – São Paulo : M. A. Feckinghaus, 2009.
99 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, 2009.

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

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Junior.

1. Somatotropina. 2. Bubalinos. 3. Lipidograma. 4. Composição do Leite. 5. Lactação. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina (rBST) no lipidograma, na função hepática, na função renal e na constituição do leite de búfalos (*Bubalus bubalis*) em lactação", protocolado sob o nº1405/2008, utilizando 28 (vinte e oito) bubalinos, sob a responsabilidade do 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 na reunião do dia 18 de junho de 2008.

We certify that the Research "Effects of bovine recombinant somatotropin (rBST) on lipidogram, hepatic function, renal function and physicochemical characteristics of milk in lactation Buffaloes (*Bubalus bubalis*)", protocol number 1405/2008, utilizing 28 (twenty eight) bubaline, under the responsibility Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Júnior, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 06/18/08.

São Paulo, 19 de junho de 2008

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

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: FECKINGHAUS, Marcelo Arne

Título: Influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina (rBST) no
lipidograma e composição do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação

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: __/__/__

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

***Mas, buscai em primeiro lugar o reino de Deus,
e a sua justiça, e todas estas coisas vos serão acrescentadas.
Mateus 6:33***

Aos meus pais, Walter e Krista, que sempre acreditaram que eu fosse capaz e me apoiaram nos momentos de maior dificuldade, muito obrigado por tudo, sou grato a Deus por ser filho de vocês

Ao meu querido irmão, Mánoel, ao qual sempre estive disposto a ouvir e ajudar quando precisei.

À Carolina Monteguti, por fazer parte da minha vida e contar com seu apoio.

Ao Professor Doutor Eduardo Harry Birgel Junior, pela amizade, paciência, convívio, oportunidade e ensinamentos transmitidos durante essa caminhada.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me capacitado e dirigido para mais essa vitória.

Aos meus pais por todo suporte nas minhas decisões e realizações.

À Carolina Monteguti, por tornar minha vida mais alegre e feliz. Obrigado por você fazer parte da minha vida

Ao Professor Doutor Ivan Roque de Barros Filhos, que mesmo com pouco convívio confiou e apoiou este sonho.

Ao Professor Doutor Pietro Sampaio Baruselli, pelo apoio e incentivo para a realização deste trabalho.

Aos Professores do Departamento de Clínica Médica: Profa. Dra. Alice Maria Melville Paiva Della Libera, Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel, Prof. Dr. Enrico Lippi Ortolani, Prof. Dr. José Fernando Benesi, Profa. Dra. Lilian Gregory, Profa. Dra. Maria Claudia Araripe Sucupira e Prof. Dr. Wanderley Pereira de Araújo, por todos os ensinamentos, momentos agradáveis e pela honra de conhecer cada um de vocês.

Ao Senhor Otávio Bernardes, por permitir o uso de sua fazenda para a realização deste experimento, pelos muitos conhecimentos adquiridos, pela amizade e convívio durante o experimento.

Ao Senhor Adriano Aparecido Antunes Ribeiro, funcionário da fazenda, pela ajuda imprescindível e dedicação durante o experimento.

Ao meu “irmão”, Fabio Celidonio Pogliani, que me ajudou e apoiou nos momentos alegres e nas dificuldades, pela enorme ajuda mesmo antes do mestrado, sou muito grato por ter você como amigo.

A Raquel, Eliza João Paulo e Fernanda, pela amizade, convívio e ajuda.

Ao Tio Chico, grande amigo e companheiro, obrigado pelas suas idéias e amizade.

Ao Bruno “Fofão” de Oliveira, estagiário PPTO, companheiro de apê e amigo acima de tudo, estou torcendo por você e ânimo na profissão.

Ao André Luís Hungaro Soares, pela sinceridade e amizade.

Aos Funcionários do Departamento de Clínica, em especial, Clara Mori e Marli Elisabeth e Adelaide Borges, que sempre me ajudaram de forma muito valiosa.

À minha amiga Maria José “Mazé”, pelos diversos momentos nem sempre agradáveis, mas que serviram para fortalecer nossa amizade.

Ao amigo Zezo, pelas risadas e descontração em todos os momentos.

As residentes da Clínica de Bovinos e Pequenos Ruminantes Juliana, Camila e Laura, e aos funcionários Edson, Francisco e Luizinho pela amizade e consideração.

À Dona Maria, pelas várias conversas, conselhos amigos, brincadeiras e diversas risadas.

Aos amigos Felipe Santo e Luciana Lippi, pelos momentos e trabalhos realizados. Além dos momentos de descontração e risadas.

Às funcionárias da Biblioteca, Elza e Elena pela colaboração na verificação das normas de publicação e produção da ficha catalográfica desta dissertação.

A um grande amigo, Thales dos Anjos de Faria Vechiato, pelas conversas, trabalhos e discussões.

Ao amigo João Ari Gualberto Hill, pela confiança no meu trabalho.

Ao amigo Eric “Belga” Deblire, pelo convívio e amizade.

Aos colegas de Pós-graduação: Humberto, Frederico, Enoch, Huber, Carolina, Marjorie, Rebeca, Tatiana e Mariana, pelos momentos agradáveis e amizade de todos.

À MSc. Maura Lapa Gonzaga, da PGS Medical Statistics que de forma muito atenciosa e prestativa realizou as análises estatísticas deste trabalho.

À FMVZ – USP e a Clínica de Bovinos e Pequenos Ruminantes do Centro de Pesquisa e Diagnóstico de Enfermidades em Ruminantes (CPDER), pela oportunidade da realização desta importante etapa da minha pós-graduação.

A todos os residentes, estagiários e alunos de graduação que estiveram presentes e contribuíram para realização deste trabalho e para minha formação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos, acreditar e viabilizar esta pesquisa.

A todos que de alguma forma, seja direta ou indiretamente colaboraram para execução deste trabalho.

RESUMO

FECKINGHAUS, M. A. **Influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina (rBST) no lipidograma e composição do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação.** [Influence of recombinant bovine somatotropin (rBST) in the lipid profile and milk composition of lactating Murrah water buffaloes]. 2009. XX f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Com o objetivo de estudar os efeitos do uso da Somatotropina Recombinante Bovina (rBST) no lipidograma e constituição do leite de bubalinos foram utilizadas 28 búfalas divididas em dois grupos: Grupo 1 – constituído de 14 búfalas nas quais foi realizada uma aplicação de 500 mg de rBST e Grupo 2 - constituído de 14 búfalas que não receberam qualquer tratamento hormonal (grupo controle). Durante o experimento, os animais tiveram amostras de plasma e soro sanguíneo, bem como de leite colhidas periodicamente nos seguintes momentos: dia da aplicação da rBST, 1º, 3º, 5º, 7º, 10º e 14º dia após a aplicação da rBST. A fim de minimizar possíveis influências da fase da lactação, todas as búfalas utilizadas no experimento estavam entre 100 e 200 dias de lactação e com produção de leite variando entre 5 e 10 litros por dia. O lipidograma foi avaliado por meio da determinação dos teores séricos de colesterol, triglicérides, ácidos graxos não esterificados e β -HBO e teores plasmáticos de glicose, enquanto a constituição do leite de búfalas foi avaliada por meio de determinação dos teores lácteos de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e do número de células somáticas. Durante a avaliação dos resultados obtidos podemos notar que a aplicação da somatotropina recombinante bovina não influenciou os teores séricos de NEFA, colesterol e triglicérides bem como os plasmáticos de glicose. No entanto os teores séricos de β -HBO foram afetados pelo tratamento instituído, pois verificou-se que, a partir do 1º dia após o início do tratamento hormonal, os teores séricos de β -HBO no grupo tratado com rBST eram entre 0,21 e 0,55 mg/dL maiores do que os encontrados no grupo controle. Quando avaliamos a composição do leite temos que os resultados nos permitem afirmar que o tratamento instituído não interfere nas concentrações de gordura, lactose, sólidos totais e no número de células somáticas. Nos primeiros dias após a aplicação da rBST ocorria uma diminuição dos teores lácteos de proteína,

.....o verificado que no 3º dia após o início do tratamento hormonal os valores lácteos de proteína encontrados no grupo tratado com rBST ($3,59 \pm 0,22$ g/dL) eram significativamente menores do que os observados no grupo controle ($3,89 \pm 0,22$ g/dL). A partir do 5º dia após o início do tratamento hormonal, os valores de proteína passam a oscilar sem que qualquer diferença estatística entre o grupo tratado e controle possam ser observados.

Palavras-chave: Somatotropina. Bubalinos. Lipidograma. Composição do leite. Lactação.

ABSTRACT

FECKINGHAUS, M. A. **Influence of recombinant bovine somatotropin (rBST) in the lipid profile and milk composition of lactating Murrah water buffaloes.** [Influência da aplicação da somatotropina recombinante bovina (rBST) no lipidograma e composição do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação]. 2009. XX f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

With the aim to evaluate the influence of recombinant bovine somatotropin (rBST) in the lipid profile and milk composition of lactating Murrah water buffaloes, we collected and analyzed samples of blood serum and plasma and milk of clinically healthy animals. We determined the concentrations of cholesterol, triglycerides, nonesterified fatty acids (NEFA), β -hydroxybutyrate (β -HBO) and glucose from the blood samples. Milk samples were collected after milking and the following parameters were evaluated: fat, protein, lactose, total solids and somatic cell count. The influence of rBST was studied through 28 animals divided in 2 experimental groups: Experimental Group – 14 animals that received a single application of 500mg rBST; Control Group - 14 animals that didn't receive any hormonal treatment. Blood and milk samples were collected in the following moments: day of rBST application, 1st, 3rd, 5th, 7th, 10th and 14th day after the rBST application. To minimize the influence of lactation, the samples were collected between 100-200 days of lactation and the milk yields per cow range from 5 – 10 Liters. According to the results of this research, we concluded that one single application of rBST didn't affect the NEFA, cholesterol, triglycerides and glucose blood levels. The serum β -HBO concentration was influenced by the hormonal treatment. In the experimental group, after 24 hours from the treatment, the β -HBO level ranged 0.21 - 0.55 mg/dL and it was greater than that of control group. The fat, lactose, total solids and somatic cell count were not influenced by the rBST treatment. In the first days after the application of rBST, the milk protein decreased gradually reaching its low level in the 3rd day after the application (3.59 ± 0.22 g/dL) and was significant lower than that of control group (3.89 ± 0.22 g/dL). After the 5th day, the milk protein values oscillated without any statistical difference between both groups.

Key words: Somatotropin. Water buffalo. Lipid profile. Milk composition. Lactating.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Média, desvio padrão e amplitude de variação quantidade de leite produzido de búfalas da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo, 2008	60
Tabela 2 – Média, desvio padrão e amplitude de variação dos teores lácteos de gordura em leite de búfalas da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo, 2008	63
Tabela 3 – Média, desvio padrão e amplitude de variação da concentração dos teores de proteína no leite em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo, 2008	64
Tabela 4 – Média, desvio padrão e amplitude de variação dos teores lácteos de lactose em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST). São Paulo, 2008	66
Tabela 5 – Média, desvio padrão e amplitude de variação dos teores de sólidos totais do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST). São Paulo, 2008	67
Tabela 6 – Média, desvio padrão e amplitude de variação da contagem de células somáticas do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST). São Paulo, 2008	69
Tabela 7 – Média, desvio padrão e amplitude de variação da concentração plasmática de glicose em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST). São Paulo, 2008	71
Tabela 8 – Média, desvio padrão e amplitude de variação dos teores séricos de colesterol em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST). São Paulo, 2008	72
Tabela 9 – Média, desvio padrão e amplitude de variação dos teores séricos de triglicérides em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST). São Paulo, 2008	74
Tabela 10 – Média, desvio padrão e amplitude dos teores séricos de β -HBO em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST). São Paulo, 2008	75
Tabela 11 – Média, desvio padrão e amplitude de variação dos teores séricos de ácidos graxos não-esterificado ($\mu\text{M/l}$) em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST). São Paulo, 2008	77

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) sobre a quantidade de leite (L) produzido de búfalas da raça Murrah. São Paulo, 2008	60
Gráfico 2 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), sobre o teor de gordura do leite de búfalas da raça Murrah. São Paulo, 2008	62
Gráfico 3 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), sobre os teores lácteos de proteína do leite de búfalas da raça Murrah. São Paulo, 2008	64
Gráfico 4 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), nos teores lácteos de lactose de bubalinos da raça Murrah. São Paulo, 2008	65
Gráfico 5 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), nos teores de sólidos totais no leite de bubalinos da raça Murrah. São Paulo, 2008.....	67
Gráfico 6 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), nos teores de sólidos totais no leite de bubalinos da raça Murrah. São Paulo, 2008.....	68
Gráfico 7 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), na concentração plasmática de glicose de bubalinos da raça Murrah. São Paulo, 2008.....	70
Gráfico 8 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), na concentração plasmática de colesterol de bubalinos da raça Murrah. São Paulo, 2008	72
Gráfico 9 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), nos teores séricos de triglicérides de bubalinos da raça Murrah. São Paulo, 2008	73
Gráfico 10 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), na teores séricos de β -HBO de bubalinos da raça Murrah. São Paulo, 2008.....	75
Gráfico 11 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), na concentração plasmática de ácidos graxos não-esterificados de bubalinos da raça Murrah. São Paulo, 2008.....	77

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Efeitos biológicos da somatotropina em animais de produção durante o crescimento e lactação, conforme Etherton e Bauman (1998)	35
Quadro 2 – Constituintes do leite de búfalas conforme autores citados	47
Quadro 3 – Constituição dos grupos experimentais para avaliar a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) no lipidograma e na constituição do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação. São Paulo, 2008	52

LISTA DE ABREVIações

AMP _c	Adenosina mono fosfato
CCS	Contagem de células somáticas.
dL	decilitros
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
ESALQ	Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
g	gramas
GOD	glicose oxidase
ha	hectares
kg	quilograma
IGF-1	fator de crescimento semelhante à insulina
IGF-2	fator de crescimento semelhante à insulina
L	litros
LDL	Lipo proteína de baixa densidade
mg	miligramas
mL	mililitros
NAD ⁺	nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidado
NADH	nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido
NDT	nutrientes digestíveis totais
NEFA	Ácidos graxos livres não esterificados
nm	nanômetros (10 ⁻⁹ m)
NRC	NATIONAL RESEARCH COUNCIL
PB	Proteína bruta
POD	Peroxidase
rBST	Somatotropina recombinante bovina
USP	Universidade de São Paulo.
µm	micrômetro (10 ⁻⁶ m)
β-HBO	Beta-Hidroxibutirato
°C	grau Celsius

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	31
2 REVISÃO DE LITERATURA	33
2.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A SOMATOTROPINA.....	33
2.2 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE SOMATOTROPINA NO METABOLISMO DA GLICOSE	36
2.3 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE SOMATOTROPINA NO METABOLISMO DE LIPÍDIOS	38
2.4 TRIGLICÉRIDES.....	42
2.5 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE SOMATOTROPINA NA COMPOSIÇÃO DO LEITE E NO NÚMERO DE CÉLULAS SOMÁTICAS.....	45
2.6 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE SOMATOTROPINA EM BÚFALAS EM LACTAÇÃO	49
3 MATERIAL E MÉTODOS	51
3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	51
3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	51
3.3 QUANTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO DE LEITE.....	52
3.4 COLHEITA DAS AMOSTRAS.....	53
3.5 DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS.....	53
3.5.1 Técnicas utilizadas para a avaliação do lipidograma.....	54
3.5.2 Determinação de ácidos graxos livres não esterificados (NEFA).....	54
3.5.3 Determinação do colesterol.....	54
3.5.4 Determinação de triglicérides.....	55
3.5.5 Determinação dos teores séricos de beta-hidroxibutirato.....	55
3.5.6 Determinação de glicose.....	56
3.6 DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE GORDURA, PROTEÍNA, LACTOSE E SÓLIDOS TOTAIS	56
3.6.1 Contagem eletrônica do número de células somáticas	57
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	57
4 RESULTADOS.....	59
4.1 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA (RBST) NA QUANTIDADE DE LEITE PRODUZIDO DE BÚFALAS DA RAÇA MURRAH	59
4.1.1 Avaliação dos teores de gordura do leite.....	61
4.1.2 Avaliação dos teores proteínicas do leite	63
4.1.3 Avaliação dos resultados obtidos para os teores de sólidos totais.....	66
4.1.4 Avaliação do número de células somáticas no leite	68

4.2 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA (RBST) NO LIPIDOGRAMA DE BUBALINOS DA RAÇA MURRAH	69
4.2.1 Avaliação dos resultados obtidos para a glicose	69
4.2.2 Avaliação dos resultados obtidos para o colesterol	71
4.2.3 Avaliação dos resultados obtidos para triglicérides	73
4.2.4 Avaliação dos resultados obtidos para β -HBO.....	74
4.2.5 Avaliação dos resultados obtidos para os ácidos graxos não-esterificados (NEFA).....	76
5 DISCUSSÃO	78
5.1 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA (RBST) NA CONSTITUIÇÃO DO LEITE	82
6 CONCLUSÃO.....	86
REFERÊNCIAS:	88

1 INTRODUÇÃO

No início do século XX Evans e Simpson (1920), fizeram as primeiras referências ao uso de somatotropina, ao utilizarem extrato hipofisário em ratos e concluírem que o mesmo continha fatores de estímulo ao crescimento, denominando-o de hormônio do crescimento. Após essas observações iniciais, em 1937 pesquisadores russos demonstraram que o uso de extrato hipofisário, em vacas, promove um incremento da produção leiteira (ETHERTON; BAUMAN, 1998).

Com o desenvolvimento da biotecnologia e o advento da tecnologia do DNA recombinante foi possível, nos anos 80, a síntese da somatotropina recombinante, sendo realizado em 1982 o primeiro estudo sobre o seu efeito em vacas leiteiras (BAUMAN et al., 1982). Em vista dos resultados promissores obtidos por Bauman et al. (1982), desencadeou-se um substancial interesse, entre os pesquisadores, sobre os efeitos da somatotropina recombinante bovina na fisiologia da lactação, bem como as pesquisas que relacionaram os resultados na produção de leite, na reprodução e na saúde animal.

