

TECNOLOGIAS PARA SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE LEITE

Jorge Schafhäuser Junior
Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro
Maira Balbinotti Zanela

Editores Técnicos

Embrapa

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Clima Temperado
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

TECNOLOGIAS PARA SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE LEITE

*Jorge Schafhäuser Junior
Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro
Maira Balbinotti Zanela*

Editores Técnicos

Embrapa
Brasília, DF
2016

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Clima Temperado

Rodovia BR-392, Km 78
9º Distrito, Monte Bonito
Caixa Postal 321
96010-971 Pelotas, RS
Fone: (53) 3275-8100
Fax: (53) 3275-8221
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Unidade responsável pelo conteúdo
Embrapa Clima Temperado

Comitê Publicações da Embrapa Clima Temperado

Secretária-executiva
Bárbara Chevallier Cosenza

Membros

Enio Egon Sosinski Junior (vice presidente)
Ana Luiza Barragana Viegas
Apes Roberto Falcão Perera
Daniel Marques Aquini
Eliana da Rosa Freire Quincozes
Marilaine Schaun Pelufe

Embrapa Informação Tecnológica

Parque Estação Biológica (PqEB)
Av. W3 Norte (final)
70770-901 Brasília, DF
Fone: (61) 3448-4236
Fax: (61) 3448-2494
www.embrapa.br/livraria
livraria@embrapa.br

Unidade responsável pela edição
Embrapa Informação Tecnológica

Coordenação editorial
Selma Lúcia Lira Beltrão
Lucilene Maria de Andrade
Nilda Maria da Cunha Sette

Supervisão editorial
Juliana Meireles Fortaleza

Revisão de texto
Corina Barra Soares

Normalização bibliográfica
Iara Del Fiaco Rocha

Projeto gráfico e capa
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Foto da capa
Jorge Schaffhäuser Junior

1ª edição
1ª impressão (2016): 1.000 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Informação Tecnológica

Tecnologias para sistemas de produção de leite / Jorge Schaffhäuser Junior, Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro, Maira Balbinotti Zanela, editores técnicos. – Brasília, DF : Embrapa, 2016.
437 p. : il. color. ; 18,5 cm x 25,5 cm.

ISBN 978-85-7035-584-3

1. Tecnologia agrícola. 2. Produção animal. 3. Produção leiteira. I. Schaffhäuser Junior, Jorge. II. Pegoraro, Lígia Margareth Cantarelli. III. Zanela, Maira Balbinotti. IV. Embrapa Clima Temperado.

CDD 636.2142

© Embrapa, 2016

AUTORES

Alexandre Gabbi

Zootecnista, doutor em Zootecnia, técnico da Nutrilatam, Florianópolis, SC

Ana Carolina Fluck

Zootecnista, mestre em Zootecnia, doutoranda em Zootecnia na Universidade Federal de Pelotas (UFPe), Pelotas, RS

Ana Paula Binato de Souza

Zootecnista, mestre em Zootecnia, doutoranda em Ciências da Universidade do Vale do Taquari, Florianópolis, SC

Augusto Schneider

Médico-veterinário, doutor em Biotecnologia, professor adjunto da Universidade Federal de Pelotas (UFPe), Pelotas, RS

Cláudia Pinho Hartleben

Médica-veterinária, doutora em Biotecnologia, professora adjunta da Universidade Federal de Pelotas (UFPe), Pelotas, RS

Claudiomar Soares Brod

Médico-veterinário, doutor em Biotecnologia, professor titular da Universidade Federal de Pelotas (UFPe), Pelotas, RS

Clenio Nailto Pillon

Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciência do Solo, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

Daiane Carvalho dos Santos

Bióloga, doutora em Ciência do Solo, Secretária do Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável

Diego Prado de Vargas

Médico veterinário, doutor em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, doutorando da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS

Eliza Simone Viégas Sallis

Médica-veterinária, doutora em Ciências Veterinárias, professora associada da Universidade Federal de Pelotas (UFPe), Pelotas, RS

Fábio Antunes Rizzo

Médico-veterinário, mestre em Zootecnia, doutorando em Zootecnia na Universidade Federal de Pelotas (UFPe), Pelotas, RS

Geferson Fischer

Médico-veterinário, doutor em Biotecnologia, professor adjunto da Universidade Federal de Pelotas (UFPe), Pelotas, RS

Giovani Jacob Kolling

Médico-veterinário, doutorando em Zootecnia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS

Isabella Dias Barbosa Silveira

Zootecnista, doutora em Zootecnia, professora adjunta da Universidade Federal de Pelotas (UFPe), Pelotas, RS

Jamir Luís Silva da Silva

Engenheiro-agrônomo, doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

Jorge Schafhäuser Junior

Zootecnista, doutor em Nutrição de Ruminantes, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

José Laerte Nörnberg

Médico-veterinário, doutor em Nutrição de Ruminantes, professor associado da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS

Leandro De Conto

Engenheiro-agrônomo, doutorando em Zootecnia na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS

Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro

Médica-veterinária, doutora em Biotecnologia, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

Lívia Argoud Lourenço

Zootecnista, mestre em Zootecnia, doutoranda em Zootecnia na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS

Luiz Francisco Machado Pfeifer

Médico-veterinário, doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO

Maira Balbinotti Zanela

Médica-veterinária, doutora em Zootecnia, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

Marcelo de Lima

Médico-veterinário, doutor em Medicina, professor adjunto da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS

Marcelo Tempel Stumpf

Engenheiro-agrônomo, doutor em Zootecnia, professor adjunto da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), São Lourenço do Sul, RS

Maria de Fátima Barros Leal Nörnberg

Médica-veterinária, doutora em Ciências Veterinárias, professora adjunta da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS

Maria Edi Rocha Ribeiro

Médica-veterinária, mestre em Veterinária, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

Mariana Moura Ercolani Novack

Nutricionista, doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, professora adjunta do Instituto Federal Farroupilha, Júlio Castilhos, RS

Nara Amélia Farias

Médica-veterinária, doutora em Biologia Parasitária, professora titular da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS

Natália A. Castro

Médica-veterinária, doutoranda em Zootecnia na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS

Olmar Antônio Denardin Costa

Zootecnista, mestre em Zootecnia, doutorando em Zootecnia na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS

Patrícia Pinto da Rosa

Graduanda em Zootecnia na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS

Renius de Oliveira Mello

Zootecnista, doutor em Zootecnia, professor adjunto da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS

Roberta Jeske Kunde

Bacharel em Química Ambiental, doutoranda em Sistemas de Produção Agrícola Familiar na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS

Rudolf Brand Scheibler

Zootecnista, mestre em Zootecnia, doutorando em Zootecnia na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS

Sheilla Madruga Moreira

Zootecnista, mestre em Zootecnia, doutoranda em Produção Animal na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS

Vera Fernanda Martins Hossepian de Lima

Zootecnista, doutora em Ciências Biológicas, professora adjunta da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Unesp), Jaboticabal, SP

Victor Ionatan Fioreze

Zootecnista, mestre em Zootecnia, doutorando em Zootecnia na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS

Vivian Fischer

Engenheira-agrônoma, doutora em Zootecnia, professora titular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS

APRESENTAÇÃO

Nos últimos anos, a pecuária de leite demonstrou aumento de eficiência e desempenho. A produção de leite no Brasil foi 34 bilhões de litros em 2014. Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), desde 2011, o Brasil ocupa a quarta posição no ranking dos maiores países produtores de leite do mundo. A atividade leiteira está presente na maioria das regiões e desempenha uma importante estratégia de geração de renda e de desenvolvimento regional. Assim, a cadeia produtiva do leite destaca-se social e economicamente, através da geração de empregos e injeção contínua de recursos no sistema produtivo, contribuindo decisivamente para a manutenção dos agricultores no meio rural.

Os sistemas de produção de leite são extremamente diversos, apresentando grande amplitude quanto aos níveis de eficiência e adoção de tecnologias. Há inúmeras oportunidades para a incorporação de soluções tecnológicas na cadeia produtiva, o que poderá ampliar a produtividade, eficiência e rentabilidade.

Neste contexto, a Embrapa Clima Temperado em conjunto as entidades parceiras, apresenta nesta publicação os principais avanços tecnológicos em temas chaves para a atividade leiteira, na expectativa de contribuir com a formação ou capacitação continuada dos técnicos e profissionais que se dedicam a esta cadeia produtiva.

Clenio Nailto Pillon

Chefe-Geral da Embrapa Clima Temperado

SUMÁRIO

Capítulo 1	
MANEJO DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO	9
Capítulo 2	
CRIA E RECRIA DE FÊMEAS DE REPOSIÇÃO EM REBANHOS LEITEIROS.....	31
Capítulo 3	
BEM-ESTAR EM BOVINOS LEITEIROS	57
Capítulo 4	
USO DO AZEVÉM EM SISTEMAS DE PECUÁRIA DE LEITE.....	91
Capítulo 5	
USO DE GORDURA LIVRE NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS DE LEITE	117
Capítulo 6	
USO DE GORDURA PROTEGIDA OU NATURALMENTE PROTEGIDA NA DIETA DE BOVINOS LEITEIROS	149
Capítulo 7	
NOVAS FORMAS DE USO DO ARROZ NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES	183
Capítulo 8	
MANEJO REPRODUTIVO	209
Capítulo 9	
CONTROLE EXÓGENO DO CICLO ESTRAL.....	227
Capítulo 10	
INTER-RELAÇÕES ENTRE BALANÇO ENERGÉTICO E FUNÇÃO REPRODUTIVA EM VACAS LEITEIRAS	239
Capítulo 11	
O USO DO SÊMEN SEXADO	249

Capítulo 12	
BRUCELOSE	269
Capítulo 13	
LEPTOSPIROSE	281
Capítulo 14	
DOENÇAS VIRAIS NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS LEITEIROS	291
Capítulo 15	
NEOSPOROSE	307
Capítulo 16	
IMPACTO DA ALIMENTAÇÃO SOBRE A ESTABILIDADE DO LEITE BOVINO	323
Capítulo 17	
FATORES NÃO NUTRICIONAIS E LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO	337
Capítulo 18	
QUALIDADE DO LEITE: CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CONTAGEM BACTERIANA TOTAL	357
Capítulo 19	
POTENCIALIDADES FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICAS DO LEITE BOVINO	385
Capítulo 20	
MASTITE E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS	423

MANEJO DA MATÉRIA ORGÂNICA DO SOLO

Clenio Nailto Pillon
Daiane Carvalho dos Santos
Roberta Jeske Kunde

Introdução

O solo é um recurso natural, constituído de materiais minerais e orgânicos, resultantes da interação dos fatores de formação (clima, organismos vivos, material de origem e relevo) ao longo do tempo. Desempenha funções básicas, como: sustentar o crescimento das plantas e dos animais, armazenar e reter água, ciclar resíduos e suportar as obras da engenharia humana, além de outros serviços ecossistêmicos importantes. Porém, se manejado inadequadamente, contribuirá para a degradação do ecossistema (MEURER, 2010; STRECK et al., 2008).

O sistema solo é assim constituído: pela fase líquida, representada pela água armazenada num determinado momento; pela fase gasosa, da qual fazem parte o oxigênio, o gás carbônico, o metano e outros; pela fase mineral, constituída por minerais e/ou rochas em variados estágios de alteração e com diferentes granulometrias (tamanho de partícula); por uma fração orgânica, representada pela matéria orgânica (MO); e por integrantes da fauna do solo, que são organismos vivos, como ácaros, colêmbolos, térmitas, minhocas, etc.

O termo MO do solo refere-se ao material orgânico total, incluindo os resíduos identificáveis de plantas (recursos primários), os resíduos de animais e microrganismos (recursos secundários), a MO dissolvida, substâncias liberadas por raízes de plantas, como gomas e mucilagens, e substâncias húmicas (SHs) de estrutura mais complexa, como os ácidos húmicos e a humina.

A MO do solo apresenta um papel importante no ciclo do carbono (C) do planeta e é o segundo maior compartimento de C do mundo, desconsiderando-se as

reservas de combustíveis fósseis. Enquanto os estoques de C na atmosfera atingem 750 Pg (1 Pg = 10^{15} g) e o C armazenado na vegetação está ao redor de 550 Pg, a MO do solo armazena 1.500 Pg de C. Somente o C existente nos oceanos supera o C armazenado no solo na forma de MO. Queimadas da vegetação e de combustíveis fósseis e a oxidação da MO do solo contribuem para a manutenção ou até mesmo para o incremento dos níveis atuais de CO_2 na atmosfera. Na contramão desse processo está a fotossíntese, o processo mais eficiente e econômico de captura do CO_2 atmosférico, transformando o C presente no ar em tecido vegetal, na presença de luz.