Desde esse estudo, foram realizados mais de mil estudos, avaliando-se mais de vinte mil vacas, nos quais se observou um aumento de 10 a 15% na produção de leite independentemente da raça, da idade e do potencial de produção dos animais (ETHERTON; BAUMAN, 1998; BURTON, 1994; NRC, 1994), alguns autores relatam um aumento ainda mais significativo de até 40% (PEEL et al., 1983; RICHARD et al., 1985; BAUMAN, 1992; NRC, 1994; MATTOS, 1998). Outro ponto de interesse nos estudos do uso da somatotropina é o seu efeito na composição de leite dos animais tratados, sendo que a maioria dos trabalhos relata a ausência de alterações nos teores de gordura, proteína e lactose (PEEL et al., 1983; RICHARD et al., 1985; BAUMAN, 1992; NRC, 1994; MATTOS, 1998) bem como não evidenciaram alterações no número de células somáticas no leite em decorrência ao tratamento hormonal com somatotropina (BAUMAN et al., 1999). Afora isso se demonstrou que o rendimento industrial do leite é semelhante aos do leite de animais não tratados (BARBANO et al., 1992; LAURENT et al. 1992).

Do ponto de vista reprodutivo, em revisão de literatura sobre a utilização de rBST em vacas lactantes, Mattos (1998) afirmou que existiam resultados discrepantes em relação ao desempenho reprodutivo, sendo que alguns estudos

demonstraram influência no desempenho reprodutivo enquanto outros concluíram que os índices reprodutivos não foram alterados pela aplicação de rBST

Com relação a enfermidades em vacas leiteiras associadas ao uso da somatotropina recombinante bovina, estudos realizados não apontam qualquer relação ao surgimento de enfermidades metabólicas (EPPARD et al., 1987; COLE et al., 1992; BAUMAN, 1999), enfermidades podais (CHALUPA et al., 1988) ou enfermidades hepáticas (SANTOS et al., 2000), já Etherton e Bauman (1998) afirmam que a dependência do estágio de lactação, a dose de somatotropina utilizada e o balanço energético das vacas, poderiam ser relacionados a transtornos na saúde desses animais.

Com relação às pesquisas sobre o uso da somatotropina recombinante bovina em outras espécies ruminantes foi relatado que a rBST é biologicamente ativo em ovinos (BAUMAN, 1992), em caprinos (KNIGHT et al., 1990; PROSSER et al., 1991; DISENHAUS et al., 1995) e em búfalas (LUDRI et al., 1989; POLIDORI et al., 1997, SRINIVASA-RAO & RANGANADHAM, 2000; JORGE et al., 2002).

A existência de poucas informações na literatura consultada relativas ao uso de somatotropina recombinante bovina (rBST) em búfalas, bem como a necessidade de pesquisas adequadamente planejadas que permitam avaliar as particularidades do metabolismo de búfalas submetidos ao tratamento com somatotropina recombinante bovina (rBST) motivo desenvolvimento desta pesquisa, cujos objetivos são os seguintes:

- a) de estudar os efeitos da aplicação de somatotropina recombinante bovina na constituição do leite de búfalas por meio de determinação dos teores lácteos de gordura, proteína, lactose e sólidos totais;
- b) de estudar os efeitos da aplicação de somatotropina recombinante bovina no lipidograma por meio de determinação dos teores séricos de colesterol, triglicérides, ácidos graxos livres não esterificados (NEFA) e β -HBO.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Previamente à revisão de literatura serão feitas algumas considerações sobre a somatotropina recombinante bovina.

2.1 Considerações sobre a somatotropina

Os primeiros estudos realizados sobre os hormônios do crescimento datam dos anos de 1920, quando Evans e Simpson (1931), constataram que o extrato da glândula pituitária de bovinos era responsável por promover o crescimento em ratos, devido a esse efeito e ainda com a necessidade de maiores elucidações, o produto foi denominado de hormônio do crescimento. Posteriormente a este estudo, outros estudos foram realizados a fim de descobrir as ações do hormônio do crescimento, também denominado somatotropina. No estudo de Asdell (1932), por exemplo, foi comprovado que a ação deste hormônio não somente se resumia ao crescimento, mas também estimulava a produção de leite.

Na década de 70, os estudos sobre o mecanismo de ação da somatotropina foram aprofundados constatando-se a existência de efeitos sobre o tecido muscular, adiposo, glândula mamária e também na quebra de nutrientes absorvidos no trato gastrointestinal (BAUMAN e CURRIE, 1980; BINES; HART, 1982).

Vanderkooi et al. (1995) constaram a especificidade dos receptores necessária para a ação efetiva da somatotropina. Além disso, foi possível observar a presença destes receptores na superfície de diferentes tecidos, sendo o tecido hepático um dos locais mais relevantes. A ação no tecido hepático se dá, principalmente, pelo aumento significativo do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), interferindo diretamente sobre o metabolismo do animal, uma vez que, via circulação, irá atuar em diferentes receptores presentes nos mais diversos tecidos do organismo.

Os efeitos da somatotropina podem ser classificados como somatogênicos e metabólicos (ETHERTON; BAUMAN, 1998). Um dos papéis mais interessantes, e talvez o de maior relevância e distinção, é o relacionado com a disponibilização de nutrientes para o desenvolvimento dos mais diversos tecidos no processo do

crescimento, como por exemplo, para a síntese de leite, conforme apresentado no Quadro 1.

Dentre os efeitos somatogênicos podemos citar aqueles relacionados com a estimulação da proliferação celular, que são mediados pelo IGF-1. Estes efeitos são os relacionados com a ação direta da somatotropina atuando no metabolismo de carboidratos, lipídios, proteínas e minerais. As consequências dessas mudanças metabólicas coordenadas, com a alteração na partição de nutrientes, são mais relevantes para o melhor desempenho quando levamos em consideração o crescimento e o aumento da produção de leite (ETHERTON; BAUMAN, 1998). O principal efeito da somatotropina é a partição dos nutrientes absorvidos pelos diferentes tecidos corporais (PEEL e BAUMAN, 1987; BAUMAN, 1999).

Tecido	Processo Fisiológico Afetado
Músculo esquelético (crescimento)	↑ Acréscimo de proteínas ↑ Síntese de proteínas ↑ Utilização de glicose e aminoácidos ↑ Eficiência parcial da utilização de aminoácidos
Ossos (crescimento)	↑ Acréscimo mineral paralelamente ao crescimento tecidual
Tecido mamário (lactação)	↑ Síntese de leite com composição normal ↑ Utilização de nutrientes para síntese do leite ↑ Aumento da atividade das células secretórias ↑ Manutenção das células secretórias ↑ Circulação sanguínea consistente com a mudança na síntese de leite
Tecido adiposo	↓ Utilização da glicose e oxidação da glicose ↓ Síntese lipídica se o balanço energético for positivo ↑ Lipólise basal se o balanço energético for negativo ↓ Estimulo do metabolismo glicogênico sobre a insulina e síntese lipídica ↑ Estímulo lipolítico das catecolaminas ↑ Habilidade da insulina em inibir a lipólise ↓ Transcrição do ácido-graxo sintetase ↓ Hipertrofia do adipócito
Fígado	↑ Produção de glicose ↓ Habilidade inibitória da insulina sobre a gliconeogênese
Intestino	↑ Absorção de cálcio e fósforo requeridos para produção de leite e ossos ↑ Habilidade da 1,25-vitamina D ₃ estimular a proteína de ligação do cálcio ↑ Proteína de ligação do cálcio
Efeitos sistêmicos	↑ Circulação de IGF-1 ↓ Circulação da proteína de ligação IGF-2 ↓ Oxidação de aminoácidos e uréia sanguínea nitrogenada ↓ Liberação de glicose ↓ Oxidação da glicose ↓ Resposta ao teste de tolerância a glicose ↑ Oxidação do NEFA se o balanço energético for negativo ↑ Débito cardíaco devido ao aumento de produção do leite ↑ Acentua a resposta imune

Quadro 1 – Efeitos biológicos da somatotropina em animais de produção durante o crescimento e lactação, conforme Etherton e Bauman (1998)

A utilização de somatotropina recombinante bovina em vacas leiteiras ou em bovinos em crescimento não altera a digestibilidade da matéria seca, do carbono, do nitrogênio ou da energia ingerida diariamente, de forma que as exigências nutricionais para manutenção ou a eficiência parcial de síntese de leite não são alteradas (EISEMANN et al., 1986; CHALUPA e GALLIGAN, 1989; NRC, 1994).

Em um estudo conduzido por Fontes et al. (1997), chegou-se a conclusão que a resposta dos animais depende não somente da dose utilizada, mas também da genética dos animais. Tendo em vista que o estudo foi conduzido com animais de diferentes cruzamentos utilizados com frequência no Brasil, o autor obteve um

resultado semelhante quando utilizou a dose de 250 mg de somatotropina bovina para animais de cruzamento $\frac{1}{2}$ ou $\frac{1}{4}$ *Bos indicus* e quando utilizou a dose de 500 mg de somatotropina bovina para animais puros *Bos taurus*, sugerindo com isso que a resposta pode ser dose dependente.

2.2 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE SOMATOTROPINA NO METABOLISMO DA GLICOSE

Após a administração da rBST são necessárias adaptações metabólicas dos outros tecidos visando a adequação do consumo da glicose disponível para atender as novas necessidades desse substrato pela glândula mamária. Pesquisas vem demonstrando que o aumento da produção leiteira após a administração da rBST em vacas leiteiras esta diretamente relacionado há um acréscimo nas necessidades de glicose pela glândula mamária para síntese de lactose (PEEL; BAUMAN, 1987; BAUMAN, 1999). Segundo Etherton e Bauman (1998) entre 60 e 80% da glicose disponível no organismo é utilizada no tecido mamário para síntese de leite, sendo que uma significativa parcela da glicose disponível para vacas leiteiras é oriunda da gliconeogênese hepática.

Dentre as adaptações metabólicas relacionadas ao uso da rBST, podemos citar: aumento da gliconeogênese hepática, diminuição do uso da glicose pela musculatura esquelética, maior perda irreversível da glicose e diminuição da oxidação da glicose pelos tecidos corporais (PEEL; BAUMAN, 1987, BAUMAN et al., 1988; BURTON et al., 1994). Essas adequações de uso e produção da glicose são quantitativamente semelhantes aos aumentos do requerimento da mesma para síntese do leite (BAUMAN et al., 1988), em termos numéricos o aumento é em torno de 30% a mais no suprimento de glicose, que mais é que a necessidade adicional para síntese de lactose na glândula mamária (PEEL; BAUMAN, 1987).

Pesquisas realizadas tendo como foco a taxa de gliconeogênese hepática concluíram in vivo Cohick et al., (1989) e *in vitro* (HERBEIN, 1986; KNAPP et al., 1992; POCIUS e), que os aumentos estão ligados a redução da ação inibitória da insulina sobre a gliconeogênese hepática (COHICK et al., 1989), aumentando a concentração plasmática de glicose.

O tecido adiposo também tem relação importante no que se refere a

concentração de glicose, pois aumentando a mobilização do tecido adiposo tem-se uma maior disponibilidade de glicerol, e como consequência teremos uma maior disponibilidade de precursores glicogênicos, podendo acarretar um acréscimo de, aproximadamente, 27% na concentração de glicose plasmática (PEEL; BAUMAN, 1987).

Como demonstrado, com uma redução na resposta inibitória da insulina em vacas leiteiras suplementadas com rBST, influenciando na gliconeogênese hepática, permite que o fígado mantenha o aumento essencial da taxa de gliconeogênese com consequente aumento da produção de glicose, sendo este acréscimo imprescindível para arcar o aumento na síntese de leite e seus componentes (ETHERTON; BAUMAN, 1998). Estas alterações conjuntas na produção e utilização da glicose são primordiais para a correta manutenção da homeostase no início das suplementações com rBST e para a manutenção do acréscimo na produção de leite (BAUMAN, 1999).

Em diversos estudos nos quais foram avaliados a concentração plasmática de glicose após o início do tratamento com rBST para vacas em lactação, foram observados rápidos aumentos nas concentrações de glicose após o início do tratamento nas primeiras aplicações de rBST (GALLO e BLOCK, 1990; VICINI et al., 1990; DE LA SOTA et al., 1993).

De uma forma geral, avaliando os estudos com vacas em lactação suplementadas com rBST em relação a vacas não suplementadas, são verificados ligeiros aumentos nas concentrações plasmáticas de glicose em função das mudanças na partição dos nutrientes favorável a glândula mamária (GULAY et al., 2004). Estas mudanças devido a suplementação com rBST induzem a ocorrência de uma economia de glicose pelos demais tecidos corporais, resultando em ligeiro aumento plasmático de glicose (BAUMAN et al., 1993, BURTON et al., 1994).

As vacas suplementadas com rBST apresentaram maiores concentrações plasmáticas de glicose, no entanto, estas diferenças não foram significativas estatisticamente (BAUMAN et al., 1988; SODERHOLM et al., 1988; MORBECK et al., 1991).

Santos (1999) não observou alteração ao pesquisar a concentração plasmática de glicose em animais suplementados com rBST e com duas diferentes alimentações. Já Gallo e Block (1990); Vicini et al. (1990) e De La Sota et al. (1993) observaram aumentos significativos nas concentrações de glicose plasmática em

vacas suplementadas com rBST, apesar destes aumentos serem de magnitude reduzida.

Em estudos mais recentes, Rose et al. (2004) e Rose et al. (2009), a resposta dos animais ao tratamento com a somatotropina é dependente da quantidade de glicose disponível no organismo anteriormente ao início do tratamento, ou seja, quanto maior a reserva de glicose do animal menor será sua resposta ao tratamento.

2.3 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE SOMATOTROPINA NO METABOLISMO DE LIPÍDIOS

Sabe-se que as reservas corporais de energia estão no tecido adiposo e que essa reserva é constituída e caracterizada por uma grande quantidade de triglicérides no interior dos adipócitos e para sua manutenção, há um constante mecanismo de degradação (lipólise) e re-síntese (lipogênese) (HERDT, 2000).

Nos adipócitos, durante o processo de lipólise, os triglicérides sofrem um processo de clivagem da ligação éster resultando na liberação de ácidos graxos não-esterificados (NEFA) e de glicerol. Durante a lipogênese ocorre o estabelecimento ou o re-estabelecimento da ligação éster formando os triglicérides. Dentro dos adipócitos a lipogênese e a lipólise estão continuamente ocorrendo, criando um ciclo constante de conversão dos ácidos graxos dos triglicérides para os NEFA livres, e posteriormente, ocorrendo a re-esterificação e novamente a formação dos triglicérides (HERDT, 2000).

As taxas de lipólise e lipogênese no tecido adiposo sofrem ação direta quando usado a rBST. Quando o animal se encontra em balanço energético positivo, a rBST tem sua atuação principal na lipogênese. No entanto, se o animal encontra-se com balanço energético próximo a zero ou negativo, os efeitos do hormônio refletem mais sobre a lipólise (ETHERTON; BAUMAN, 1998; BAUMAN, 1999). A determinação do balanço energético, segundo Hansen (1991), é a diferença entre o consumo de energia, definido pela ingestão de alimentos e densidade energética da dieta, e a utilização dessa energia, seja para manutenção, lactação, reprodução e/ou crescimento. Assim sendo, o balanço energético representa a diferença entre

consumo e gasto de energia e determina ganho ou perda líquida das reservas corporais dos animais.

Estes efeitos da rBST sobre o tecido adiposo são de natureza crônica e envolvem predominantemente alterações nas taxas de lipólise e de lipogênese (ETHERTON; BAUMAN, 1998). Estes efeitos da rBST parecem ocorrer diretamente no metabolismo de gordura do tecido adiposo, já que os efeitos que ocorrem em animais suplementados com rBST podem ser mimetizados quando o tecido adiposo é exposto *in vitro* ao rBST (ETHERTON et al., 1993).

Uma maneira de entender a influência da rBST sobre a partição dos nutrientes e a modulação das taxas de lipólise e lipogênese é verificar sua ação sobre os efeitos da insulina. A insulina é um hormônio cuja função é o controle homeostático na regulação do tecido adiposo. Quando são realizados testes de tolerância à insulina verifica-se que o uso de rBST reduz a resposta à glicose no organismo do animal (BAUMAN, 1999). Conforme Bauman (1999), com frequência este efeito é incorretamente denominado de “resistência à insulina”, pois apresenta alta especificidade tecidual, estando relacionado somente a uma porção do processo de resposta à insulina.

A suplementação com somatotropina recombinante bovina acarreta em uma modulação da resposta dos tecidos à insulina e uma redução da resposta do organismo à glicose. Assim, pode-se constatar o surgimento de “resistência à insulina”, fato este verificado por Bauman (1999). Segundo Dunshea et al. (1992) a rBST não diminui a capacidade da insulina em inibir a lipólise do tecido adiposo.

Em conjunto com as alterações descritas no mecanismo de ação da insulina, a rBST influencia a regulação da taxa de lipólise mediada pelas catecolaminas. Essa regulação envolve a adenil-ciclase e o sistema de transmissão de sinais que incluem as proteínas G. A proteína G que estimula a lipólise é denominada G_s , enquanto que a proteína G que inibe a lipólise é denominada G_i . As catecolaminas influenciam a lipólise por meio da proteína G_s (estimula a lipólise), e vacas em lactação suplementadas com rBST aumentam a resposta lipolítica sob ação das catecolaminas (MCCUTCHEON; BAUMAN, 1986).

Segundo Drackley (2000), a utilização da rBST resulta em uma estimulação indireta da lipólise devido ao aumento da sensibilidade do tecido adiposo aos efeitos das catecolaminas. Este autor relata que a rBST aumenta a sensibilidade às catecolaminas em função da diminuição da habilidade das proteínas G_i inibirem o

AMP_c durante o processo de lipólise. Desta forma, com a resposta lipogênica da insulina reduzida e a maior eficiência da atividade lipolítica das catecolaminas, em função da redução dos fatores de controle inibitórios da lipólise, ocorrem alterações nas taxas de lipólise e de lipogênese, permitindo assim um aumento das taxas de lipólise quando vacas leiteiras são tratadas com rBST (DRACKLEY, 2000).

Há grande mobilização de reservas corporais quando animais são suplementados com rBST e estão sob circunstâncias de restrição no fornecimento de energia. Esta situação é especialmente importante para vacas leiteiras, as quais geralmente se encontram com o balanço energético próximo a zero quando são iniciados os tratamentos com rBST (ETHERTON; BAUMAN, 1998).

Com o início da utilização da rBST irão ocorrer rápidos aumentos na produção de leite em função de alterações na partição de nutrientes (PEEL; BAUMAN, 1987). Esse acréscimo na produção de leite está relacionado com aumento no consumo de nutrientes ou de matéria seca, já que segundo o NRC (2001), a produção de leite é um dos principais fatores relacionados com o consumo de matéria seca. Desta forma, o aumento da produção de leite em resposta ao rBST seria compensado pelo maior consumo de matéria seca, situação que não influenciaria marcadamente o balanço energético destes animais.

Em pesquisas relatadas por Bauman et al. (1988) e também por Tyrrel et al. (1988), foi constatado o referido aumento na ingestão de matéria seca somente após um período de 6 a 8 semanas após o início da suplementação de rBST. Como resultado dessa maior necessidade de aporte de nutrientes para manter a síntese de leite e tendo em mente que essa necessidade não é suprida pelo consumo de nutrientes, temos um quadro, até mesmo nos animais com balanço energético positivo, que resulta numa maior mobilização das reservas corporais para manutenção dos novos índices de produção de leite pelos animais (ETHERTON; BAUMAN, 1998).

Os efeitos da utilização de rBST sobre a mobilização de reservas corporais resultam em aumentos na mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo. Para se estabelecer a extensão da mobilização dos ácidos graxos, que são consequência da utilização da rBST, temos os valores plasmáticos de NEFA e o balanço energético como ferramentas muito úteis, uma vez que a correlação entre eles é muito alta (EISEMANN et al., 1986; BAUMAN et al., 1988).

Vários estudos realizados concluíram claramente que a suplementação de

rBST em vacas culmina em um aumento dos ácidos graxos não-esterificados (NEFA). Gallo e Block (1990), avaliando o início da aplicação de rBST aos 100 dias pós-parto, verificaram aumento significativo na concentração plasmática de NEFA, sendo estes resultados consistentes com os resultados de estudos realizados anteriormente por Bauman et al. (1988); Soderholm et al. (1988); Sechen et al. (1989) e Vicini et al. (1990), com o início da aplicação de rBST em diferentes fases da lactação.

Morbeck et al. (1991), que utilizaram quatro diferentes doses de aplicação de rBST para vacas em lactação, iniciado aos 30 dias pós-parto, não foram verificadas diferenças na concentração plasmática de NEFA nos animais avaliados nos diferentes níveis de rBST em relação aos animais controle. No entanto, devido à longa duração do estudo (30 até 365 dias de lactação), quando se avalia a concentração plasmática de NEFA nas primeiras semanas de aplicação de rBST foram verificados aumentos na concentração de NEFA em relação aos animais não suplementados ou suplementados em menores níveis.

De La Sota et al. (1993) também observaram maiores concentrações de NEFA em vacas suplementadas com rBST durante o início da lactação e no período seco. Santos et al. (1999), ao avaliarem o efeito de duas diferentes dietas e a aplicação de rBST no início da lactação (5 dias pós-parto), também observaram aumentos na mobilização de reservas corporais em função do aumento da concentração plasmática de NEFA nos animais que foram aplicados rBST. Neste estudo também foram observadas diminuições gradativas na concentração de NEFA em função do tempo, ou seja, com o avançar da lactação as concentrações plasmáticas de NEFA diminuíram, sendo este decréscimo, no entanto, mais lento nas vacas que receberam rBST.

Rennó Neto (2004) verificou a alteração nos valores de NEFA em animais cuja suplementação se iniciou com 60 dias de lactação, no entanto, nos animais cuja aplicação foi realizada com 100 dias ou mais, não foi constada nenhuma alteração significativa nos seus valores.

Quando levamos em consideração a espécie bubalina notamos um comportamento muito semelhante aos bovinos, em relação às concentrações de NEFA, que com o avanço da idade os animais apresentam uma diminuição nas concentrações de NEFA, iniciando em $250 \pm 6,24 \mu\text{mol NEFA/L}$ e estabilizando-se em $98,3 \pm 11,70 \mu\text{mol NEFA/L}$ após 1 ano (MONDAL; PRAKASH, 2004). Em outro

estudo realizado, Haldar e Prakash (2007) verificaram uma correlação positiva, entre aumento na concentração de NEFA plasmático e a suplementação com fator liberador de hormônio do crescimento em búfalos.

2.4 TRIGLICÉRIDES

Tendo o foco nas concentrações plasmáticas de triglicérides, quando os animais estiverem com o balanço energético negativo, as taxas lipolíticas estarão maiores que as taxas lipogênicas no tecido adiposo, sendo esperado, portanto, um aumento nos teores séricos de triglicérides. Consubstanciando esta afirmação, Bauman e Currie (1980) concluem que o tecido adiposo, uma vez em balanço energético negativo, sobreviria um aumento nas concentrações plasmáticas de NEFA e triglicerídeos e, muitas vezes, associado a um aumento do colesterol.

Soderholm et al. (1988) avaliaram a concentração plasmática de triglicérides em vacas suplementadas com rBST em três dosagens diferenciadas: 10,3; 20,6 e 41,2 mg/dia de rBST e apesar de numericamente as concentrações plasmáticas de triglicérides, nos grupos que receberam doses diária de 20,6 e 41,2 mg de rBST, serem cerca de 32,1 e 25,7% maiores do que os animais não suplementados, não foi verificado efeito significativo da aplicação de rBST sobre a concentração plasmática de triglicérides. De forma semelhante, Lough e al. (1988) e McGuffey et al. (1990) também não verificaram efeito da aplicação de rBST sobre as concentrações plasmáticas de triglicérides, apesar de numericamente apresentarem maiores concentrações os animais suplementados com rBST.

Já Rennó Neto (2004), verificou um aumento substancial nas concentrações de triglicérides quando a suplementação com rBST ocorre durante a fase de balanço energético negativo. Segundo esse autor animais suplementados a partir do 60º dia da lactação com 500 mg de somatotropina a cada 15 dias, apresentavam aumento dos níveis séricos de triglicérides até o 105º dia de lactação. No mesmo estudo demonstrou-se que os valores de triglicérides não sofriam qualquer alteração quando a suplementação foi realizada a partir do 100º dia de lactação.

Ao avaliar os efeitos metabólicos da aplicação de rBST sobre o metabolismo de lipídios em vacas leiteiras observa-se que as alterações na partição de nutrientes,

provocada pelo maior direcionamento de nutrientes para a glândula mamária, sustentando os aumentos de produção, associadas com um aumento mais lento no consumo de matéria seca em relação a estes aumentos de produção de leite, resultam em mobilização de reservas corporais e na maior concentração plasmática de NEFA, mesmo quando vacas são tratadas com rBST em diferentes fases da lactação. De forma semelhante, as concentrações plasmáticas de colesterol e de triglicérides podem estar aumentadas quando vacas são suplementadas com rBST.

Não foram encontrados relatos com relação às concentrações de β -HBO relacionados com a aplicação de rBST. Segundo Beitz (1996), Não foram encontrados relatos com relação às concentrações de β -B-HBO (β -HBO) relacionados com a aplicação de rBST. Segundo Beitz (1996), o β -HBO é um corpo cetônico originado a partir da ausência de quantidades suficientes de oxaloacetato no ciclo do ácido cítrico (Ciclo de Krebs). Em condições normais, o acetil-CoA, originado a partir da oxidação de NEFA, ingressa no ciclo do ácido cítrico e é submetido a uma série de reações que culmina na formação de CO_2 e liberação de energia. A partir da ausência de oxaloacetato, o acetil-CoA é então direcionado para outras vias metabólicas, podendo ser transformado em acetato, precursor de corpos cetônicos como β -HBO e acetona. Como consequência da presença de β -HBO circulante, poderemos observar um quadro de acetonemia, característico da cetose, convergindo para uma maior mobilização de ácidos graxos provenientes dos adipócitos e um maior fluxo de NEFA para o fígado. Essas condições são semelhantes tanto para ruminantes como para monogástricos em balanço energético negativo (AIELLO et al., 1984).

Quando a quantidade gerada de NEFA atinge valores de grande magnitude, teremos uma redução nos teores de oxalacetato, com consequente formação de corpos cetônicos, sendo estes representados por 65% de β -HBO (HERDT, 1998; MARUTA, 2005). No entanto, este composto pode ser oriundo da fermentação ruminal (MARUTA, 2005) uma vez que os ruminantes diferem, entre outros aspectos, dos demais monogástricos na medida em que grandes quantidades de corpos cetônicos alimentares são liberados na veia porta devido à presença de fermentação bacteriana no rúmen. Os produtos finais da fermentação de carboidratos, acetato e butirato, podem ser convertidos em acetoacetato e β -HBO durante a absorção pelo epitélio ruminal, sendo assim denominada a cetogênese alimentar. Os corpos cetônicos circulantes no ruminante são 4-5 vezes maiores que

o encontrado em animais não-ruminantes (HEITMANN et al., 1987).

Mesmo sendo os metabólitos sanguíneos de animais suplementados com a rBST um assunto muito estudado, poucos são os estudos que relacionam a concentração plasmática de colesterol e de triglicérides. Tendo como foco o colesterol, podemos citar os fatores que afetam a sua variação, como a condição fisiológica do animal, a produção leiteira, o estágio da lactação e a dieta. Entretanto, quando em lactação e com dietas não acrescidas de lipídios, as concentrações plasmáticas podem estar entre 140 e 221mg/dL (WILLIAMS, 1989). Outros estudos relatam valores de 125mg/dL (Kappel et al., 1984) e 118mg/dL (GRUMMER; CARROL, 1988).

As possíveis influências do uso da rBST nos teores plasmáticos de colesterol foram estudadas primeiramente por Bitman et al. (1984), sendo que esses autores ao estudarem vacas no início da lactação, quando o balanço energético se encontra negativo, constataram qualquer efeito da rBST sobre as concentrações plasmáticas de colesterol, ésteres de colesterol e de fosfolipídios. Corroborando com esses resultados, McGuffey et al. (1990), ao avaliar duas metodologias de suplementação com rBST, utilizadas a partir de 45 dias pós-parto, concluíram que a suplementação com rBST não aumenta as concentrações plasmáticas de colesterol.

Apesar de esses estudos indicarem que o uso da rBST não influenciava diretamente as concentrações plasmáticas de colesterol, a suplementação com esse hormônio aceleraria, segundo Knapp et al. (1992), o metabolismo do propionato e do acetato em mais de duas vezes, determinando aumento da taxa de gliconeogênese e de oxidação hepática. Segundo esses autores esse aumento do metabolismo hepático em decorrência da utilização do rBST deveria elevar as concentrações plasmáticas de colesterol, no entanto, os resultados das suas pesquisas evidenciaram um decréscimo nas concentrações plasmáticas de colesterol.

Logo a seguir, em pesquisa realizada por De La Sota et al. (1993) para avaliar a atividade ovariana de vacas em lactação e vacas secas submetidas a suplementação com rBST, foi observado aumento na concentração plasmática de colesterol após o uso da rBST em ambos os grupos, sendo este aumento significativamente maior nas vacas em lactação do que nas vacas secas.

Esta aparente contradição dos efeitos da rBST nos teores plasmáticos de colesterol foi elucidada por Esteban et al. (1994), durante pesquisa na qual avaliou os níveis de colesterol em animais submetidos ao tratamento com rBST com

diferentes dosagens. Segundo Esteban et al, (1994), as concentrações plasmáticas de colesterol eram semelhantes quando o tratamento com rBST era feito com doses intermediárias (entre 17,2 e 51,6 mg/dia). No entanto, quando eram administradas doses elevadas de rBST (86,6 mg/dia), foi observada uma diminuição significativa na concentração plasmática de colesterol.

2.5 Avaliação da influência da aplicação de somatotropina na composição do leite e no número de células somáticas

O leite é um produto da secreção da glândula mamária de alto valor biológico, sendo de muita relevância para alimentação humana (tanto *in natura* como processado). A sua composição nutricional básica e equilibrada possui gordura, proteína, açúcares, minerais e vitaminas, além de água (DADO et al., 1993).

Os constituintes do leite, por exemplo, as proteínas e os ácidos graxos, são originários do plasma sanguíneo, no qual se encontram pré-formados em quantidades menores e na glândula mamária ocorre sua síntese em maiores quantidades. Já os minerais e as vitaminas são constituintes pré-formados no plasma. A lactose por sua vez tem sua síntese exclusivamente localizada na glândula mamária (DADO et al., 1993).

Na composição da gordura do leite de ruminantes há uma participação relevante dos triglicérides (97-98%) que são sintetizados nas células epiteliais mamárias. Para a formação da gordura são mobilizados ácidos graxos pré-formados, provenientes da dieta, ou então se faz necessária a mobilização das reservas corporais, NEFA e lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Quando se refere aos ácidos graxos de cadeia média e curta sintetizados pela glândula mamária, sua procedência é do acetato e do β -HBO. Em relação aos ácidos graxos de cadeia ímpar e ramificada, estes já chegam à glândula mamária pré-formados pela população microbiana do rúmen (PALMQUIST et al., 1993; CHILLIARD et al., 2000).

A mais relevante das proteínas do leite (85% do total) é a caseína, que por sua vez é composta por diversos tipos (α , β , γ , κ). Os diversos tipos de caseína são encontrados em micelas. O restante das proteínas se divide em lacto-albumina,

lacto-globulina e imunoglobulinas. A origem das proteínas do leite está em sua grande maioria (90%) nos aminoácidos livres do sangue, o restante é originado das proteínas séricas (SCHALM et al. 1971; FONSECA; SANTOS, 2000).

O leite também possui açúcares, dos quais podemos citar a lactose, como o principal representante. A lactose é localizada principalmente no leite, embora, já tenha sido relatada sua presença em algumas frutas (GONZALÉZ, 2001; TRONCO, 2003). Para originar a lactose, se faz necessária a gliconeogênese hepática, uma vez que ela origina as moléculas de glicose, que são liberadas no plasma e utilizadas na formação da lactose no interior da célula.

Como a lactose não é hidrolisada, nem se difunde para o exterior da célula, mas sim, se mantém no interior da vesícula secretora, a qual possui uma membrana semipermeável, esta atrai água para o interior da célula, visando o balanceamento da pressão osmótica da vesícula. Devido a esse processo, a lactose torna-se o componente do leite que sofre menor variação (HURLEY, 2004).

No Quadro 2 estão relacionados os teores médios dos constituintes do leite de búfalas referentes a pesquisas realizadas no Brasil (HÜHN et al., 1982; VERRUMA; SALGADO, 1994; MACEDO et al., 1997; TONHATI, 1999; DUARTE et al., 2001; FARIA et al., 2002; MESQUITA et al., 2002; AMARAL et al., 2004;) e em outros países (SWAMINATHAN e PARPIA, 1968; ELTAWIL et al., 1976; ALIM, 1978; SHARMA et al., 1980; NRC, 1981; PADEY et al., 1986; DUBAY e GUPTA, 1989; RAHMAN e GILL, 1990; FRANSCISCIS e DI PALO, 1994; SPANGHERO e SUSMED, 1996; DUBAY et al., 1997; KHOLIF, 1997; PEEVA, 1997; BOVERA et al., 2001; FUNDORA et al., 2001; PEEVA, 2001; TZANKOVA, 2001; CASTILLO, 2002; PATIÑO et al., 2004) são similares.

Fonte	Componentes			
	Água (%)	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)
Swaminathan e Parpia (1968)	-	7,5	3,8	4,4
Eltawil et al. (1976)	-	6,63	3,99	-
Alim (1978)	-	6,57	-	-
Furtado (1980)	-	6,6	4,79	5,52
Sharma et al. (1980)	-	7,4	4,01	-
	-	7,4	3,92	-
	-	7,4	3,94	-
	-	7,3	4,01	-
NRC (1981)	82	7,5	4,4	4,8
Hühn et al. (1982)	-	6,85	3,68	3,83
Pandey et al. (1986)	-	7,23	4,33	-
Antunes et al. (1988)	-	6,15	4,1	-
Dubay e Gupta (1989)	-	6,8	3,9	4,37
Rahman e Gill (1990)	-	7,33	-	-
Franciscis e Di Palo (1994)	-	8,1	4,54	-
Verruma e Salgado (1994)	83	8,16	4,5	-
Spanghero e Susmed (1996)	-	8,55	4,27	5,15
Macedo et al. (1997)	-	6,59	4,13	-
Dubay et al. (1997)	-	7,65	3,81	4,83
Faria et al. (1997)	-	6,12	3,8	-
	-	6,32	3,66	-
Kholif (1997)	-	7,13	3,76	5,08
Peeva (1997)	-	7,93	4,5	4,95
Tonhati (1999)	-	7,07	4,42	-
	-	6,14	3,83	-
	-	6,82	3,96	-
	-	6,93	3,81	-
Bovera et al. (2001)	-	6,6-8,4	4,3-4,9	-
Duarte et al. (2001)	82,5	5,6-7,8	4,2	5,2
Fundora et al. (2001)	-	6,98	5,4	-
Tzankova (2001)	-	7,36	4,19	5,08
Peeva (2001)	-	7,94	4,49	4,86
Castillo et al. (2002)	-	9,1	5,06	-
Faria et al. (2002)	81-84,2	5,5-8,3	4,2-4,5	-
Mesquita et al. (2002)	82,2-83,3	6,1-10,4	3,8-4,0	5,4-5,8
Amaral et al. (2004)	-	6,83	4,19	-
Patiño et al. (2004)	-	7,22	3,85	4,49
Amaral (2005)	-	6,85	4,19	4,93

Quadro 2 – Constituintes do leite de búfalas conforme autores citados

A rBST promove um aumento na produção de leite, como consequência ocorrem algumas adaptações no metabolismo dos animais para suportar esse aumento na produção. Com relação à composição do leite em vacas, alguns autores, como Bauman (1992), creditam as alterações sofridas na composição do leite de animais suplementados com rBST a um reflexo do estado nutricional dos mesmos. Dell'Orto et al. (1990), constataram que o aumento na produção se dá poucos dias após a administração da rBST e devido a ingestão de matéria seca não se elevar de maneira imediata, ocorre um déficit de energia para suportar os novos níveis de produção. Peel e Bauman (1987) e Lynch et al. (1992) constataram que associado ao déficit de energia ocorreria maior mobilização das reservas de gordura corporal e aumento nas concentrações plasmáticas de NEFA. Em consequência a lipólise ocorreria incorporação dos ácidos graxos insaturados e de cadeia longa na secreção láctea e aumento nos teores de gordura no leite. Bremmer et al. (1997), observaram uma propensão ao aumento na porcentagem de sólidos totais devido a tendência de aumento nas porcentagens de gordura do leite de animais suplementados com rBST. Este aumento na porcentagem de gordura e sólidos totais em animais suplementados com rBST se deve ao aumento na produção de leite e tende a aumentar a porcentagem de gordura no leite.