Dinâmica da matéria orgânica do solo

A dinâmica da MO do solo abrange fluxos de matéria e energia entre compartimentos da terra (atmosfera, vegetação, solo, água e organismos) e processos físico-químicos e biológicos, os quais reduzem e oxidam compostos orgânicos à medida que as reações se processam. Na atmosfera, o CO_2 encontra-se na forma mais oxidada. Por meio do processo de fotossíntese, as plantas absorvem o CO_2 da atmosfera e incorporam o C em seus tecidos vegetais, os quais contêm, em média, 40% desse elemento na matéria seca. Parte desse C é incorporado ao solo durante o período de crescimento dos vegetais, através da liberação de exsudatos radiculares. O C presente nos resíduos culturais é depositado sobre o solo (parte aérea) ou no seu interior, pelas raízes das plantas, quando da sua senescência ou morte (PILLON et al., 2004).

Quando resíduos culturais são depositados no solo, eles sofrem inicialmente a ação da fauna e, posteriormente, dos microrganismos decompositores, que utilizam os compostos orgânicos presentes nos resíduos como fonte de C e energia para seu metabolismo. A oxidação desses substratos na cadeia respiratória dos microrganismos resulta em perda de grande parte do C na forma de CO_2 , que, dessa forma, retorna à atmosfera, sendo que em média apenas cerca de 20% permanecem na MO do solo (PILLON, 2006).

Ao mesmo tempo, especialmente quando a adição de resíduos culturais ao solo é pequena, como nos sistemas que apresentam pousio de inverno e/ou de verão, os microrganismos do solo, para sua sobrevivência, utilizam parte do C armazenado na MO como fonte de C e de energia. Nesse processo, uma porcentagem do C é oxidada, liberando CO_2 e água, constituindo a taxa básica de mineralização anual da MO do solo. Essa taxa é maior em solos arenosos (média de 5% ao ano) do que em argilosos (média de 2% a 3% ao ano) (dados de regiões subtropicais) e maior em regiões de clima quente e úmido do que em regiões de clima frio e/ou seco. Como resultado da ação microbiana sobre o C adicionado

ou já existente no solo, ocorrem fluxos de C dos compartimentos mais lábeis (resíduos culturais em decomposição) para os compartimentos mais estáveis da MO do solo (MO associada à fração mineral ou a frações de maior grau de humificação) (MIELNICZUK, 2008; PILLON et al., 2004).

A quantidade de C adicionada ao solo em um agroecossistema depende das suas condições climáticas e da produtividade biológica das plantas utilizadas em cada sistema de cultura. A fertilidade do solo e especialmente a disponibilidade de nitrogênio (N) afetam diretamente a taxa de adição de resíduos vegetais e, conseqüentemente, a magnitude do balanço entre entradas e perdas de C e N no sistema. Enquanto as adições de C são diretamente dependentes da taxa de adição de resíduos vegetais ao solo, as perdas ocorrem principalmente pela oxidação microbiana dos resíduos vegetais e da MO do solo, pela lixiviação de compostos orgânicos solúveis, quando esses são transportados pela água da chuva para camadas mais profundas do solo, e pela erosão.

A quantidade e a qualidade de adições e perdas de C no solo determinam a direção à sua sustentabilidade ou à sua degradação. Ambas, adição e perda de C do solo, dependem direta ou indiretamente do seu manejo. Quando as taxas de adição e perda se equivalem, o sistema atinge um estado estável. Geralmente, o revolvimento do solo potencializa as perdas por erosão e oxidação biológica da sua MO, especialmente em ambientes tropical e subtropical. Sob altas temperaturas e umidade, o mínimo revolvimento do solo é determinante para o acúmulo de C e N.

Dependendo do manejo adotado, o solo pode funcionar como reservatório de C (nesse caso, ocorre aumento da MO e da sua qualidade) ou como fonte de CO₂ para a atmosfera. Nas últimas décadas, a concentração de C atmosférico tem aumentado, principalmente pela queima de combustíveis fósseis e pela oxidação da MO. A atividade agrícola tem contribuído com 1/3 da liberação total de CO₂, o qual representa aproximadamente 50% dos gases que compõem o efeito estufa.

A capacidade de armazenamento de C pelo solo depende do clima, do tipo de solo (mineralogia, textura), do tipo de vegetação e do manejo do solo. O homem, pelo manejo adotado dado aos resíduos e ao solo, pode contribuir para o aumento da capacidade do solo em reter C por mais tempo. Por exemplo, sistemas de cultivo e culturas que possuem a capacidade de alocar C a maiores profundidades no perfil, via sistema radicular, representam uma importante contribuição para seu armazenamento no solo.

O balanço entre as adições e a taxa de perda de C do sistema (Figura 1) vai determinar se o solo tenderá para o aumento, para a manutenção ou para o declínio do conteúdo

de MO. A avaliação ou o monitoramento da MO do solo no tempo ou a comparação do conteúdo de MO de um sistema a uma determinada condição de referência (por exemplo, uma área de mata nativa ou de campo nativo) é um indicador da qualidade do solo, já que a MO é extremamente sensível ao seu manejo e às ações humanas.

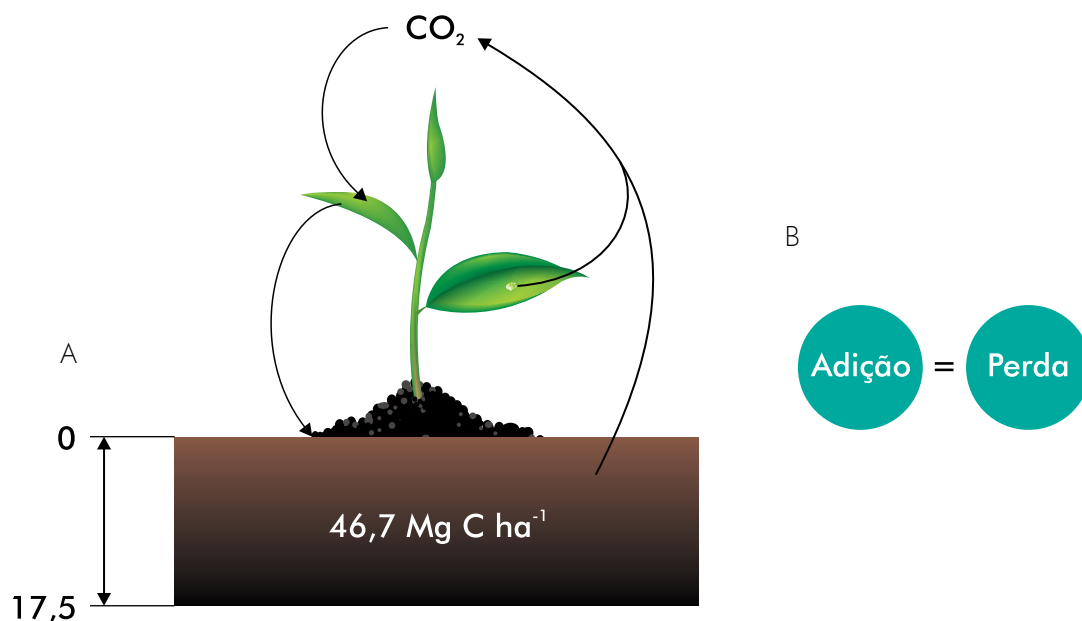


Figura 1. Fluxos de C ($\text{Mg C ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) e conteúdo de carbono orgânico total (COT) para a camada de 0 a 17,5 cm de um Argissolo Vermelho sob campo nativo com 220 g kg^{-1} de argila (sistema natural) (A); representação esquemática do “estado estável” do conteúdo de carbono orgânico total do solo no sistema natural ao longo do tempo (B).