Com relação aos outros constituintes do leite como contagem de células somáticas, teor de lactose do leite e sólidos totais, os trabalhos estão em consenso quando afirmam não haver influência do tratamento sobre nenhum dos constituintes do leite, bem como seu uso na fabricação de queijos e derivados lácteos não sofre qualquer alteração (FERRARA et al., 1989; LUDRI et al., 1989; BALDI, 1999; JORGE et al., 2002; ABO EL-NOR et al., 2007).

Um parâmetro com variação significativa, encontrado por vários autores, é o teor de proteína que possui uma tendência de variação nos primeiros dias após a instituição do tratamento. Essa variação é anterior ao pico de produção ou resposta a somatotropina e ocorre através da diminuição do teor de proteínas do leite (DELL'ORTO, et al., 1991; SGOIFO ROSSI et al., 1993; ROSI et al., 1997; JORGE et al., 2002; ABO EL-NOR et al., 2007).

2.6 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE SOMATOTROPINA EM BÚFALAS EM LACTAÇÃO

Ao estudarem os efeitos da aplicação de rBST em búfalas utilizando aplicações diárias de 25 e de 50 mg de somatotropina durante 14 dias, Ludri et al. (1989), relataram o aumento na produção leiteira de ambos os grupos, sendo que o grupo em que administrou-se 25 mg o aumento foi de 16,8% e no grupo no qual administrou-se 50 mg diários o aumento na produção leiteira foi de 29,5%. Este efeito pode ser observado, principalmente, na segunda semana do experimento, sendo que as respostas individuais ao tratamento determinaram aumentos de produção que variaram entre 5,9% e 63,4%. Com relação à composição do leite, Ludri et al. (1989), não constataram nenhuma alteração nos teores de gordura e proteína devido ao tratamento. Da mesma forma, não foram observadas alterações significativa do escore corporal durante o experimento.

O estudo conduzido por Ferrara et al. (1989), fizeram uso de 640 mg de rBST a cada 28 dias, durante dois ciclos, relataram um aumento de 12,7% na produção de leite.

Polidori et al. (1997), avaliaram os efeitos da administração de gordura protegida com sais de cálcio em 51 búfalas tratadas durante 80 dias com aplicações de 320 mg de rBST a cada 21 dias e verificaram que o aumento na produção de leite dos animais suplementados com rBST era de 30%. Com relação à composição do leite, Polidori et al. (1997), não constataram nenhuma alteração nos teores de gordura e proteína devido ao tratamento. Com relação à contagem de células somáticas, o estudo citado, não obteve resultado conclusivo, tendo em vista, que os dados obtidos foram apresentaram uma enorme variação e os dados referentes a este parâmetro em bubalinos é escasso, não permitindo qualquer correlação com o tratamento instituído.

Quando Rosi et al. (1997), realizaram seu estudo em búfalas, obtiveram aumentos decorrentes da suplementação com rBST de 13 a 45%.

Baldi (1999), em seu estudo encontrou um aumento na produção de leite em búfalas de variando entre 16 e 21%.

Pesquisas realizadas por Srinivasa-Rao e Ranganadham (2000), evidenciaram que búfalas da raça Murrah, submetidas à tratamento com 500 mg de

rBST exibiram maior persistência da lactação sem evidenciar qualquer diferença na composição do leite.

Jorge et al. (2002), estudaram os efeitos da rBST em 14 búfalas tratadas com 500 mg do princípio ativo a cada 14 dias durante os sete primeiros meses de lactação e verificaram que as búfalas tratadas com rBST exibiram um aumento de 32,8 % na produção diária de leite. Segundo Jorge et al. (2002), a porcentagem de gordura e de proteína do leite não foi afetada pela administração da somatotropina, enquanto o período de lactação nos animais tratados ($221,6 \pm 10,2$ dias) foi maior do que nos animais controles ($198,1 \pm 11,8$ dias).

Outro estudo foi realizado por Abo El-Nor et al. (2007), avaliando a utilização de 500 mg de rBST e monensina, lançando mão de 20 animais subdivididos em 4 grupos. Obteve resultados espantosos de 62,6% de aumento na produção de leite decorrente do tratamento. Esse resultado tão elevado foi atribuído a diferença genética dos búfalos utilizados no experimento. No referido experimento foi encontrado também uma diferença significativa quando avaliados os constituintes do leite como gordura, sólidos totais, proteína e lactose.

Khattab et al. (2008), em seu estudo com 20 búfalas em lactação avaliando o uso da rBST concomitantemente a suplementação com monensina, dividiu os animais em 4 grupos, com a suplementação se iniciando aos 14 dias antes da data prevista de parto até os primeiros 120 de lactação. Obteve uma resposta muito boa quando levada em consideração produção de leite de búfalas. O aumento obtido foi de 44,15%, sem afetar a composição do produto em questão.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Previamente ao material e métodos serão feitas algumas considerações gerais.

3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O presente experimento foi conduzido na fazenda Paineiras do Ingaí, localizada no município de Alambari, SP, 595 metros acima do nível do mar. O sistema de produção de leite encontrava-se instalado em uma área de 93 hectares (ha), sendo 50 hectares dedicados à exploração bubalina e, destes, 25 ha para produção leiteira sendo subdivididos em 15,5 ha de pastagens de *Brachiaria ruziziensis* utilizada como volumoso exclusivo no período de chuvas (novembro a maio); 4,0 ha de capineiras de *Panicum maximum* - Tanzania, Tobiata e Mombaça, para confecção de silagem e 5,5 ha de cana-de-açúcar, estes últimos fornecidos como volumoso no período de seca (junho a outubro). Os solos são francamente arenosos (95%).

Durante a lactação as búfalas recebem além do volumoso, cerca de 40 a 45% de concentrados na base de matéria seca, representados por caroço de algodão (2 kg/dia), resíduo de cervejaria (10 kg/dia) e polpa cítrica (2 kg/dia). Quando alimentadas com cana, recebem ainda cerca de 150 a 200 g/dia de uréia misturada com 80 g de sal mineral (mistura comercial) e mais 200 g de calcáreo/dia.

A composição teórica média do concentrado foi de 20,8% de PB e 73% de NDT, tendo havido um consumo médio aparente (total adquirido/produção) de 190 g de PB e 660 g de NDT de concentrados por litro de leite produzido.

3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais utilizados no experimento foram submetidos a uma avaliação

para assegurar que somente animais sadios, principalmente em relação à saúde da glândula mamaria, fossem incluídos na pesquisa.

Após a seleção dos animais, com o intuito de estudar os efeitos da aplicação da rBST no lipidograma dos bovinos e na constituição do leite, de animais que estavam no período entre 100 e 200 dias de lactação, dividiu-se os animais utilizados em dois grupos experimentais.

O primeiro grupo ou grupo controle, foi composto de 14 animais que não receberam qualquer tipo de medicação. O segundo grupo ou grupo de animais tratados com rBST foi constituído de 14 búfalas sadias, que receberam a aplicação de rBST, sendo injetado, por via sub-cutânea, 500 mg do princípio ativo somatotropina bovina recombinante (Boostin[®], Schering-Plough).

Dos 28 animais utilizados foram colhidas, nos dias 0, 1º, 3º, 5º, 7º, 10º e 14º dia amostras de sangue para a realização do lipidograma, sendo os resultados agrupados em conforme discriminado Quadro 3.

Momento das colheitas	Número de animais no grupo de animais controle	Número de animais no grupo de animais tratados com rBST
0	14	14
1º	14	14
3º	14	14
5º	14	14
7º	14	14
10º	14	14
14º	14	14

Quadro 3 – Constituição dos grupos experimentais para avaliar a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) no lipidograma e na constituição do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação - São Paulo - 2008

3.3 QUANTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO DE LEITE

Para quantificação do volume de leite, foi utilizado o sistema presente na

fazenda, que consistia em um medidor Waitako® Mk V Milk Meter. Esse medidor permitiu a obtenção dos dados na unidade de Kg, para alterar a unidade para litros, foi usado o fator de correção de 1,032 sugerida por Amaral et al. (2004).

3.4 COLHEITA DAS AMOSTRAS

As amostras de sangue foram colhidas por meio da punção da veia mamária externa, sem o garroteamento excessivo do vaso. Para a colheita de soro sanguíneo foram utilizados tubos de vidro estéril siliconizados com gel separador inerte para soro e com ativador de coágulo, providos de tampa plástica protetora e com vácuo suficiente para aspirar 6 ml de sangue. Para a colheita de plasma sanguíneo foram utilizados tubos contendo fluoreto de sódio a 1% providos com tampa plástica e com vácuo suficiente para aspirar 4 mL de sangue. Após a colheita as amostras de sangue foram mantidas em temperatura ambiente e transportadas para o Laboratório do Centro de Pesquisa e Diagnóstico de Enfermidades dos Ruminantes do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo. Neste laboratório, as amostras foram centrifugadas com força real de centrifugação igual a 1000 g, durante 15 minutos, para a ocorrência de uma adequada sinérese do coágulo ou sedimentação dos elementos figurados do sangue. Em seguida, o soro sanguíneo foi separado por inversão em 3 alíquotas e o plasma sanguíneo por aspiração em duas alíquotas, sendo o material acondicionado em tubos plásticos providos de tampas com capacidade para 4 mL. As alíquotas de soro e plasma foram conservadas em freezer a uma temperatura de -20 °C até a realização das provas necessárias.

3.5 DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS

A seguir serão descritas as técnicas utilizadas para a avaliação do lipidograma.

3.5.1 Técnicas utilizadas para a avaliação do lipidograma

Para avaliação do lipidograma dos bovinos optou-se pela determinação dos teores de ácidos graxos livres não esterificados (NEFA), colesterol e triglicérides, sendo essa avaliação complementada pela determinação de glicose.

3.5.2 Determinação de ácidos graxos livres não esterificados (NEFA)

A determinação dos teores de ácidos graxos livres não esterificados (NEFA) foi quantificado por metodologia enzimática colorimétrica, em Analisador Bioquímico modelo Liasys -AMS -Itália, utilizando-se *kit* comercial da WAKO -USA (número de artigo o 994- 75409-E).

O princípio da prova estava baseado na ação da Acil-CoA sintetase, na presença de ATP e cofatores, sobre os ácidos graxos livres não esterificados (NEFA) dando origem a Acil-CoA, AMP e Ppi. Essa Acil-CoA foi então oxidada, produzindo peróxido de hidrogênio, que era auxiliar na reação de condensação de uma hidroxianilina com a aminoantipirina, ambos presentes no reagente, havendo a formação de um complexo de coloração púrpura, cuja intensidade de coloração em 550 nm foi diretamente proporcional à quantidade de NEFA presente na amostra, método desenvolvido pelo fabricante do *kit* (não publicado)¹ sendo a reação de coloração baseada em ELPHICK, 1968.

3.5.3 Determinação do colesterol

A determinação dos teores de colesterol foi quantificada por metodologia enzimática colorimétrica, em Analisador Bioquímico modelo Liasys -AMS -Itália, utilizando-se *kit* comercial da Biosystems-Espanha (número de artigo 11505).

¹ M. C, 1968 não publicado

Por esse método, o colesterol sofreu a ação da colesterol esterase e posteriormente da colesterol oxidase, originando um produto intermediário e água oxigenada. A água oxigenada formada reagiu com a 4-amino antipirina e fenol, na presença de peroxidase, dando origem a um complexo colorido, cuja intensidade de cor foi diretamente proporcional à concentração de colesterol presente na amostra, em 500 nm (ALLAIN et al., 1974).

3.5.4 Determinação de triglicérides

A determinação dos teores de triglicérides foi quantificado por metodologia enzimática colorimétrica, em Analisador Bioquímico modelo Liasys -AMS -Itália, utilizando-se *kit* comercial da Biosystems -Espanha (número de artigo 11528).

Por este método, os triglicérides foram hidrolisados pela lipase presente no reagente, liberando glicerol, que foi catalisado pela glicerol quinase e glicerol fosfato oxidase, havendo geração de peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio sofreu a ação da peroxidase concomitantemente à produção de um complexo colorido, a quinolairnina, devido a um sistema reagente existente composto de clorofenol e antipirina. A coloração desenvolvida foi proporcional à concentração de triglicérides da amostra, em 500 nm (FOSSATI; PRENCIPE, 1982).

3.5.5 Determinação dos teores séricos de beta-hidroxibutirato

A determinação dos teores séricos de β -HBO foi quantificada por metodologia enzimática colorimétrica em Analisador Bioquímico Automático da marca AMS, modelo Liasys, utilizando-se kit comercial da marca Randox® (código de produto FA 1007).

O princípio do método está baseado na oxidação de D-3- β -HBO em acetoacetato pela enzima desidrogenase 3-B-HBO . Concomitantemente com esta oxidação o cofator NAD^+ é reduzido a NADH dando origem a coloração, cuja intensidade medida em comprimento de onda igual a 340 nm mantém relação direta

com a quantidade de β -HBO presente na amostra. Sendo considerada a temperatura de reação igual a 37°C e os resultados expressos em mg/dL.

3.5.6 Determinação de glicose

O teor de glicose foi quantificado pelo método GOD-PAP, recomendado por Barham e Trinder (1972), em Analisador Bioquímico modelo Liasys -AMS -Itália, utilizando-se kit comercial da Merck.

Pela ação da glicose oxidase (GOD) a glicose era oxidada a ácido glicônico e peróxido de hidrogênio; este último, na presença de peroxidase (POD) reagia com a 4-aminofenazona e com o 2,4-diclofenol, formando um composto de coloração rósea, a antipirilcloroquinonimina, cuja intensidade, ao ser avaliada sob a ação de luz monocromática com comprimento de onda de 510 nm, revelava-se diretamente proporcional à quantidade de glicose existente na amostra.

3.6 DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE GORDURA, PROTEÍNA, LACTOSE E SÓLIDOS TOTAIS

A determinação dos valores de lactose, gordura, proteína e sólidos totais, foi realizada no Laboratório de Fisiologia da Lactação do Centro de Tecnologia para o Gerenciamento da Pecuária de Leite - Departamento de Produção Animal da ESALQ - USP Piracicaba. As amostras de leite, antes do início da análise, são mantidas em banho-maria a 38 °C durante 15 minutos, homogeneizadas, manualmente, sendo as determinações dos valores de lactose, gordura, proteína e sólidos totais no leite realizadas por radiação infravermelha utilizando-se o equipamento BENTLEY 2000 da Empresa Bentley Instruments Inc. Uma alíquota de leite, depois de ser aspirada pelo equipamento BENTLEY 2000, é exposta a uma fonte de radiação infravermelha provocando a emissão de um espectro de ondas, sendo que a lactose, que apresenta pico máximo da absorbância entre 2 μ m e 15 μ m é identificada e quantificada pelo equipamento. Os resultados foram expressos em g/dL.

3.6.1 Contagem eletrônica do número de células somáticas

As amostras de leite, antes do início da análise, foram mantidas em banho-maria a 38 °C, durante 15 minutos, e a seguir, homogeneizadas, manualmente, sendo a contagem de células somáticas realizada por citometria de fluxo, utilizando-se o equipamento SOMACOUNT 500 da Empresa Bentley Instruments Inc.

Nesse procedimento uma alíquota de leite, depois de ser aspirada pelo equipamento SOMACOUNT 500, foi misturada com o corante brometo de etílio que cora o DNA do núcleo das células somáticas. Essas células coradas, quando expostas a uma fonte luminosa de laser, fluorescem, sendo convertidas no tubo multiplicador do equipamento em impulsos elétricos que foram registrados, e os resultados expressos em células somáticas ($10^3/\text{ml}$).

3.7 ANALISE ESTATÍSTICA

A análise descritiva das variáveis foi feita através das seguintes medidas-resumo: média, desvio-padrão, mediana, amplitude (valores mínimo e máximo) e número de animais. Em cada variável, foram calculados os intervalos com 95% de confiança para a diferença entre os grupos BST e Controle, em cada instante.

Os valores médios foram descritos graficamente através de gráficos de perfis, que representam a média e o erro-padrão da média em cada grupo (BST e Controle) e em cada um dos 7 instantes observados.

Para a análise inferencial, foi testada a homocedasticidade (homogeneidade de variâncias entre os grupos), em cada uma das variáveis, através do teste de Levene.

Foi utilizada a ANOVA (Análise de Variância) com medidas repetidas e comparações múltiplas LSD (Least Significant Difference, equivalente a nenhum ajuste do nível de significância). No procedimento de ANOVA foram testados os fatores Grupo, Tempo e Interação entre Grupo e Tempo. Quando houve significância

de Interação, os grupos foram comparados separadamente em cada momento, através do Teste t de Student.

Para a ANOVA, o nível de significância adotado foi de 5%, ou seja, níveis descritivos (p) inferiores a 5% foram considerados resultados significantes.

Para as conclusões das comparações múltiplas, foi feito um ajuste no nível de significância. Foram considerados significativos os resultados com níveis descritivos (p) inferiores a 0,24%, resultado da divisão de 5% por 21 comparações entre os instantes 2 a 2. Não havendo diferença significativa a 0,24%, foi ressaltada a comparação com menor nível de significância. Esses resultados e valores estão especificados em cada tabela.

Como uma análise exploratória, foi feita a comparação múltipla entre os tempos para cada grupo separadamente, para as variáveis que apresentaram resultado significativo no fator Tempo.

Foi utilizado o software estatístico SPSS versão 15 for Windows.

4 RESULTADOS

A seguir serão apresentados os resultados obtidos.

4.1 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA (RBST) NA QUANTIDADE DE LEITE PRODUZIDO DE BÚFALAS DA RAÇA MURRAH

Durante a avaliação dos resultados dos efeitos da aplicação de somatotropina recombinante bovina na produção leiteira de búfalas, observou-se a partir do 3º dia após o início do tratamento um aumento na quantidade de leite produzido no grupo tratado a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 1 e

Tabela 1. A aplicação dos testes estatísticos não pôde comprovar a existência de diferenças estatísticas significantes entre os grupos, entretanto quando a análise estatística foi realizada em função do momento transcorrido após a aplicação da rBST observou-se diferenças estatísticas significantes. Verificou-se nessa análise que somente no grupo tratado com rBST houve um aumento da produção de leite, enquanto no grupo controle não foram observadas variações na produção de leite no período estudado.

Quando analisamos o grupo tratado, tomando o dia da aplicação da somatotropina recombinante bovina como base, temos no 1º dia após suplementação uma diminuição de 4,7%, já no 3º dia após a suplementação observamos um aumento de 20,6%, no 5º dia após a suplementação temos um aumento de 33,7%, no 7º dia após a suplementação temos um aumento de 31%, no 10º dia após a suplementação temos um aumento de 23,1% e no 14º dia após a suplementação temos um aumento de 10,6% em função do tratamento instituído.

Durante o experimento a resposta ao tratamento, foi muito variada no grupo suplementado com a somatotropina recombinante, pois 28,5% (4/14) dos animais

apresentaram resposta já no 3º dia após a suplementação, 42,8% (8/14) dos animais apresentaram resposta no 5º dia após a suplementação, 14,3% (2/14) dos animais apresentaram resposta no 7º dia após a suplementação, 7,1% (1/14) dos animais apresentaram resposta no 10º dia após a suplementação e 7,1% (1/14) dos animais não apresentaram qualquer resposta em função do tratamento instituído.

a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 1 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) sobre a quantidade de leite (L) produzido de búfalas da raça Murrah - São Paulo - 2008

Tabela 1 – Média, desvio padrão e amplitude de variação quantidade de leite produzido de búfalas da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo - 2008

Momentos		Produção de leite (L)	
		Búfalas tratadas com 500 mg de rBST	Grupo controle
M0	Dia da aplicação da rBST	6,55 ^{a, d} ± 2,31 (2,00 – 9,39)	6,67 ^a ± 3,55 (0 – 10,01)
M1	1º Dia após a aplicação da rBST	6,31 ^{a, d} ± 2,04 (3,30 – 9,91)	6,49 ^a ± 3,05 (2,68 – 10,94)
M3	3º Dia após a aplicação da rBST	7,90 ^{a, d} ± 2,11 (5,57 – 12,90)	6,86 ^a ± 2,68 (1,03 – 10,94)
M5	5º Dia após a aplicação da rBST	8,76 ^{b, d} ± 2,32 (4,54 – 11,56)	7,24 ^a ± 2,92 (1,44 – 13,83)
M7	7º Dia após a aplicação da rBST	8,59 ^{b, c, d} ± 2,53 (4,75 – 15,07)	7,17 ^a ± 2,67 (1,86 – 10,94)
M10	10º Dia após a aplicação da rBST	8,07 ^d ± 1,69	7,01 ^a ± 2,39

		(5,16 – 11,35)	(1,34 – 10,84)
M14	14º Dia após a aplicação da rBST	7,25 ^d ± 2,80 (2,58 – 12,38)	6,84 ^a ± 1,98 (2,68 – 10,12)

a, b, c, d – letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa (p<0,05)

4.1.1 Avaliação dos teores de gordura do leite

A avaliação dos resultados apresentados na Tabela 2 e no a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos (p<0,05)

Gráfico 2 bem como a análise estatística, não demonstrou a existência de influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) nos teores lácteos de gordura. Durante os 14 dias de experimento os teores lácteos de gordura no grupo tratado com 500 mg de rBST oscilaram entre $4,85 \pm 1,11$ e $5,53 \pm 1,02$ g/dL, enquanto no grupo controle oscilaram entre $4,69 \pm 1,12$ e $5,23 \pm 1,28$ g/dL sem que qualquer diferença estatística pudesse ser observada na comparação entre os grupos experimentais.

a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos (p<0,05)

Gráfico 2 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), sobre o teor de gordura do leite de búfalas da raça Murrah - São Paulo - 2008

Tabela 2 – Média, desvio padrão e amplitude de variação dos teores lácteos de gordura em leite de búfalas da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo - 2008.

Momentos		Teores lácteos de gordura (g/dL)	
		Búfalas tratadas com 500 mg de rBST	Grupo controle
M0	Dia da aplicação da rBST	5,01 ^a ± 0,95 (3,84 – 6,96)	4,70 ^a ± 0,91 (3,84 – 6,96)
M1	1º Dia após a aplicação da rBST	4,95 ^a ± 1,30 (2,68 – 6,64)	5,23 ^a ± 1,28 (1,68 – 6,98)
M3	3º Dia após a aplicação da rBST	5,03 ^a ± 0,63 (3,94 – 5,95)	5,08 ^a ± 1,34 (1,56 – 6,48)
M5	5º Dia após a aplicação da rBST	4,86 ^a ± 0,85 (3,46 – 6,32)	5,06 ^a ± 0,85 (3,79 – 6,62)
M7	7º Dia após a aplicação da rBST	4,85 ^a ± 1,11 (2,03 – 6,67)	4,69 ^a ± 1,12 (2,65 – 6,16)
M10	10º Dia após a aplicação da rBST	5,53 ^a ± 1,02 (3,26 – 7,71)	4,97 ^a ± 0,99 (2,99 – 6,43)
M14	14º Dia após a aplicação da rBST	5,09 ^a ± 1,07 (2,72 – 6,33)	4,91 ^a ± 1,38 (1,41 – 6,89)

a – letras iguais na mesma linha denotam a ausência de diferença estatística entre as linhas (p<0,05)

4.1.2 Avaliação dos teores proteínas do leite

A avaliação dos resultados apresentados na Tabela 3 e a, b – letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos (p<0,05)

Gráfico 3 bem como a análise estatística, demonstrou a existência de influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) nos teores lácteos de proteína. Nos primeiros dias após a aplicação do rBST observou-se uma diminuição dos teores lácteos de proteína, sendo que no 3º dia após o início do tratamento hormonal verificou-se que os valores lácteos de proteína encontrados no grupo tratado com rBST (3,59 ± 0,22 g/dL) eram significativamente menores do que os observados no grupo controle (3,89 ± 0,22 g/dL). A partir do, 5º dia após o início do tratamento hormonal, os valores de proteína passam a oscilar sem que qualquer diferença estatística entre o grupo tratado e controle possam ser observados.

a, b – letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 3 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), sobre os teores lácteos de proteína do leite de búfalas da raça Murrah - São Paulo - 2008

Tabela 3 – Média, desvio padrão e amplitude de variação da concentração dos teores de proteína no leite em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo - 2008

Momentos		Teores lácteos de proteína (g/dL)	
		Búfalas tratadas com 500 mg de rBST	Grupo controle
M0	Dia da aplicação da rBST	3,78 ^a ± 0,95 (3,35 – 4,43)	3,83 ^a ± 0,23 (3,41 – 4,14)
M1	1º Dia após a aplicação da rBST	3,59 ^a ± 0,26 (3,11 – 4,11)	3,77 ^a ± 0,21 (3,39 – 4,09)
M3	3º Dia após a aplicação da rBST	3,59 ^b ± 0,22 (3,24 – 4,04)	3,89 ^a ± 0,22 (3,56 – 4,22)
M5	5º Dia após a aplicação da rBST	3,65 ^a ± 0,26 (3,35 – 4,20)	3,80 ^a ± 0,21 (3,46 – 4,21)
M7	7º Dia após a aplicação da rBST	3,78 ^a ± 0,29 (3,33 – 4,49)	3,78 ^a ± 0,24 (3,36 – 4,33)
M10	10º Dia após a aplicação da rBST	4,01 ^a ± 0,28 (3,65 – 4,66)	3,95 ^a ± 0,22 (3,60 – 4,39)
M14	14º Dia após a aplicação da rBST	3,96 ^a ± 0,27 (3,65 – 4,54)	3,86 ^a ± 0,27 (3,30 – 4,34)

a, b – letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as linhas ($p < 0,05$)

4.1.3 Avaliação dos teores de lactose

A avaliação dos resultados apresentados na Tabela 4 e a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 4 bem como a análise estatística, não demonstrou a existência de influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) nos teores lácteos de lactose. Durante os 14 dias de experimento os teores lácteos de lactose no grupo tratado com 500 mg de rBST oscilaram entre $4,90 \pm 0,37$ e $5,02 \pm 0,47$ g/dL, enquanto no grupo controle oscilaram entre $4,62 \pm 1,17$ e $4,96 \pm 0,26$ g/dL sem que qualquer diferença estatística pudesse ser observada na comparação entre os grupos experimentais.

a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 4 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), nos teores lácteos de lactose de bubalinos da raça Murrah - São Paulo - 2008

Tabela 4 – Média, desvio padrão e amplitude de variação dos teores lácteos de lactose em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo - 2008

Momentos		Teores lácteos de lactose (g/dL)	
		Búfalas tratadas com 500 mg de rBST	Grupo controle
M0	Dia da aplicação da rBST	5,02 ^a ± 0,47 (3,73 – 5,50)	4,79 ^a ± 0,73 (2,51 – 5,45)
M1	1º Dia após a aplicação da rBST	4,99 ^a ± 0,47 (3,90 – 5,67)	4,81 ^a ± 0,68 (2,61 – 5,50)
M3	3º Dia após a aplicação da rBST	5,00 ^a ± 0,44 (3,74 – 5,44)	4,96 ^a ± 0,26 (4,66 – 5,39)
M5	5º Dia após a aplicação da rBST	4,96 ^a ± 0,38 (4,02 – 5,53)	4,91 ^a ± 0,16 (4,62 – 5,14)
M7	7º Dia após a aplicação da rBST	4,90 ^a ± 0,37 (4,06 – 5,46)	4,75 ^a ± 0,78 (2,23 – 5,26)
M10	10º Dia após a aplicação da rBST	4,85 ^a ± 0,50 (3,91 – 5,36)	4,73 ^a ± 1,01 (1,44 – 5,34)
M14	14º Dia após a aplicação da rBST	4,93 ^a ± 0,40 (4,13 – 5,50)	4,62 ^a ± 1,17 (4,64 – 5,23)

a – letras iguais na mesma linha denotam a ausência de diferença estatística entre as linhas (p<0,05)

4.1.4 Avaliação dos resultados obtidos para os teores de sólidos totais

A avaliação dos resultados apresentados na Tabela 5 e no a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos (p<0,05)

Gráfico 5 bem como a análise estatística, não demonstrou a existência de influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) nos teores lácteos de sólidos totais. Durante os 14 dias de experimento os teores lácteos de sólidos totais no grupo tratado com 500 mg de rBST oscilaram entre 14,69 ± 1,10 e 16,2 ± 1,35 g/dL, enquanto no grupo controle oscilaram entre 14,49 ± 1,8 e 15,28 ± 1,24 g/dL sem que qualquer diferença estatística pudesse ser observada na comparação entre os grupos experimentais.

a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 5 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), nos teores de sólidos totais no leite de bubalinos da raça Murrah - São Paulo - 2008

Tabela 5 – Média, desvio padrão e amplitude de variação dos teores de sólidos totais do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo - 2008

Momentos		Teores de sólidos totais (g/dL)	
		Búfalas tratadas com 500 mg de rBST	Grupo controle
M0	Dia da aplicação da rBST	15,11 ^a ± 1,20 (10,75 – 15,80)	14,61 ^a ± 1,31 (10,75 – 15,80)
M1	1º Dia após a aplicação da rBST	14,74 ^a ± 1,57 (11,45 – 17,22)	15,10 ^a ± 1,50 (15,97 – 11,47)
M3	3º Dia após a aplicação da rBST	14,81 ^a ± 1,05 (16,53 – 12,25)	15,28 ^a ± 1,24 (12,11 – 16,93)
M5	5º Dia após a aplicação da rBST	14,69 ^a ± 1,10 (12,60 – 16,90)	15,07 ^a ± 0,69 (16,17 – 14,05)
M7	7º Dia após a aplicação da rBST	14,81 ^a ± 1,20 (12,46 – 17,59)	14,49 ^a ± 1,80 (9,07 – 15,71)
M10	10º Dia após a aplicação da rBST	16,02 ^a ± 1,35 (13,91 – 19,14)	15,20 ^a ± 2,05 (8,99 – 17,16)
M14	14º Dia após a aplicação da rBST	15,55 ^a ± 1,20 (13,11 – 17,56)	14,89 ^a ± 2,77 (6,12 – 16,82)

a – letras iguais na mesma linha denotam a ausência de diferença estatística entre as linhas ($p < 0,05$)

4.1.5 Avaliação do número de células somáticas no leite

A avaliação dos resultados apresentados na Tabela 6 e no a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 6 bem como a análise estatística, não demonstrou a existência de influência da aplicação de rBST no número de células somáticas do leite. Durante os 14 dias de experimento o número de células somáticas no leite no grupo tratado com 500 mg de rBST oscilaram entre $1113,26 \pm 473,85$ e $253,08 \pm 624,41 \times 1000$ células / mL, enquanto no grupo controle oscilaram entre $1457,06 \pm 724,69$ e $171,85 \pm 280,96$ células $\times 1000$ /mL sem que qualquer diferença estatística pudesse ser observada na comparação entre os grupos experimentais.

a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 6 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), nos teores de sólidos totais no leite de bubalinos da raça Murrah - São Paulo - 2008

Tabela 6 – Média, desvio padrão e amplitude de variação da contagem de células somáticas do leite de bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo - 2008

Momentos		Contagem de células somáticas (x 1000/mL)	
		Búfalas tratadas com 500 mg de rBST	Grupo controle
M0	Dia da aplicação da rBST	925,05 ^a ± 419,92 (10 – 3336)	1457,06 ^a ± 724,69 (11 – 5533)
M1	1º Dia após a aplicação da rBST	1113,26 ^a ± 473,85 (19 – 4059)	1446,63 ^a ± 904,64 (18 – 4972)
M3	3º Dia após a aplicação da rBST	269,85 ^a ± 741,54 (1 – 2706)	171,85 ^a ± 280,96 (3 – 304)
M5	5º Dia após a aplicação da rBST	253,08 ^a ± 624,41 (2 – 2303)	232,92 ^a ± 280,41 (3 – 771)
M7	7º Dia após a aplicação da rBST	333,71 ^a ± 608,32 (1 – 2256)	225,92 ^a ± 332,38 (2 – 1222)
M10	10º Dia após a aplicação da rBST	536,23 ^a ± 1029,08 (5 – 3049)	440,77 ^a ± 1003,31 (17 – 3713)
M14	14º Dia após a aplicação da rBST	337,69 ^a ± 767,25 (11 – 2856)	567,46 ^a ± 1502,67 (11 – 5547)

a – letras iguais na mesma linha denotam a ausência de diferença estatística entre as linhas (p<0,05)

4.2 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA (RBST) NO LIPIDOGRAMA DE BUBALINOS DA RAÇA MURRAH

A seguir serão feitas as avaliações dos resultados obtidos.

4.2.1 Avaliação dos resultados obtidos para a glicose

Conforme pode ser observado na Tabela 7 e no

a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos (p<0,05)

Gráfico 7, durante a avaliação dos resultados dos efeitos da aplicação de rBST no lipidograma de bubalinos, observou-se que os teores plasmáticos de glicose

não sofreram influência nos seus valores decorrente ao tratamento hormonal instituído.