O balanço da MO no solo pode ser observado no exemplo a seguir. Assumindo-se um solo que tenha 1,7% de MO na camada de 0 a 20 cm (resultado obtido quando é feita a análise, que corresponde a 1% de COT), em 1 ha, tem-se 2.000 m^3 de solo ($10.000 \text{ m}^2 \times 0,20 \text{ m} = 2.000 \text{ m}^3$). Se a massa de cada metro cúbico de solo é, em média, 1.500 kg, adotando-se a densidade de 1,5, então, em 1 ha, tem-se $3.000.000 \text{ kg}$ de solo ($2.000 \text{ m}^3 \times 1.500 \text{ kg m}^{-3} = 3.000.000 \text{ kg}$). Dessa forma, 1% dessa massa ($3.000.000 \text{ kg}$) equivale a 30.000 kg de carbono orgânico total (COT) ou 52.000 kg de MO por hectare. Nessa condição, um solo com 20% de argila poderá perder, em média, pelo menos 3% da MO existente na camada considerada, por hectare por ano, sob sistema de preparo com mínimo revolvimento (plantio direto). Isso implicaria a perda anual de 900 kg de carbono orgânico por hectare ($30.000 \text{ kg} \times 3 \div 100 = 900 \text{ kg}$).

Se a adição anual de C utilizando-se resíduos vegetais ou dejetos animais for inferior a essa quantidade de C perdida pelo sistema, a MO do solo tenderá a reduzir seu conteúdo ao longo do tempo.

Sob as mesmas condições climáticas e sob o mesmo tipo de solo, utilizando-se o preparo convencional intensivo para semeadura das culturas, a taxa anual de perda de MO poderá subir de 3% para 5% ao ano, por exemplo. Logo, para um conteúdo de 30.000 kg de COT por hectare, uma taxa de perda de 5% representa um decréscimo anual de 1.500 kg ha⁻¹. Portanto, especialmente para solos arenosos, o aumento da intensidade das operações de preparo de solo determina um aumento da taxa de oxidação da MO e, conseqüentemente, constitui uma prática que contribui para a redução dos estoques de MO do solo.

Para compensar essas perdas, é preciso utilizar um sistema de culturas bastante intensivo, que envolva a adição de resíduos culturais ao solo, tanto no inverno quanto no verão, os quais são a fonte de carbono ou matéria orgânica. Por exemplo, para uma entrada equivalente a 900 kg de carbono orgânico por hectare por ano no solo, é preciso adicionar o equivalente a 12.000 kg de palha seca de milho ou qualquer outra resteva. Isso equivale pelo menos à quantidade total de palha deixada sobre o solo de uma boa cobertura de inverno, e da resteva de uma área de milho que tenha produzido pelo menos 6.000 kg ha⁻¹ de grãos.

Especialmente em áreas degradadas e quando o sistema de culturas não inclui a utilização de plantas leguminosas, a disponibilidade de N é determinante para potencializar a produção de biomassa vegetal e, conseqüentemente, para definir se um determinado manejo do solo poderá conduzir o sistema à sustentabilidade ou à degradação. Lovato et al. (2000) avaliaram o efeito de sistemas de cultura, métodos de preparo do solo e adição de N mineral ao milho sobre o conteúdo de COT de um Argissolo Vermelho após 13 anos. Comparado ao conteúdo de COT original do solo da área experimental (32,55 Mg ha⁻¹ na camada de 0 a 17,5 cm), o sistema aveia-milho sob plantio direto e sem adição de N mineral manteve o COT em estado estável (32,60 Mg ha⁻¹) após 13 anos. No entanto, a adição anual de 180 kg ha⁻¹ de N ao milho propiciou um acúmulo adicional de 2,25 Mg ha⁻¹ de COT no mesmo período, o que determinou um sequestro adicional de 8,3 Mg ha⁻¹ de CO₂ atmosférico.

Teor e conteúdo de matéria orgânica do solo

Uma das grandes dificuldades observadas na interpretação de estudos sobre MO do solo reside na falta de rigor conceitual entre os termos “teor” e “conteúdo”. Esses termos não são sinônimos, pois representam grandezas diferentes. “Teor” dá a ideia de parte de um

todo, expresso em porcentagem, relação massa/massa ou volume/volume. Por exemplo, 2% de MO significa que existem 2 kg de MO em cada 100 kg de solo.

Além disso, um dos principais motivos de erro na interpretação das variações na MO ao longo do tempo consiste em desconsiderar as alterações na densidade do solo. Por exemplo, incrementos no teor de MO do solo podem determinar redução na sua densidade pelo aumento da agregação e da porosidade. Em razão dessas ponderações, é sempre mais adequado expressar as variações da MO em termos do conteúdo de MO ou do conteúdo de COT do solo, já que o termo “conteúdo” reflete a expressão de uma determinada quantidade de massa por unidade de volume de solo ou área de superfície, ambos referentes a uma camada conhecida de solo, levando em conta as alterações na sua densidade.

Uma analogia ajuda a entender tais conceitos, completando-se, por exemplo, de duas maneiras distintas, o volume de um recipiente qualquer com solo. Tome-se uma amostra de solo coletada da camada de 0 a 20 cm, cuja análise de MO apresente um teor de 10 g kg^{-1} ou 1%; complete-se com esse solo um recipiente de volume conhecido, por exemplo, um copo de 200 mL, de forma que o solo seja apenas solto dentro do copo; e proceda-se à pesagem. Ter-se-á um valor de massa de 162,80 g, por exemplo. Nessa situação, o teor de MO do solo continua sendo 1%, e o conteúdo de MO contido no recipiente será de 1,628 g. Por que 1,628 g de MO no copo? A explicação é a seguinte: se o solo possui 1% de MO, então, a cada 100 g existe 1 g de MO; como, no copo, couberam 162,80 g de solo, por uma regra de três direta, em 162,80 g existirá 1,628 g de MO.