Durante os 14 dias de experimento os teores plasmáticos de glicose no grupo tratado com 500 mg de rBST oscilaram entre $64,36 \pm 6,16$ e $71,64 \pm 8,21$ mg/dL, enquanto no grupo controle oscilaram entre $59,43 \pm 7,15$ e $70,93 \pm 7,01$ mg/dL sem que qualquer diferença estatística pudesse ser observada na comparação entre os grupos experimentais.

a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 7 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), na concentração plasmática de glicose de bubalinos da raça Murrah - São Paulo - 2008

Tabela 7 – Média, desvio padrão e amplitude de variação da concentração plasmática de glicose em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo - 2008

Momentos		Concentração plasmática de glicose (mg/dL)	
		Búfalas tratadas com 500 mg de rBST	Grupo controle
M0	Dia da aplicação da rBST	64,36 ^a ± 6,16 (55 – 72)	65,93 ^a ± 3,75 (61 – 74)
M1	1º Dia após a aplicação da rBST	69,50 ^a ± 5,54 (58 – 78)	65,71 ^a ± 8,90 (55 – 81)
M3	3º Dia após a aplicação da rBST	66,64 ^a ± 7,77 (55 – 78)	59,43 ^a ± 7,15 (48 – 69)
M5	5º Dia após a aplicação da rBST	68,36 ^a ± 9,36 (55 – 85)	64,93 ^a ± 7,65 (56 – 78)
M7	7º Dia após a aplicação da rBST	65,07 ^a ± 8,42 (51 – 77)	64,14 ^a ± 7,73 (54 – 77)
M10	10º Dia após a aplicação da rBST	67,50 ^a ± 7,56 (59 – 86)	68,36 ^a ± 6,92 (57 – 80)
M14	14º Dia após a aplicação da rBST	71,64 ^a ± 8,21 (59 – 84)	70,93 ^a ± 7,01 (58 – 80)

a – letras iguais na mesma linha denotam a ausência de diferença estatística entre as linhas (p<0,05)

4.2.2 Avaliação dos resultados obtidos para o colesterol

Conforme pode ser observado na Tabela 8 e no a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos (p<0,05)

Gráfico 8, durante a avaliação dos resultados dos efeitos da aplicação de rBST no lipidograma de bubalinos, observou-se que os teores séricos de colesterol não sofreram influência nos seus valores decorrente ao tratamento hormonal instituído.

Durante os 14 dias de experimento os teores séricos de colesterol e no grupo tratado com 500 mg de rBST oscilaram entre 104,53 ± 18,28 e 121,89 ± 18,47 mg/dL, enquanto no grupo controle oscilaram entre 113,61 ± 15,63 e 124,16 ± 24,05 mg/dL sem que qualquer diferença estatística pudesse ser observada na comparação entre os grupos experimentais.

a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 8 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), na concentração plasmática de colesterol de bubalinos da raça Murrah - São Paulo - 2008

Tabela 8 – Média, desvio padrão e amplitude de variação dos teores séricos de colesterol em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo - 2008

Momentos		Teores séricos de colesterol (mg/dL)	
		Búfalas tratadas com 500 mg de rBST	Grupo controle
M0	Dia da aplicação da rBST	121,89 ^a ± 18,47 (82,11 – 154,72)	117,31 ^a ± 16,82 (89,14 – 151,89)
M1	1º Dia após a aplicação da rBST	114,17 ^a ± 22,72 (149,54 – 74,78)	118,51 ^a ± 14,36 (96,42 – 150,37)
M3	3º Dia após a aplicação da rBST	121,50 ^a ± 20,11 (91,33 – 155,04)	123,82 ^a ± 19,81 (83,27 – 155,67)
M5	5º Dia após a aplicação da rBST	117,37 ^a ± 20,10 (153,10 – 85,54)	120,71 ^a ± 16,56 (149,84 – 85,25)
M7	7º Dia após a aplicação da rBST	117,08 ^a ± 22,52 (81,06 – 152,44)	118,99 ^a ± 17,46 (80,94 – 146,05)
M10	10º Dia após a aplicação da rBST	104,53 ^a ± 18,28 (70,67 – 141,60)	113,61 ^a ± 15,63 (82,09 – 143,03)
M14	14º Dia após a aplicação da rBST	115,74 ^a ± 19,17 (76,38 – 144,87)	124,16 ^a ± 24,05 (87,18 – 168,99)

a – letras iguais na mesma linha denotam a ausência de diferença estatística entre as linhas ($p < 0,05$)

4.2.3 Avaliação dos resultados obtidos para triglicérides

Conforme pode ser observado na Tabela 9 e a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 9, durante a avaliação dos resultados dos efeitos da aplicação de rBST no lipidograma de bubalinos, observou-se que os teores séricos de triglicérides não sofreram influência nos seus valores decorrente ao tratamento hormonal instituído.

Durante os 14 dias de experimento os teores séricos de triglicérides no grupo tratado com 500 mg de rBST oscilaram entre $8,85 \pm 3,85$ e $24,79 \pm 9,45$ mg/dL, enquanto no grupo controle oscilaram entre $10,73 \pm 3,16$ e $22,28 \pm 5,56$ mg/dL sem que qualquer diferença estatística pudesse ser observada na comparação entre os grupos experimentais.

a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 9 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), nos teores séricos de triglicérides de bubalinos da raça Murrah - São Paulo - 2008

Tabela 9 – Média, desvio padrão e amplitude de variação dos teores séricos de triglicérides em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo - 2008

Momentos		Teores séricos de triglicérides (mg/dL)	
		Búfalas tratadas com 500 mg de rBST	Grupo controle
M0	Dia da aplicação da rBST	8,85 ^a ± 3,85 (5,12 – 18,86)	10,73 ^a ± 3,16 (5,06 – 15,52)
M1	1º Dia após a aplicação da rBST	13,52 ^a ± 4,65 (6,58 – 24,43)	12,88 ^a ± 6,85 (6,82 – 27,81)
M3	3º Dia após a aplicação da rBST	20,08 ^a ± 5,43 (13,54 – 33,99)	19,81 ^a ± 6,15 (11,79 – 34,99)
M5	5º Dia após a aplicação da rBST	19,75 ^a ± 8,71 (9,97 – 34,69)	18,60 ^a ± 7,97 (7,06 – 34,19)
M7	7º Dia após a aplicação da rBST	24,79 ^a ± 9,45 (13,98 – 39,91)	21,42 ^a ± 7,21 (10,45 – 36,49)
M10	10º Dia após a aplicação da rBST	23,26 ^a ± 4,24 (16,22 – 28,74)	22,28 ^a ± 5,56 (15,47 – 34,80)
M14	14º Dia após a aplicação da rBST	18,62 ^a ± 5,30 (13,15 – 28,56)	19,12 ^a ± 7,35 (5,75 – 34,06)

a – letras iguais na mesma linha denotam a ausência de diferença estatística entre as linhas (p<0,05)

4.2.4 Avaliação dos resultados obtidos para β-HBO

Conforme pode ser observado na Tabela 10 e a, b – letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos (p<0,05)

Gráfico 10, durante a avaliação dos resultados dos efeitos da aplicação de rBST no lipidograma de bubalinos, observou-se que os teores séricos de β-HBO sofreram influência nos seus valores decorrente ao tratamento hormonal instituído. A partir do 1º dia após o início do tratamento hormonal verificou-se que os teores séricos de β-HBO no grupo tratado com rBST eram entre 0,21 e 0,55 mg/dL maiores do que os encontrados no grupo controle.

Durante os 14 dias de experimento o os teores séricos de ácidos graxos não-esterificados no grupo tratado com 500 mg de rBST oscilaram entre 2,20 ± 0,60 e 2,86 ± 0,86 μM/L, enquanto no grupo controle oscilaram entre 2,03 ± 0,36 e 2,43 ± 0,44 μM/L sem que qualquer diferença estatística pudesse ser observada na comparação entre os grupos experimentais.

a, b – letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 10 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), na teores séricos de β -HBO de bubalinos da raça Murrah - São Paulo - 2008

Tabela 10 – Média, desvio padrão e amplitude dos teores séricos de β -HBO em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo - 2008

Momentos		Teores séricos de β -HBO (mg/dL)	
		Búfalas tratadas com 500 mg de rBST	Grupo controle
M0	Dia da aplicação da rBST	2,20 ^a $\pm$ 0,60 (1,26 – 3,73)	2,06 ^a $\pm$ 0,47 (1,40 – 3,01)
M1	1º Dia após a aplicação da rBST	2,66 ^a $\pm$ 0,68 (1,64 – 3,99)	2,24 ^a $\pm$ 0,54 (1,38 – 3,14)
M3	3º Dia após a aplicação da rBST	2,64 ^a $\pm$ 0,76 (1,50 – 4,04)	2,03 ^a $\pm$ 0,36 (1,28 – 2,50)
M5	5º Dia após a aplicação da rBST	2,68 ^a $\pm$ 0,45 (2,09 – 3,64)	2,34 ^a $\pm$ 0,66 (1,44 – 3,41)
M7	7º Dia após a aplicação da rBST	2,86 ^a $\pm$ 0,86 (4,63 – 1,81)	2,25 ^a $\pm$ 0,68 (1,54 – 3,76)
M10	10º Dia após a aplicação da rBST	2,71 ^a $\pm$ 0,52 (2,02 – 3,74)	2,43 ^a $\pm$ 0,44 (1,65 – 3,21)
M14	14º Dia após a aplicação da rBST	2,47 ^a $\pm$ 0,52 (1,99 – 3,61)	2,22 ^a $\pm$ 0,67 (1,32 – 3,27)

a, b – letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as linhas ($p < 0,05$)

4.2.5 Avaliação dos resultados obtidos para os ácidos graxos não-esterificados (NEFA)

Conforme pode ser observado na Tabela 11 e a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 11, durante a avaliação dos resultados dos efeitos da aplicação de rBST no lipidograma de bubalinos, observou-se que os teores séricos de ácidos graxos não-esterificados não sofreram influência nos seus valores decorrente ao tratamento hormonal instituído.

Durante os 14 dias de experimento os teores séricos de ácidos graxos não-esterificados no grupo tratado com 500 mg de rBST oscilaram entre $291,56 \pm 115,39$ e $690,84 \pm 326 \mu\text{M/L}$, enquanto no grupo controle oscilaram entre $281,12 \pm 62,50$ e $773,70 \pm 483,07 \mu\text{M/L}$ sem que qualquer diferença estatística pudesse ser observada na comparação entre os grupos experimentais.

Quando a análise estatística foi realizada em função do momento transcorrido após a aplicação da rBST observou-se que após a aplicação da rBST houve um significativo aumento dos teores séricos de NEFA nos dois grupos – tratado com rBST e controle, sendo que entre o 3º e 10º dia após o início do tratamento os seus valores que variaram entre $500,85 \pm 348,09$ e $773,70 \pm 483,07 \mu\text{M/L}$ foram significativamente maiores do que os observados antes do início do tratamento, no 1º dia e 14º dia após o início do tratamento, quando variaram entre $281,12 \pm 62,50$ e $430,33 \pm 206,21 \mu\text{M/L}$.

a, b – letras iguais denotam a ausência de diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$)

Gráfico 11 – Influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST), na concentração plasmática de ácidos graxos não-esterificados de bubalinos da raça Murrah - São Paulo - 2008

Tabela 11 – Média, desvio padrão e amplitude de variação dos teores séricos de ácidos graxos não-esterificado (µM/L) em bubalinos da raça Murrah em lactação, segundo a influência da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) - São Paulo - 2008

Momentos		Teores séricos de ácidos graxos não-esterificados(µM/L)	
		Búfalas tratadas com 500 mg de rBST	Grupo controle
M0	Dia da aplicação da rBST	291,56ª ± 115,39 (154,79 – 568,58)	360,20ª ± 108,09 (208,97 – 600,93)
M1	1º Dia após a aplicação da rBST	430,33ª ± 206,21 (224,87 – 655,06)	281,12ª ± 62,50 (161,19 – 373,50)
M3	3º Dia após a aplicação da rBST	732,83ª ± 300,80 (250,08 – 1110)	652,46ª ± 410,12 (1,28 – 1923,60)
M5	5º Dia após a aplicação da rBST	635,19ª ± 228,52 (339,21 – 1038,80)	724,82ª ± 558,29 (181,94 – 1922,20)
M7	7º Dia após a aplicação da rBST	690,84ª ± 326 (327,42 – 1600,4)	773,70ª ± 483,07 (335,89 – 1689,70)
M10	10º Dia após a aplicação da rBST	527,99ª ± 226,77 (194,32 – 864,66)	500,85ª ± 348,09 (251,73 – 1617,3)
M14	14º Dia após a aplicação da rBST	317,65ª ± 95,76 (173,94 – 458,30)	361,75ª ± 176,07 (213,54 – 737,73)

a – letras iguais na mesma linha denotam a ausência de diferença estatística entre as linhas ($p < 0,05$)

5 DISCUSSÃO

Apesar da presente pesquisa não ter sido delineada para avaliar os efeitos na produção leiteira após o uso desse hormônio, os resultados obtidos na presente dissertação evidenciaram que a partir do 3º dia após o início do tratamento ocorria um aumento na quantidade de leite produzido no grupo tratado com rBST. Uma análise de literatura sobre o uso da rBST demonstraram que a somatotropina recombinante bovina é biologicamente ativa em ovinos (BAUMAN, 1992), em caprinos (KNIGHT et al., 1990; PROSSER et al., 1991; DISENHAUS et al., 1995) e em búfalas (FERRARA et al., 1989; LUDRI et al., 1989; BAUMAN 1992; POLIDORI et al., 1997; ROSI et al., 1997; BALDI et al. 1999; JORGE et al. 2002; ABO EL-NOR et al., 2007; ; SARWAR et al., 2007 KHATTAB et al., 2008).

Durante a elaboração do delineamento experimental desta dissertação foram aceitas as recomendações de Etherton e Bauman (1998) para o uso da somatotropina recombinante bovina em vacas leiteiras. Segundo esses autores, face as controvérsias dos efeitos na fertilidade dos animais e dos possíveis transtornos na saúde dos animais em balanço energético negativo, o uso da rBST deveria ser realizado em animais a partir de 100 dias de lactação, com doses de cerca de 500 mg do princípio ativo, em formulação de liberação lenta, repetidas a cada 14 dias. Nos 14 dias subseqüentes a aplicação de 500 mg de rBST, equivalente à liberação de 35,7 mg /dia do princípio ativo, observou-se na presente pesquisa um aumento da produção de leite entre 10 e 15 %, sendo o padrão de resposta à utilização da rBST encontrado na presente dissertação semelhante aquele relatado por Bauman et al. (1985), para os bovinos: aumento gradual da produção de leite poucos dias após a aplicação, atingindo a máxima resposta durante a primeira semana, seguido de diminuição gradual da produção de leite após interrupção da aplicação de rBST. A análise dos resultados obtidos na presente pesquisa indicaram que entre o 3º e 5º dia após a aplicação da rBST cerca de 70% das búfalas apresentaram aumento da sua produção leiteira.

Ao analisar-se a literatura sobre o uso do rBST em búfalas observou-se que nas diversas pesquisas realizadas houve significativa variação na dosagem e do intervalo de repetição da aplicação deste hormônio Ludri et al., 1989; Ferrara et al., 1989; Bauman, 1992; Polidori et al., 1997; Rosi et al., 1997; Baldi et al., 1999; Jorge

et al., 2002; Abo El-Nor et al., 2007; Sarwar et al., 2007 e Khattab et al., 2008 sendo relatado por esses autores aumento na produção de leite que variaram entre 9,8 e 62,6% em tratamentos hormonais com doses entre 320 e 640 mg de rBST repetidas a cada 14, 21 ou 28 dias.

O aumento da produção leiteira após a suplementação com somatotropina recombinante bovina está relacionada ao aumento na capacidade de síntese da glândula mamária mediado pela ação do IGF-1 (NIELSEN, 1988; PROSSER e MEPHAM, 1989) ao aumento no fluxo sanguíneo para a glândula mamária (MEPHAM et al., 1984) e aumento na mobilização e utilização de substratos e/ou nutrientes essenciais para a síntese do leite (SODERHOLM et al., 1988).

A rBST atua diretamente no metabolismo de gordura do tecido adiposo alterando as taxas de lipólise e lipogênese no tecido adiposo (BAUMAN, 1999; ETHERTON et al., 1993; ETHERTON; BAUMAN, 1998). Segundo Bauman et al. (1988) e Tyrrel et al. (1988), a suplementação com somatotropina recombinante bovina, para vacas em lactação, acarreta um aumento da demanda por nutrientes, consequentemente aumenta a ingestão de matéria seca, por parte do animal, mas a velocidade desse aumento é de tal magnitude, que se faz necessária a mobilização de reservas corporais para sustentação dos níveis de produção. As principais reservas mobilizadas nestes casos são os ácidos graxos não-esterificados presentes no tecido adiposo (BAUMAN et al., 1988; EISEMANN et al., 1986).

Entretanto a resposta metabólica apresentada pelos animais suplementados com rBST são variáveis e dependentes do estado fisiológico, do tecido adiposo e hepático, no qual o animal se encontra. Se o animal apresentar um balanço energético positivo, o efeito da somatotropina será mais pronunciado sobre a lipogênese, já no caso de o animal se evidenciar um balanço energético negativo, o efeito do somatotropina será acentuado sobre a lipólise (ETHERTON e BAUMAN, 1998; BAUMAN, 1999).

Em pesquisa apresentada no Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Mestre, Rennó Neto (2004), demonstrou que os efeitos da utilização de somatotropina recombinante bovina no metabolismo lipídico são parciais e refletem condições nutricionais e/ou fisiológicas dos animais submetidas ao tratamento, ou melhor, ao seu balanço energético. Em vacas que estavam em balanço energético negativo ou próximo de zero (início do tratamento aos 60 dias de lactação) Rennó

Neto (2004), observou aumento da concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados e de triglicérides indicativos de que havia mobilização de reservas corporais para a sustentação dos níveis de produção, enquanto nas vacas que estavam em balanço energético positivo (início do tratamento aos 100 dias de lactação) não houve alterações no lipidograma dos animais avaliados. Os resultados da presente pesquisa reproduzem os resultados obtidos por Rennó Neto (2004), e demonstram que o metabolismo lipídico de búfalas tratadas com rBST em período que o balanço energético é positivo, não sofreu alterações nos teores séricos de ácidos graxos não-esterificados, triglicérides e colesterol.

Ao compulsar a literatura foram encontrados diversos trabalhos (BAUMAN et al., 1988; SODERHOLM et al., 1988; SECHEN et al., 1989; GALLO e BLOCK, 1990; VICINI et al., 1990) que verificaram significativo aumento nos teores de ácidos graxos não-esterificados, em animais submetidos ao tratamento com somatotropina recombinante bovina. Possivelmente esses autores encontram essas alterações em decorrência da existência de balanço energético negativo nos animais utilizados. Nessas condições de balanço energético negativo, segundo as afirmações de Herdt (2000), as taxas de lipólise no tecido adiposo seriam maiores do que de lipogênese. Além disso, existem outras adaptações homeorréticas possíveis para o tecido adiposo, como aumentar as concentrações plasmáticas de ácidos graxos não-esterificados e triglicérides, além do que podemos obter também um aumento significativo nas concentrações de colesterol (BAUMAN; CURRIE, 1980).

Com relação aos resultados obtidos nesta dissertação, podemos concluir que a aplicação de rBST em bubalinos no período de lactação não determinou desequilíbrio no metabolismo da gordura.

Outro fator a ser levado em consideração, quando da avaliação do lipidograma é a concentração de β -HBO, conforme demonstrado nos resultados, temos um aumento dos seus teores séricos. A partir do 1º dia após o início do tratamento hormonal verificou-se que os teores séricos de β -HBO no grupo tratado com rBST eram entre 0,21 e 0,55 mg/dL maiores do que os encontrados no grupo controle. Estes dados conflitam com os encontrados por Amorim et al., (2006), e Chadio et al. (2000), que, em experimentos com cabras, os teores de β -HBO não sofreram qualquer alteração quando da utilização do rBST.

Os resultados obtidos na presente dissertação poderiam ser indicativos de que após a aplicação do rBST ocorreu uma maior mobilização das reservas

corporais. Pela pequena magnitude do aumento (entre 0,21 e 0,55 mg/dL) e a falta de estudos aprofundados sobre o metabolismo lipídico de bubalinos, não seria correto afirmar que durante o experimento os animais apresentaram quadro de cetose, tendo em vista, que nenhum deles apresentou qualquer alteração visível para o diagnóstico de cetose.

Deve-se, também, ser considerado que o aumento nos teores séricos de β -HBO poderia ser resultado do aumento da cetogênese alimentar, pois a suplementação com somatotropina recombinante bovina aumenta a ingestão de matéria seca por parte do animal. Segundo Heitmann et al. (1987), os ruminantes diferem, entre outros aspectos, dos demais monogástricos na medida em que grande quantidade de corpos cetônicos alimentares são liberados na veia porta devido à presença de fermentação bacteriana no rúmen. Os produtos finais da fermentação de carboidratos, acetato e butirato, podem ser convertidos em acetoacetato e β -HBO durante a absorção pelo epitélio ruminal, sendo assim denominada a cetogênese alimentar (HEITMANN et al., 1987).

Com relação aos efeitos da aplicação de somatotropina recombinante bovina nas concentrações de colesterol, também não foram encontradas diferenças significativas nos seus valores, independentemente do tratamento. Estes dados corroboram com os dados obtidos por Rennó Neto (2004). Segundo Williams (1989), em bovinos, a concentração de colesterol pode variar dependendo da condição fisiológica, nível de produção leiteira, estágio de lactação e dieta. Mesmo a somatotropina não estando ligada diretamente com as concentrações plasmáticas de colesterol, estas podem se alterar, uma vez que ela poderia alterar a mobilização de reservas corporais pelos animais suplementados (ESTEBAN et al., 1994; KNAPP et al., 1992).

Quando da avaliação das concentrações plasmáticas de glicose, durante o tratamento com somatotropina recombinante bovina, podemos constatar que os valores não sofreram influência devido ao tratamento hormonal instituído.

A comparação dos resultados obtidos para os teores de glicose na presente pesquisa concordam com aqueles referidos por autores que verificaram que a utilização da somatotropina recombinante bovina não influencia os teores de glicose no sangue de bovinos (BAUMAN et al., 1988; SODERHOLM et al., 1988; MORBECK et al., 1991; RENNÓ NETO, 2004).

Alguns autores como e Gallo e Block (1990) e De La Sota et al. (1993),

relataram a ocorrência de aumentos nos teores de glicose, embora sendo discretos e passageiros, em bovinos suplementados com somatotropina recombinantes bovina.

Para uma manutenção satisfatória da homeostase metabólica, é de fundamental importância que os níveis de glicose sejam mantidos em seus valores normais. Para que isso realmente aconteça são necessárias alterações metabólicas como o aumento da taxa de gliconeogênese hepática e a musculatura esquelética deve reduzir o consumo desse substrato e diversos tecidos devem reduzir a oxidação de glicose (PEEL; BAUMAN, 1987; BAUMAN et al., 1988; BURTON et al., 1994;).

Finalizando esta discussão deve ser considerado que durante o experimento observou-se uma significativa influência do momento após a aplicação do rBST sobre os teores séricos de NEFA e triglicérides. Quando tomamos os dados referentes aos teores de NEFA, podemos observar um aumento em relação aos valores iniciais nos dois grupos, tanto o controle como o grupo tratado.

Podemos supor a interferência de fatores como a temperatura, para justificar o aumento nas concentrações de triglicérides, acarretando com isso um desvio no metabolismo para manutenção de suas funções e, conseqüentemente, fazendo com que os animais entrassem em um balanço energético negativo.

5.1 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA (RBST) NA CONSTITUIÇÃO DO LEITE

Em relação à constituição do leite de vacas suplementadas com somatotropina recombinante, a maioria dos trabalhos citados na literatura não encontrou alterações nas suas características físico-químicas (BAUMAN, 1992; BARBANO et al., 1992; BURTON et al., 1994; BAUMAN, 1999; RENNÓ et al., 2003), sendo o rendimento industrial do leite semelhante àquele que foi obtido de animais não tratados (BARBANO et al., 1992; LAURENT et al. 1992).

Corroborando com a literatura compulsada, o presente trabalho não encontrou diferença significativa nos valores referentes às taxas de gordura presentes no leite de búfalas suplementadas com somatotropina recombinante

bovina. Mesmo os valores as taxas de gordura estando abaixo do citado na literatura, podemos observar que os valores não sofreram influência do tratamento.

Ludri et al. (1989); Polidori et al. (1997), Baldi (1999) e Jorge et al. (2002) em seus trabalhos com bubalinos, relataram constância quando relacionaram o teor de gordura ao tratamento com somatotropina recombinante bovina.

Além dos trabalhos citados acima, autores como Eppard et al. (1987), Laurent et al. (1992), Huber et al. (1997) e Tarazon-Herrera et al. (2000), quando estudaram o efeito da somatotropina recombinante em bovinos, obtiveram os mesmos resultados constantes nas taxas de gordura.

Outros autores, como Nytes et al. (1990), encontraram diferença significativa nas taxas de gordura de animais suplementados com somatotropina recombinante bovina, quando os animais eram de alto valor e mérito genético e receberam suplementação por 14 semanas, sendo esse aumento dependente da dose utilizada na suplementação.

Demonstrou-se a existência de influência da rBST nos teores lácteos de proteína. Nos primeiros dias após a aplicação da rBST observou-se uma diminuição dos teores lácteos de proteína, sendo que no 3º dia após o início do tratamento hormonal verificou-se que os valores lácteos de proteína encontrados no grupo tratado com rBST ($3,59 \pm 0,22$ g/dL) eram significativamente menores do que os observados no grupo controle ($3,89 \pm 0,22$ g/dL). A partir do 5º dia após o início do tratamento hormonal, os valores de proteína passaram a oscilar sem que qualquer diferença estatística entre o grupo tratado e controle possam ser observados.

Esse resultado vai de encontro com os resultados obtidos por Dell'Orto e Savoini (1991) e Bauman (1992), em que afirmaram que este declínio nas taxas de proteína do leite se deve ao momento de maior ganho e resposta do ponto de vista da produção de leite de bovinos suplementados com a somatotropina recombinante.

Comparando-se a presente pesquisa com os dados da literatura e trabalhos pregressos, no que se refere à concentração de lactose e sólidos totais no leite, temos que os resultados vão de encontro ao relatado por Eppard et al. (1987), Bauman (1992), Huber et al. (1997) e Tarazon-Herrera et al. (2000), que também não constataram nenhuma diferença significativa para este componente do leite.

Como última análise relacionada à constituição do leite, foi realizada a contagem de células somáticas e mais uma vez os resultados estão em concordância com a literatura, uma vez que os valores referentes a esse parâmetro

não sofreram qualquer influência decorrente do tratamento instituído. Entre os autores pesquisados estão Nytes et al. (1990), Huber et al. (1997), e Tarazon-Herrera et al. (2000) e Dohoo et al. (2003).

6 CONCLUSÃO

1ª Conclusão – Durante a avaliação dos resultados dos efeitos da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rBST) no lipidograma de bubalinos, observou-se:

Os teores séricos de ácidos graxos não-esterificados, triglicérides e colesterol e plasmáticos de glicose obtidos no grupo de animais tratados com aplicações de 500 mg de somatotropina recombinante bovina não sofreram influência nos seus valores decorrente ao tratamento hormonal instituído.

Os teores séricos de β -HBO foram afetadas pelo tratamento instituído, pois verificou-se que, a partir do 1º dia após o início do tratamento hormonal, os teores séricos de β -HBO no grupo tratado com rBST eram entre 0,21 e 0,55 mg/dL maiores do que os encontrados no grupo controle.

2ª Conclusão – Quando levamos em consideração os constituintes do leite, os dados obtidos nos permitem concluir que a somatotropina recombinante não exerce qualquer efeito adverso sobre os constituintes do leite, pois:

- o tratamento instituído não interfere nas concentrações de gordura, lactose, sólidos totais e no número de células somáticas;

- os efeitos sobre os dos teores lácteos de proteína são transitórios e observados somente nos primeiros dias após a sua aplicação. Verificou-se que no 3º dia após o início do tratamento hormonal os valores lácteos de proteína encontrados no grupo tratado com rBST ($3,59 \pm 0,22$ g/dL) eram significativamente menores do que os observados no grupo controle ($3,89 \pm 0,22$ g/dL). A partir do 5º dia após o início do tratamento hormonal, os valores de proteína passam a oscilar sem que qualquer diferença estatística entre o grupo tratado e controle possam ser observados.

REFERÊNCIAS:

ABO EL-NOR, S. A. H.; MONA, A. M.; ABD EL-GAWAD; ABD EL-SALAM, M. H. Effects of somatotropin and monensin on the yield and quality of milk and tallaga cheese from egyptian buffaloes. **International Journal of Dairy Science**, v. 2, n. 1, p. 58-65, 2007.

AIELLO, R. J.; KENNA, T. M.; HERBEIN, J. H. Hepatic gluconeogenic and ketogenic interrelationship in the lactating cow. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 8, p. 1707-1715, 1984.

ALLAIN, C. C.; POON, L. S.; CHAN, C. S. G.; RICHMOND, W.; FU, P. C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 470-475, 1974.

AMARAL, F. R.; CARVALHO, L. B.; SILVA, N.; BRITO, J. R. F. Qualidade do leite de búfalas: Composição. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 29, n. 2, p. 106-109, 2004.

AMORIM, E. A. M.; TORRES, C. A. A.; BRUSCHI, J. H.; FONSECA, J. F.; GUIMARÃES, J. D.; CECON, P. R.; CARVALHO, G. R. Produção e composição do leite, metabólitos sanguíneos e concentração hormonal de cabras lactantes da raça Toggenburg tratadas com somatotropina bovina recombinante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n 1, p. 147-153, 2006.

ASDELL, S. A. The effect of the injection of hypophyseal extract in advanced lactation. **American Journal of Physiology**, v. 100, n. 1, p. 137-140, 1932,

BALDI, A. Manipulation of milk production and quality by use of somatotropin in dairy ruminants other than cow. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 17, n. 2-3, p. 131-137, 1999.

BAUMAN, D. E. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 17, p.101-116, 1999.

BAUMAN, D. E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 12, p. 3432-3451, 1992.

BAUMAN, D. E.; CURRIE, W. B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 9, p. 1514-1529, 1980.

BAUMAN, D. E.; DEGEETER, M. J.; PEEL, C. J.; LANZA, G. M.; GOREWIT, R. C.; HAMMOND, R. W. Effect of recombinantly derived bovine growth hormone (bGH) on lactational performance of high yielding dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.65 p.121, 1982. Supplement 1.

BAUMAN, D. E.; EPPARD, P. J.; De GEETER, M. J.; LANZA, G. M. Responses of high producing dairy cows to long-term treatment with pituitary somatotropin and recombinant somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p. 1352-1362, 1985.

BAUMAN, D. E.; EVERETT, R. W.; WEILAND, W. H.; COLLIER, R. J. Production responses to bovine somatotropin in Northeast dairy herds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 1999, Rochester. **Proceedings...** 1999, p. 109-117.

BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Reviews of Nutrition**, v. 23, p. 203-227, 2003.

BAUMAN, D. E.; PEEL, C. J.; STEINHOOR, W. D.; REYNOLDS, P. J.; TYRRELL, H. F.; BROWN, A. C. G.; HAALAND, G. L. Effect of bovine somatotropin on metabolism of lactating dairy cows: influence on rates of irreversible loss and oxidation of glucose and nonesterified fatty acids. **Journal of Nutrition**, v. 118, n. 8, p. 1031-1040, 1988.

BARBANO, D. J.; LYNCH, J. M.; BAUMAN, D. E.; HARTNELL, G. F.; HINTZ, R. L.; NEMETH, M. A. Effect of prolonged-release formulation of N-methionyl bovine somatotropina (sometribove) on milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 1775-1793, 1992.

BEITZ, D. C. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1996. 856 p.

BINES, J. A.; HART, J. C. Metabolic limits to milk production, especially roles of growth hormone and insulin. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 1375-1389, 1982.

BITMAN, J.; WOOD, D. L.; TYRRELL, H. F.; BAUMAN, D. E.; PEEL, C. J.; BROWN, A. C.; REYNOLDS, P. J. Blood and milk lipid response induced by

growth hormone administration in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 12, p. 2873-2880, 1984.

BURTON, J. L.; McBRIDE, B. W.; BLOCK, E.; GLIMM, D. R.; KENNELLY, J. J. A review of bovine growth hormone. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 74, p. 167-201, 1994.

BREMMER, D. R., OVERTON, T. R., CLARK, J. H. Production and Composition of Milk from Jersey Cows Administered Bovine Somatotropin and Fed Ruminally Protected Amino Acids. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1374-1380, 1997.

CASTILLO, G.; MACCIOTTA, N. P. P.; CARRETTA, A.; CAPPIO-BORLINO, A. Effects of age and calving season on lactation curves of milk production traits in Italian water buffaloes. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 5, p. 1298-1306, 2002.

CARRIQUIRY, M.; WEBER, W. J.; CROOKER, B. A. Administration of Bovine Somatotropin in Early Lactation: A Meta-Analysis of Production Response by Multiparous Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 7, p. 2641-2652, 2008.

CHADIO, S. E.; ZERVAS, G.; KIRIAKOU, K.; GOULAS, C.; MENEGATOS, J. Effects of recombinant bovine somatotropin administration to lactating goats. **Small Ruminant Research**, v. 35, n. 3, p. 181-275, 2000.

CHALUPA, W.; GALLIGAN, D. T. Nutritional implications of somatotropin for lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 2510, 1989.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; FAULCONNIER, Y.; BONNET, M.; ROUEL, J.; BOCQUIER, F. Adipose tissue metabolism and its role in adaptations to undernutrition in ruminants. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 59, n. 1, p. 127-134, 2000.

COHICK, W. S.; PLAUT, K.; SECHEN, S. J.; BAUMAN, D. E. Temporal Pattern of Insulin-Like Growth Factor-1 response to exogenous bovine somatotropin in lactating cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 6, n. 3, p. 263-274, 1989.

COLE, W. J.; EPPARD, P. J.; BOYSEN, B. G.; MADSEN, K. S.; SORBET, R. H.; MILLER, M. A.; HINTZ, R. L.; WHITE, T. C.; RIBELIN, W. E.; HAMMOND, B. G.; COLLIER, R. J.; LANZA, G. M. Response of dairy cows to high doses of a sustained-release bovine somatotropin administered during two lactations. 2. Health and reproduction. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 1, p. 111-123, 1992.

COLE, W.J.; LUCY, M.C. Management of reproduction in dairy herds utilizing bovine somatotropin. In: **Youngquis, r. s. (ed.) Current therapy in large animal theriogenology**, Philadelphia: w. B. Saunders, 1997, p. 473-478.

DADO, R. G.; MERTENS, D. R.; SHOOK, G. E. Metabolizable energy and absorbed protein requirements for milk component production. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 6, p. 1575-1588, 1993.

DE LA SOTA, R. L.; LUCY, M. C.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W. Effects of recombinant bovine somatotropin (sometribove) on ovarian function in lactating and nonlactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 4, p. 1002-1013, 1993.

DOHOO, I. R.; DESCÔTEAUX, L.; LESLIE, K.; FREDEEN, A.; SHEWFELT, W.; PRESTON, A.; DOWLING, P. A meta-analysis review of the effects of recombinant bovine somatotropina 2. Effects on animal health, reproductive performance and culling. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 67, p. 252-264, 2003.

DRACKLEY, J. K. Lipid metabolism. In: D'MELLO, J. P. F. (Ed.). **Farm animal metabolism and nutrition**. Edinburgh: CABI Publishing, 2000, p. 97-119.

DUARTE, J. M. C.; TONHATI, H.; CERÓN-MUÑOZ, M. F.; MUÑOZ-BERROCAL, M.; CANAES, T. S. Efeitos ambientais sobre a produção no dia do controle e características físico-químicas do leite em um rebanho bubalino no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 56, p. 16-19, 2001.

DUBAY, P. C.; SUMAN, C. L.; SANYAL, M. K.; PANDEY, H. S.; SAXENA, M. M.; YADAV, P. L. Factors affecting composition of milk of buffaloes. **Indian Journal of Animal Science**, v. 67, p. 802-804, 1997.

DUNLAP, T. F.; KOHN, R. A.; DAHL, G. E.; VARNER, M.; ERDMAN, R. A. The impact of somatotropin, milking frequency, and photoperiod on dairy farm nutrient flows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 5, p. 968-976, 2000.