No entanto, tomando-se o mesmo solo, com teor de MO (1%), e preenchendo-se um outro copo de volume idêntico ao anterior (200 mL), porém, compactando a amostra dentro do copo, fosse obtida uma massa de 308,91 g, o conteúdo de MO seria de 3,089 g. Portanto, para um solo com um determinado teor de MO, é possível obterem-se diferentes valores do seu conteúdo total, variando-se a densidade, ou seja, a quantidade de massa de solo que existe num volume conhecido. Portanto, é preciso ter cautela na interpretação de resultados de análises de MO do solo, especialmente se a alteração de suas densidades não são conhecidas.

Matéria orgânica como indicador de qualidade do solo

A sustentabilidade de um determinado agroecossistema depende da ação de fatores externos, como a ocorrência de fenômenos naturais relacionados principalmente ao clima, e do manejo dos fatores inerentes ao sistema, os quais podem sofrer alterações

por conta da modificação no manejo do solo, da água, da vegetação e da biodiversidade. Especificamente, o manejo do solo engloba todas as práticas que são ou que podem ser realizadas sobre um determinado agroecossistema, incluindo o seu preparo, o sistema de culturas, os tratos culturais, a aplicação de agroquímicos, etc. Entre as práticas de manejo do solo, o grau de revolvimento, o manejo da vegetação e o da fertilidade são os fatores mais determinantes da sua qualidade, condição indispensável para a busca da sustentabilidade.

O conceito de qualidade do solo é centrado na sua capacidade de atender a funções específicas. Para Doran e Parkin (1994), a qualidade do solo é sua capacidade de funcionar dentro dos limites de um ecossistema natural ou manejado, sustentando a produtividade de plantas e animais, mantendo ou aumentando a qualidade do ar e da água, e promovendo a saúde das plantas, dos animais e dos homens. A qualidade do solo tem duas partes: uma intrínseca, que se refere à capacidade inerente ao solo de sustentar o crescimento das culturas; e outra dinâmica, que pode ser influenciada pela ação do homem (CARTER, 2002). Atributos inerentes à qualidade do solo, como mineralogia e distribuição do tamanho de partículas, são vistos como praticamente estáticos e mostram poucas mudanças no tempo. Entretanto, atributos dinâmicos da qualidade do solo englobam aquelas propriedades que podem sofrer alterações em períodos de tempo relativamente curtos, como o conteúdo de MO, as frações lábeis da MO, a agregação e a macroporosidade, em resposta ao manejo e ao uso antrópico, e que são fortemente influenciadas por práticas agronômicas (CARTER, 2002).

Estudos realizados em solos sob condição de sequeiro têm considerado a MO como um atributo-chave de suas qualidades (DORAN; PARKIN, 1994; MIELNICZUK, 2008). Por exemplo, analisando as alterações no conteúdo de COT de um Argissolo Vermelho previamente degradado pelo preparo convencional, mantido sob diferentes sistemas de cultura após 16 anos em plantio direto, Pillon (2000) observou que os sistemas de cultura com maior adição de resíduos vegetais e de N via fixação simbiótica proporcionaram maior incremento no conteúdo de COT e nitrogênio total (NT) ao longo do tempo. O aumento do conteúdo de MO no solo pelo sequestro de CO₂ atmosférico proporcionou melhorias na agregação (PALADINI; MIELNICZUK, 1991), na fertilidade e na qualidade ambiental. Essa estreita relação entre as alterações no conteúdo de MO do solo de regiões tropicais e subtropicais com outros atributos, também indicadores de melhoria de qualidade, confirma que a dinâmica da MO no ambiente é relacionada com diversas propriedades químicas, físicas e biológicas, fundamentais para que um solo de qualidade exerça suas funções básicas.

Vários estudos têm tentado identificar o conjunto de atributos ou propriedades do solo que possam servir como indicadores de sua qualidade. Entre os indicadores químicos, a alteração no conteúdo da MO, promovida por sistemas de manejo, tem sido

frequentemente citada como um indicador de qualidade do solo e dos sistemas de manejo utilizados. Alterações no conteúdo de MO processam-se a médio e longo prazos, fato que requer monitoramento dos parâmetros indicadores ao longo do tempo, em experimentos ou avaliações em sistemas de produção de longa duração.

Decomposição da matéria orgânica em solos de terras baixas

Os solos de terras baixas apresentam fertilidade natural de média a baixa, sendo comum baixa disponibilidade de fósforo e de N, reduzido conteúdo de MO e baixos valores de pH. Nesse contexto, o monitoramento da dinâmica da decomposição de resíduos culturais das plantas de cobertura de inverno e/ou forrageiras, como azevém (*Lolium multiflorum* Lam.), trevo-branco (*Trifolium repens*) e azevém + trevo-branco, e dos resíduos das culturas comerciais de verão, como arroz (*Oryza sativa*) irrigado, milho (*Zea mays* L.) e soja (*Glycine max* L.), espécies comumente presentes em sistemas de integração lavoura-pecuária (ILP) em terras baixas do Sul do Brasil, permite a identificação de sistemas com maior potencial para a ciclagem de nutrientes e de C. Ademais, possibilita estabelecer estratégias de manejo visando ao maior aproveitamento dos nutrientes mineralizados no processo pelas culturas subsequentes, contribuindo para o aumento da produtividade biológica do sistema, para a qualidade ambiental e para a racionalização e/ou o aumento da eficiência do uso de insumos na agricultura.

Nesse contexto, Cruz et al. (2009), avaliando a dinâmica de decomposição dos resíduos culturais de gramíneas e leguminosas de inverno e de verão em um Planossolo Háptico característico de terras baixas, observaram que os resíduos das leguminosas apresentaram uma decomposição inicial mais rápida do que os das gramíneas (Figura 2). No primeiro ano desse estudo, aos 30 dias após a disposição (DAD) dos sacos com resíduos culturais no campo, somente 45% e 49% da fitomassa seca (FS) de trevo-branco (TB) e da de soja (S) ainda permaneciam sobre o solo, contra 60%, 63% e 72% dos resíduos de milho (M), arroz (A) e azevém (Az), respectivamente.