DUNSHEA, F. R.; BOISCLAIR, Y. R.; BAUMAN, D. E. BELL, A. W. Effects of bovine somatotropin and insulin on whole-body and hindLimb glucose metabolism in growing steers. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2263-2271, 1995.

DUNSHEA, F. R.; HARRIS, D. M.; BAUMAN, D. E.; BOYD, R. D.; BELL, A. W. Effect of porcine somatotropin on in vivo glucose kinetics and lipogenesis in growing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 141-151, 1992.

EISEMANN, J. H.; HAMMOND, A. C.; BAUMAN, D. E.; REYNOLDS, P. J.; McCUTCHEON, S. N.; TYRREL, H. F.; HAALAND, G. L. Effect of bovine growth hormone administration on metabolism of growing Hereford heifers: protein and lipid metabolism and plasma concentrations of metabolites and hormones. **Journal of Nutrition**, v. 116, p. 2504-2515, 1986.

ELTAWILL, E. A.; MOUKHTAR, S. A.; GALAL, E. S. E.; KHISHIN, E. S. Factors affecting the production and composition of Egyptian buffalo milk. **Tropical Animal Health and Production**, v. 8, n. 2, p. 115-121, 1976.

EPPARD, F. J.; BAUMAN, D. E.; CURTIS, C. R.; ERB, H. H.; LANZA G. M.; DEGEETER, M. J. Effect of 188-day treatment with somatotropin on health and reproductive performance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, vol. 70, n. 3, p. 582-591, 1987.

ESTEBAN, E.; KASS, P. H.; WEAVER, L. D.; ROWE, J. D.; HOLMBERG, C. A.; FRANTI, C. E.; TROUTT, H. F. Reproductive performance in high producing dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 11, p. 3371-3381, 1994.

ETHERTON, T. D.; BAUMAN, D. E. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. **Physiology Reviews**, v. 78, n. 3, p. 745-761, 1998.

ETHERTON, T. D.; LOUVEAU, I.; SORENSEN, M. T.; CHAUDHURI, S. Mechanisms by which somatotropin decreases adipose tissue growth. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 58, (Suppl.), p. 287S-295S, 1993.

EVANS, H. M.; SIMPSON, M. E. Hormones of the anterior hypophysis. **American Journal of Physiology**, v. 97, n. 3, p. 511-546, 1931.

FARIA, M. H.; TONHATI, H.; CERÓN-MUÑOZ, M.; DUARTE, J. M. C.; VASCONCELOS, B. F. Características físico-químicas do leite de búfalas ao longo da lactação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 57, n. 324, p. 3-7, 2002.

FERRARA, L.; DI LUCCIA, A.; MANNITI, F.; PIVA, G.; MASOCRO, F.; FLIORENTINI, L.; LITTA, G. The effect of somidobove (biosynthetic bovine somatotropin) on the production and the quality of milk of buffalo (*Bubalus bubalis*)

raised in Italy. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 2, p. 12-16, 1989.

FONSECA, L. F.L; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. 1ª Ed. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

FONTES JR, C.; MESEROLE, V. K.; MATTOS, W.; BARROS, R. P.; WU, Z.; HUBER, J. T. Response of Brazilian crossbred cows to varying doses of bovine somatotropin. **Jornal of Dairy Science**, v. 80, n. 12, p. 3234-3240, 1997.

FRANSCISCIS, G.; DI PALO, R. Buffalo milk production. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4, 1994, São Paulo. **Proceedings...**1994, v. 1, p. 137-146,

FOSSATI, P.; PRENCIPE, L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. **Clinical Chemistry**, v. 28, n. 10, p. 2077-2080, 1982.

FUNDORA, O.; GONZALEZ, M. E.; LEZCANO, O.; MONTEJO, A.; POMPA, N.; ENRIQUEZ, A. V. A comparative study of milk composition and stability of Murrah river buffalos and Holstein cows grazing star grass. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 35, n. 3, p. 219-222, 2001.

GALLO, G. F.; BLOCK. E. Effects of recombinant bovine somatotropin on nutritional status and liver function of lactating dairy cows. **Jornal of Dairy Science**, v. 73, p. 3276-3286, 1990.

GRUMMER, R. R.; CARROL, D. J. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 3882-3896, 1988.

HALDAR, A.; PRAKASH, B. S. Effect of exogenous growth-hormone-releasing factor on blood metabolites and minerals in late maturing buffalo heifers (*Bubalus bubalis*). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 91, n. 7-8, p. 326-332, 2007.

HANSEN, P. J. The relationship between energy status and the resumption of estrus cycles in cattle. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 3, p. 200-209, 1991.

HEITMANN, R. N.; DAWES, D. J.; SENSENIG, S. C. Hepatic ketogenesis and peripheral ketone body utilization in the ruminant. **The Journal of Nutrition**, v. 117, n. 6, p. 1174-1180, 1987.

HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 16, n. 2, p. 215-230, 2000.

HUBER, J. T.; WU, Z.; FONTES, C.; SULLIVAN J. L.; HOFFMAN, R. G.; HARTNELL, G. F. Administration of recombinant bovine somatotropin to dairy cows for four consecutive lactations. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 10, p. 2355-2360, 1997.

HURLEY, I. P.; IRELAND, H. E.; COLEMAN, R. C.; WILLIAMS, J. H. H. Application of immunological methods for the detection of species adulteration in dairy products. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, n. 8, p. 873-878, 2004.

JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 10, p. 2681-2692, 1998.

JORGE, A. M.; GOMES, M. I. F. V.; HALT, R. C. Efeito da somatotropina bovina recombinante (bST) sobre a produção de leite em búfalas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1230-1234, 2002.

KAPPEL, L. C.; INGRAHAM, R. H.; MORGAN, E. B.; ZERINGUE, L.; WILSON, D.; BABCOCK, D. K.; STAT, M. A. Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows. **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, n. 12, p. 2607-2612, 1984.

KHATTAB, H. M. M.; EL-SAYED, H. M.; ABO EL-NOR, S. A. H.; EL-ALAMY, H. A.; ABD EL-GAWAD, R. M. A. Impact of bovine Somatotropin and monensin on the productive performance of Egyptian dairy buffaloes. **International Journal of Dairy Science**, v. 3, n. 1, p. 11-19, 2008.

KHOLIF, A. M. Effects of number and stage of lactation on the yield, composition and properties of buffaloes milk, **Egypt Journal of Dairy of Science**, v. 25, p. 25-39, 1997.

KNAPP, J. R.; FREETLY, H. C.; REIS, B. L.; CALVERT, C. C.; BALDWIN, R. L. Effects of somatotropin and substrates on patterns of liver metabolism in lactating dairy cattle, **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 4, p. 1025-1035, 1992.

LAURENT, F.; VIGNON, B.; COOMANS, D.; WILKINSON, J.; BONNEL, A. Influence of bovine somatotropin on the composition and manufacturing properties of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 8, p. 2226-2234, 1992.

LEAN, I. J.; TROUTT, H. F.; BRUSS, M. L.; BALDWIN, R. L. Bovine somatotropin. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 8, n. 1, p. 147-163, 1992.

LOUGH, D. S.; MULLER, L. D.; KENSINGER, R. S.; SWEENEY, T. F.; GRIEL JR., L. C. Effect of added dietary fat and bovine somatotropin on the performance and metabolism of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, vol. 71, n. 5, p. 1161-1169, 1988.

LUCY, M. C. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1635-1647, 2000.

LUCY, M. C. Reproductive loss in high producing dairy cattle: where will it end? **Journal of Dairy Science**. v. 84, n. 6, p. 1277-1293, 2001.

LUDRI, R. S.; UPADAHYAY, R. C.; MAHENDRA SINGH; GUNERATNE, J. R. M.; BASSON, R. P. Milk production in lactating buffalo receiving recombinantly produced bovine somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 9, p. 2283-2287, 1989.

LUNA-DOMINGUEZ, J. E.; ENNS, R. M.; ARMSTRONG, D. V.; AX, R. L. Reproductive performance of Holstein cows receiving somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1451-1455, 2000.

LYNCH, J. M.; BARBANO, D. M.; BAUMAN, D. E.; HARTNELL, G. F.; NEMETH, M. A. Effect of a prolonged-release formulation of N-Methionyl Bovine Somatotropin (Somatotrope) on milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 7, 1992.

MACEDO, M. P.; WECHSLER, F. S.; RAMOS, A. A.; AMARAL, J. B.; SOUZA, J. C.; RESENDE, F. D.; OLIVEIRA, J. V. Composição físico-química e produção do leite de búfalas da raça mediterrâneo no oeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol. 30, n. 3, p. 1084-1088, 2001.

MATTOS, W. S. Somatotropina na pecuária de leite e de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu:SBZ, 1998, p. 35-52.

MARUTA, C. A. **Perfil metabólico e ruminal de garrotes submetidos às condições de alimentação normal, jejum e realimentação**. 2005. 93 f. Tese Doutorado em Medicina Veterinária - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

MCCUTCHEON, S. N.; BAUMAN, D. E. Effect of chronic growth hormone treatment on responses to epinephrine and thyrotropin-releasing hormone in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 1, p. 44-51, 1986.

MCGUFFEY, R. K.; BASSON, R. P.; SPIKE, T. E. Lactation response and body composition of cows receiving somatotropin and three ratios of forage to concentrate. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 9, p. 3095-3101, 1991.

MCGUFFEY, R. K.; GREEN, H. B.; BASSON, R. P.; FERGUSON, T. H. Lactation response of dairy cows receiving bovine somatotropin via daily injections or in a sustained-release vehicle. **Journal of Dairy Science**, vol. 73, n. 3, p. 763-771, 1990.

MONDAL, M.; PRAKASH, B.S. Changes in plasma non-esterified fatty acids, glucose and α -amino nitrogen and their relationship with body weight and plasma growth hormone in growing buffaloes. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 88, p. 223-228, 2004.

MORBECK, D. E.; BRITT, J. H.; MCDANIEL, B. T. Relationships among milk yield, metabolism, and reproductive performance of primiparous Holstein cows treated with somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 7, p. 2153-2164, 1991.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6. ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 1989. 158 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001. 381 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Metabolic modifiers**: Effects on the nutrient requirements of food-producing animals. Washington, D.C.: National Academic Press, 1994.

NYTES, A. J.; COMBS, D. K.; SHOOK, G. E.; SHAVER, R. D.; CLEALE, R. M. Response to recombinant bovine somatotropin in dairy cows with different genetic merit for milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 3, p. 784-791, 1990.

PANDEY, H. S.; KATPATAL, B. G.; BISHIT, G. S. Factors affecting milk constituents in Murrah buffaloes. **Indian Journal of Animal Science**, v. 56, n. 4, p. 425-429, 1986.

PALMQUIST, D. L.; BEAULIEU, A. D.; BARBANO, D. M. Feed and animal factors influencing milk fat composition. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 6, p. 1753-1771, 1993.

PEEL, C. J.; FRONK, T. J.; BAUMAN, D. E.; GOREWIT, R. C. Effect of exogenous growth hormone in early and late lactation on lactational performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 4, p. 776-782, 1983.

PEEL, C. J.; BAUMAN, D. E. Somatotropin and lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 474-486, 1987.

PEEVA, T. Composition of Buffalo Milk. Sources of Specific Effects on the Separate Components. **Bulgarian Journal of Agriculture Science**. v. 7, p. 329-335, 2001

POCIUS, P. A.; HERBEIN, J. H. Effects of in vivo administration of growth hormone on milk production and in vitro hepatic metabolism in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 3, p. 713-720, 1986.

POLIDORI, F.; SGOIFO ROSSI, C. A.; SENATORE, E. M.; SAVOINI, G.; DELL'ORTO, V. Effect of recombinant bovine somatotropina and calcium salts of long-chain fatty acids on milk from Italian buffalo, **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 9, 1997.

RENNÓ, F.P.; LUCCI, C. S.; SILVA, A. G.; RENNO, F. P.; RENNO, L. N.; RENNO NETO, B. P.; CECON, P. R.; BARBOSA, P. F. Efeito da somatotropina bovina recombinante (rBST) sobre a produção de leite e gordura em vacas da raça Holandesa. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40, 2003, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2003, CD-Rom. 2003.

RENNÓ NETO, B. P. **Influência da Aplicação da Somatotropina Recombinante bovina (rBST) na função hepática, renal e no lipidograma de bovinos da raça holandesa em lactação**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2004, p. 116.

RICHARD, A. L.; McCUTCHEON, S. N.; BAUMAN, D. E. Responses of dairy cows to exogenous bovine growth hormone administered during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 9, p. 2385-2389, 1985.

ROSE, M. T.; WEEKES, T. E. C.; ROWLINSON, P. Individual variation in the milk yield response to bovine somatotropin in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 7, p. 2024-2031, 2004.

ROSE, M. T.; WEEKES, T. E. C.; ROWLINSON, P. Relationship between the milk yield response to short-term bovine somatotropin treatment and the lipolytic response to adrenaline in dairy cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 36, n. 1, p. 24-31, 2009.

ROSI, F.; DELL'ORTO, V.; CAPALBO, R.; et al. Effects of recombinant bovine somatotropin and calcium soaps of fatty acids on lactating Italian buffalo. **Journal of Buffalo Science and Technique**, v. 1, p. 69-76, 1997.

SANTOS, J. E. P.; HUBER, C. B.; THEURER, L. G.; NUSSIO, C. B.; NUSSIO, L. G.; TARAZON, M.; LIMA-FILHO, R. O. Performance and nutrient digestibility by dairy cows treated with bovine somatotropin and fed diets with steam-flaked sorghum or steam-rolled corn during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 2, p. 404-411, 1999.

SANTOS, J. E. P.; HUBER, J. T.; THEURER, C. B.; NUSSIO, C. B.; NUSSIO, L. G.; TARAZON, M.; FISH, D. Effects of grain processing and bovine somatotropin on metabolism and ovarian activity of dairy cows during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 5, p. 1004-1015, 2000.

SARWAR, M.; SHAHZAD, M. A.; SUFYAN, A. Influence of bovine somatotropin and replacement of corn dextrose with concentrate on the performance of mid-lactating buffaloes fed urea-treated wheat straw. **Turkish Journal of Veterinary Animal Science**, v. 31, n. 4, p 259-265, 2007.

SCHALM, O. W.; CARROL, E. J.; JAIN, N. C. **Bovine Mastitis**, Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. 360p.

SECHEN, S. J.; McCUTCHEON, S. N.; BAUMAN, D. E. Response to metabolic challenges in early lactation dairy cows during treatment with bovine somatotropin. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 6, p. 141-148, 1989.

SHARMA, U. P.; RAO, S. K.; ZARIWALA, I. T. Composition of buffalo milk of different breeds of buffaloes. **Indian journal of Dairy Science**, v. 33, p. 7-12, 1980.

SODERHOLM, C. G.; OTTERBY, F. R.; LINN, D. L.; EHLE, J. G.; WHEATON, F. R.; HANSEN, J. E.; ANNEXSTAD, J. R. Effects of recombinant bovine somatotropin on milk production, body composition and physiological parameters. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 355-363, 1988.

SPANGHERO, M.; SUSMEL, P. Chemical composition and energy content of buffalo milk. **Journal of Dairy Research**, v. 63, n. 4, p. 629-633, 1996.

SRINIVASA-RAO, K.; RANGANADHAM, M. Effect of bovine somatotropin on milk production and composition in lactating Murrah buffaloes. **Indian Journal of Dairy Science**, v. 53, n. 1, p. 46-50, 2000.

SWAMINATHAN, M.; PARPIA, H. A. Buffalo milk: its nutritive value and use in the production of infant foods. **World Review of Nutrition and Dietetics**. v. 9, p. 206-226, 1968.

TARAZON-HERRERA, M. A.; HUBER, J. T.; SANTOS, J. E. P.; NUSSIO, L. G. Effects of bovine somatotropin on milk yield and composition in Holstein cows in advanced lactation fed low- or high-energy diets. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 3, p. 430-434, 2000.

TYRRELL, H. F.; BROWN, A. C. G.; REYNOLDS, P. J.; HAALAND, G. L.; BAUMAN, D. E.; PEEL, C. J.; STEINHOUS, W. D. Effect of bovine somatotropin on metabolism of lactating dairy cows: energy and nitrogen utilization as determined by respiration calorimetry. **Journal of Nutrition**, vol. 118, n. 8, p. 1024-1030, 1988.

TZANKOVA, M. Influence of the Factor Number of Lactation and the Lineal Belonging on the Buffalo Milk Composition. **Bulgarian Journal of Agriculture Science**, v. 7, p. 337-340, 2001.

VANDERKOOI, W.K.; VANDERHAAR, M.J.; SHARMA, B.K.; BINELLI, M.; TUCKER, H.A.; AKERS, R.M.; MOSELEY, W.M. Comparison of growth hormone-releasing factor and somatotropin: the somatotrophic axis in lactating primiparous cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 2140-2149, 1995.

VERNON, R. G. Effects of diet on lipolysis and its regulation. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 51, n. 3, p. 397-408, 1992.

VERRUMA, M. R.; SALGADO, J. M. Análise química do leite de búfala em comparação ao leite de vaca. **Scientia Agricola**, v. 51, n. 1. p. 131-137, 1994.

VICINI, J. L.; HUDSON, S.; COLE, W. J.; MILLER, M. A.; EPPARD, P. J.; WHITE, T. C.; COLLIER, R. J. Effect of acute challenge with an extreme dose of somatotropin in a prolonged-release formulation on milk production and health of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 8, p. 2093-2102, 1990.

WRAY-CAHEN, D.; BELL, A. W.; BOYD, R. D.; ROSS, D. A.; BAUMAN, D. E.; KRICK, B. J.; HARRELL, R. J. Nutrient uptake by the hindLimb of growing pigs treated with porcine somatotropin and insulin. **Journal of Nutrition**, v. 125, p.125-135, 1995.

WILLIAMS, G.L. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. **Journal of Animal Science**, v. 67, p. 785-793, 1989.