Esses resultados foram confirmados no segundo ano de estudo, em que 58% da FS de soja e trevo-branco e 67%, 77% e 82% da FS de arroz, azevém e milho, respectivamente, permaneceram sobre o solo no mesmo período. Embora a decomposição inicial da FS tenha sido diferente entre as espécies leguminosas e gramíneas, a curva de decomposição da FS de todos os resíduos vegetais obedeceu à mesma tendência, com uma fase inicial rápida,

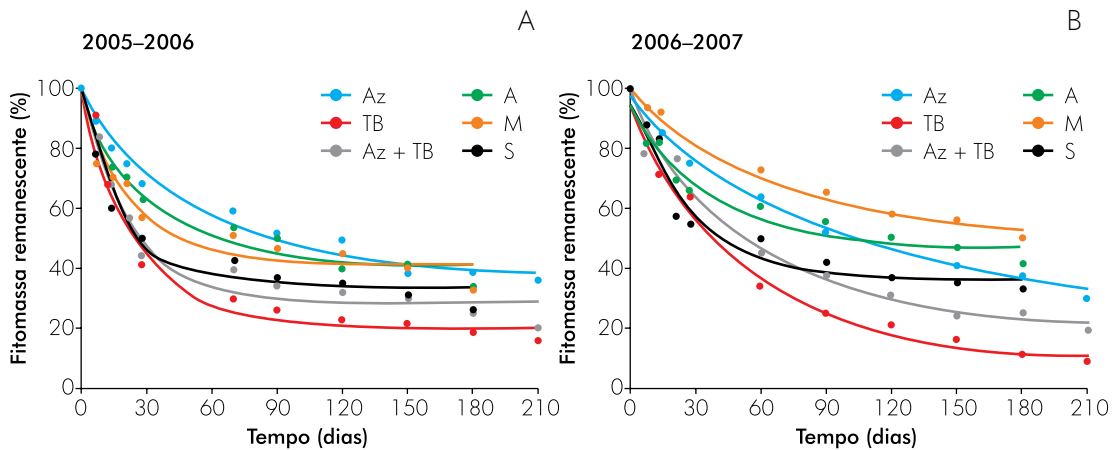


Figura 2. Porcentagem de fitomassa seca (FS) inicial remanescente dos resíduos culturais das espécies de inverno: azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) (Az), trevo-branco (*Trifolium repens*) (TB) e azevém + trevo-branco (Az + TB); e de verão: arroz (*Oryza sativa*) (A), milho (*Zea mays* L.) (M) e soja (*Glycine max* L.) (S), dias após a disposição dos sacos de decomposição no campo. Períodos das avaliações: 2005 a 2006 (A) e 2006 a 2007 (B). Capão do Leão, RS.

Fonte: Cruz et al. (2009).

seguida de uma fase mais lenta. Como produto da decomposição, componentes solúveis de relativa facilidade de degradação, como açúcares e proteínas, são rapidamente utilizados pelos decompositores, enquanto materiais mais recalcitrantes, como celulose, gorduras, ceras, taninos e ligninas, são decompostos a uma taxa relativamente mais lenta. A porcentagem da FS remanescente do consórcio de Az + TB, nos 2 anos de estudo, nesse mesmo período, ficou em um nível intermediário entre as gramíneas e as leguminosas em cultivo solteiro.

O resíduo cultural da soja obteve a maior taxa (k) de decomposição entre todos os resíduos das espécies estudados por Cruz et al. (2009) (Tabela 1). No primeiro ano de estudo (2005 a 2006), o compartimento lábil representou 64,80% da FS dos resíduos de S, o qual se decompõe a uma taxa (k) 0,0542 por dia, resultando num tempo de meia-vida ($T_{1/2}$) da FS desse compartimento de 13 dias. No segundo ano (2006 a 2007), houve uma redução na taxa de decomposição para 0,0375 por dia, conseqüentemente aumentando o $T_{1/2}$ da FS do compartimento lábil para 18 dias, representando cerca de 65,07% da FS dos resíduos de soja. De acordo com Moreira e Siqueira (2006), os resíduos de soja possuem elevados teores de componentes solúveis e N, e baixos teores de celulose e cinzas. Isso explica a sua decomposição mais rápida em comparação com as gramíneas.

Tabela 1. Parâmetros do modelo ajustado aos valores observados da fitomassa seca (FS) remanescente para diferentes espécies, nos períodos 2005–2006 e 2006–2007.

Espécie	A (%)	K _a (por dia)	T _{1/2} (dias)	R ²
2005–2006				
Azevém	58,15	0,0170	41	0,99
Trevo-branco	82,84	0,0409	17	0,99
Azevém + trevo-branco	71,83	0,0443	16	0,98
Arroz	53,91	0,0264	26	0,97
Milho	53,73	0,0393	18	0,97
Soja	64,80	0,0542	13	0,98
2006–2007				
Azevém	70,37	0,0095	73	0,99
Trevo-branco	86,09	0,0190	36	0,99
Azevém + trevo-branco	75,15	0,0168	41	0,98
Arroz	48,24	0,0282	25	0,97
Milho	49,33	0,0138	50	0,97
Soja	65,07	0,0375	18	0,98

A: compartimento lábil; K_a: taxa de decomposição; T_{1/2}: tempo de meia-vida.

Fonte: Cruz et al. (2009).

Pode-se observar, entre todas as espécies estudadas por Cruz et al. (2009), à exceção do arroz, que a taxa de decomposição do compartimento lábil no segundo ano foi menor, aumentando o tempo de meia-vida da FS dos resíduos culturais. Essa redução da taxa de decomposição do compartimento lábil no segundo ano pode estar relacionada à maior precipitação acumulada (1.609,7 mm) no período total de estudo, somada à reduzida condutividade hidráulica desse solo, característico do ambiente de terras baixas, que proporciona, em algumas ocasiões, condições de anaerobiose, em que o tipo da população microbiana é alterada de modo que a decomposição de compostos orgânicos nessas condições se torna mais lenta e menos eficiente (SILVA et al., 2008).

Estudos dessa natureza são importantes, pois permitem definir épocas mais apropriadas ao manejo dos resíduos culturais em sistemas integrados de produção, de forma a maximizar o aproveitamento da mineralização de nutrientes presentes nesses resíduos culturais pelas culturas subsequentes, contribuindo, assim, para a garantia da qualidade ambiental. Dessa forma, recomenda-se que o manejo das espécies leguminosas forrageiras de inverno seja efetuado no máximo 30 dias antes da implantação da cultura subsequente. Com isso, haverá maior aproveitamento da ciclagem de nutrientes, especialmente de N.

Dinâmica da matéria orgânica em sistemas de produção de grãos em terras baixas

Além do monitoramento do estoque de MO do solo inteiro, a utilização, ao longo do tempo, de estratégias de fracionamento físico da MO em compartimentos permite identificar em menor tempo possíveis efeitos dos sistemas de manejo do solo sobre a dinâmica da MO, o que possibilita antecipar possíveis correções/ajustes nos modelos propostos em avaliação.

Em um experimento de longa duração implantado em 1985, em um Planossolo Háplico, Rosa (2010) e Rosa et al. (2011) avaliaram os estoques de COT e das frações físicas da MO sob diferentes sistemas de manejo e observaram que, nas camadas superficiais de 0 a 0,025 m e de 0,025 m a 0,05 m, os sistemas de preparo influenciaram os estoques de C. No sistema de cultivo de arroz em PD sobre a palha do azevém (APD), os estoques de COT, carbono da fração grosseira (CFG) e fração leve livre (FLL) foram superiores aos obtidos nos sistemas sob PC. No entanto, na camada de solo mais profunda (de 0,05 m a 0,10 m), não houve diferença significativa entre os sistemas de manejo (Tabela 2).

A camada superficial do solo é uma região de intenso desenvolvimento radicular e onde ocorre a deposição dos resíduos das culturas, principalmente nos sistemas nos quais não há revolvimento do solo (SILVA; MIELNICZUK, 1997). Maiores estoques de CFG, FLL e FLO foram observados por Rosa (2010) e Rosa et al. (2011) nos primeiros 0,05 m dos sistemas APD e SN (Tabela 2). Entretanto, nos sistemas ST e APC, nos quais ocorreu a incorporação dos resíduos culturais pelo preparo convencional do solo para a implantação do arroz, houve uma redistribuição no estoque de MO do solo ao longo do perfil, diferentemente dos sistemas de cultura sob PD, em que a MO tende a se concentrar em superfície, decrescendo em profundidade.

O fato de as frações mais lábeis (CFG e FLL) estarem presentes em maior quantidade no sistema APD e ST se justifica por se tratar de dois sistemas com uma taxa de decomposição mais baixa do que os sistemas sob PC, em que o preparo do solo promove a fragmentação de agregados, com maior exposição da MO aos agentes decompositores (microrganismos, oxigênio, temperatura, etc.). A redução na magnitude das frações lábeis em decorrência do PC se explica pela maior vulnerabilidade à ação dos microrganismos decompositores, pois a recalcitrância química das moléculas é o principal mecanismo de estabilização da MO (ROSA, 2010; ROSA et al., 2011).

Tabela 2. Estoque de carbono orgânico total (COT), nitrogênio total (NT), relação carbono/nitrogênio (C/N), carbono da fração grosseira (CFG), carbono associado aos minerais (CAM), relação carbono da fração grosseira/carbono orgânico total (CFG/COT), carbono da fração leve livre (FLL), carbono da fração leve oclusa (FLO) e carbono da fração pesada (FP) de um Planossolo Háplico sob sistemas de uso do solo. Capão do Leão, 2009.

Sistema de cultivo ⁽¹⁾	COT	CFG	CAM	CFG/COT	FLL	FLO	FP
	(Mg ha ⁻¹)			(%)	(Mg ha ⁻¹)		
0 a 0,025 m							
ST	5,58c	1,68b	3,90b	31	0,52c	1,09a	3,97b
APC	5,80c	1,82b	4,00b	31	0,45c	1,15a	4,20b
APD	11,11b	7,07a	3,91b	67	3,25a	2,01a	5,85b
SN	17,73a	7,20a	10,66a	41	1,59b	1,14a	15,00a
0,025 m a 0,05 m							
ST	4,71b	1,32b	3,39ab	28	0,35b	0,86ab	3,50b
APC	4,37b	1,14b	3,23b	26	0,30b	0,69b	3,38b
APD	8,69a	3,70a	4,99a	41	0,83a	1,09a	6,77a
SN	7,57a	4,05a	3,52ab	55	0,84a	1,16a	5,57a
0,05 m a 0,10 m							
ST	8,48a	2,56a	6,23a	27	0,61a	1,42a	6,45a
APC	8,34a	1,97a	6,37a	24	0,80a	1,58a	5,96a
APD	9,95a	3,01a	6,95a	29	0,92a	1,59a	7,44a
SN	9,58a	2,26a	7,32a	25	0,53a	1,52a	7,53a
0,10 m a 0,20 m							
ST	13,02a	2,17a	10,85ab	17	0,58ab	2,68a	9,56a
APC	15,25a	2,31a	12,94a	15	0,91a	2,61a	11,73a
APD	13,52a	2,46a	11,06ab	18	0,39b	2,16a	10,79a
SN	12,95a	2,82a	10,13b	22	0,68ab	2,48a	9,79a

⁽¹⁾ ST: sistema tradicional de cultivo: 1 ano com arroz (preparo convencional), seguido de 2 anos com pousio; APC: sistema de cultivo contínuo de arroz (preparo convencional); APD: sucessão de azevém x arroz sob plantio direto; SN: solo mantido em condições naturais, sem cultivo.

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada camada, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan, ao nível de 5%.

Fonte: Rosa (2010) e Rosa et al. (2011).

O CFG é um importante compartimento da MO do solo, por ser considerado fonte de energia para a biota e por atuar como fonte de nutrientes às plantas em curto prazo, principalmente de N. O quociente CFG/COT indica a importância relativa dessa fração sobre o COT. Vários autores têm comprovado que a mudança de áreas naturalmente vegetadas

para áreas cultivadas ocasiona perdas consideráveis da fração grosseira, principalmente nos primeiros anos de cultivo, o que a torna um importante indicador das mudanças de manejo do solo (BAYER et al., 2004; CONCEIÇÃO et al., 2005).

O CFG da MO em geral se encontra em menor proporção em relação à fração associada a minerais (CAM), contribuindo com cerca de 3% a 20% do COT do solo inteiro. No entanto, pode haver um aumento nos teores dessa fração em sistemas com menor revolvimento do solo e em condições climáticas mais amenas e menos favoráveis à decomposição (SILVA; MENDONÇA, 2007).

Nos solos de terras baixas da região Sul do Brasil, além do período em que o solo se encontra sob excesso de umidade durante o inverno, as temperaturas são baixas e há oscilação do lençol freático, ocasionando uma queda nas taxas de decomposição da MO, o que poderia justificar as maiores proporções de CFG encontradas por Rosa (2010) e Rosa et al. (2011), de 15% a 67%, com os maiores estoques nas camadas superficiais (Tabela 2).

Analisando as frações densimétricas da MO do solo (FLL, FLO e fração pesada – FP) e suas proporções em relação ao solo inteiro, pode-se identificar a intensidade com que os mecanismos de estabilização da MO atuam em cada fração. O mecanismo de estabilização que atua na FLL é a recalcitrância e, portanto, o seu estoque depende diretamente das adições de resíduos e das condições climáticas, as quais são determinantes para o processo de decomposição. Na FLO, parte da MO se encontra protegida no interior dos agregados estáveis do solo (proteção física) da ação dos agentes decompositores. No entanto, a FP conta com a atuação de todos os mecanismos de estabilização da MO do solo – recalcitrância, oclusão e interação com minerais –, sendo portanto, considerada a fração mais estável no sistema (GOLCHIN et al., 1994).

Dinâmica da matéria orgânica em sistemas agrossilvipastoris

A região sudoeste do Rio Grande do Sul é considerada de alta vulnerabilidade socioeconômica por possuir extensas áreas agrícolas conduzidas sobre formações geológicas areníticas, as quais, em virtude da fragilidade e da redução da sua cobertura vegetal, sofrem alterações dos padrões naturais de vegetação. O conseqüente aumento da erosão desses solos resulta na degradação do solo e de um ecossistema regional de grande relevância para o bioma Pampa. A fragilidade natural desses solos, aliada a sua baixa aptidão agrícola e ao uso tradicional para a criação extensiva de gado, tem acelerado o processo de

erosão, ampliando gradativamente as áreas com vegetação rarefeita e campos arenizados (RIBASKI et al., 2005; ROVEDDER; ELTZ, 2008; ROVEDDER et al., 2009).

Os sistemas agrossilvipastoris têm sido preconizados como uma alternativa de uso sustentável, principalmente em áreas sujeitas à degradação do solo. A deposição de folhas da parte aérea dos cultivos pode influenciar na quantidade e na disponibilidade de nutrientes pelo aporte de MO depositada (RIBASKI et al., 2009).

Avaliando o estoque de COT, CFG, CAM, FLL, FLO e FP, Santos et al. (2013) observaram diferenças significativas na camada superficial de um Argissolo Vermelho em processo de arenização no município de Alegrete, RS (Tabela 3). Esses autores encontraram estoques mais elevados de COT, COP, CAM, FLL e FLO na floresta homogênea de eucalipto (FH), em comparação com o sistema agrossilvipastoril (SA), com pastagem natural na entrelinha, e

Tabela 3. Estoque de carbono orgânico total (COT), nitrogênio total (NT), relação carbono/nitrogênio (C/N), carbono da fração grosseira (CFG), carbono associado aos minerais (CAM), relação carbono da fração grosseira/carbono orgânico total (CFG/COT), carbono da fração leve livre (FLL), carbono da fração leve oclusa (FLO) e carbono da fração pesada (FP) de um Argissolo Vermelho sob sistemas de uso do solo. Alegrete, RS, 2009.

Sistema de cultivo	COT	CFG	CAM	CFG/ COT	FLL	FLO	FP
	(Mg ha ⁻¹)			(%)	(Mg ha ⁻¹)		
0 a 0,025 m							
Floresta homogênea de eucalipto	3,82a	1,89a	1,93a	49,48	1,57a	0,79a	1,45a
Sistema agrossilvipastoril na entrelinha	2,88b	1,48b	1,40c	51,39	1,12b	0,46c	1,30a
Campo nativo	3,03b	1,33b	1,70b	43,89	0,62c	0,65b	1,76a
0,025 m a 0,075 m							
Floresta homogênea de eucalipto	5,50a	2,22a	3,28a	40,36	0,48a	0,45b	4,57a
Sistema agrossilvipastoril na entrelinha	4,68b	2,02b	2,66a	43,16	0,26b	0,32c	4,10a
Campo nativo	5,23a	2,15a	3,08a	41,11	0,45a	0,57a	4,21a

Médias seguidas de letras iguais na coluna em cada camada não diferem entre si pelo teste t, que considera diferença mínima significativa a 5%.

Fonte: Santos et al. (2013).

com o campo natural (CN), indicando o alto potencial do eucalipto de depositar resíduos culturais na superfície do solo. Essa diferença é atribuída à natureza física e química da serrapilheira de eucalipto, oriunda principalmente de materiais grosseiros, sendo menos suscetível a fragmentação em virtude da quantidade de lignina e tanino.

Santos et al. (2013) encontraram redução nos estoques de COT no sistema SA na camada superficial, em comparação com o CN, fato que foi atribuído ao efeito negativo do pastejo intenso sobre a redução da adição de resíduos culturais ao solo.

A relação CFG/COT encontrada por Santos et al. (2013) apresentou uma média de aproximadamente 45% nas áreas estudadas e nas duas profundidades. Embora essa distribuição seja coerente com a baixa capacidade de proteção química ou física que a matriz mineral oferece em virtude do baixo teor de argila, tal configuração impõe elevado risco à degradação e à sustentabilidade desse agroecossistema, caso as adições de resíduos sejam suprimidas e/ou o solo seja frequentemente revolvido. Frações lábeis da MO são fundamentais para a ciclagem de C entre os compartimentos e para a ciclagem de nutrientes em curto prazo, além da sua notável contribuição para a formação e a estabilização transitória de agregados. Entretanto, essa fração é altamente sensível às alterações no uso e no manejo, e pode ser facilmente perdida pelo uso e pelo manejo inadequado nos primeiros anos de cultivo (MIELNICZUK, 2008).

A textura e a mineralogia do solo são, pois, fatores determinantes para a proporção relativa das frações do COT. Por exemplo, comparando o estoque do sistema sob PD encontrado por Bayer et al. (2004) em um Latossolo Vermelho com 600 g kg⁻¹ de argila e mineralogia com predomínio de caulinita e óxidos de ferro, com o estoque encontrado por Santos et al. (2013) em um Argissolo Vermelho de textura arenosa (Tabela 3), o estoque observado por Bayer et al. (2004) em PD na camada superficial (COT = 10,6 Mg ha⁻¹, CFG = 3,56 Mg ha⁻¹ e CAM = 7,04 Mg ha⁻¹) foi praticamente o dobro daquele encontrado por Santos et al. (2013).

Os Latossolos apresentam óxidos de ferro e alumínio que tendem a afetar os teores e a estabilidade da MO de duas formas: a) pela formação de complexos organominerais (COM) de alta estabilidade, em virtude da interação eletrostática entre as cargas positivas dos óxidos e as cargas negativas da MO; e b) pelas mudanças na estrutura do solo, com a formação de agregados. Geralmente, os óxidos de ferro e alumínio apresentam excesso de cargas positivas em pH ácido, as quais podem servir de sítios de ligação aos grupos funcionais da MO do solo quando deprotonados (carboxílicos e fenólicos). Os COM formados apresentam alta estabilidade e podem tornar o material orgânico indisponível para a microbiota (OADES et al., 1989).

No entanto, em solo de textura arenosa, como aquele utilizado por Santos et al. (2013), a maior distância entre as partículas em decorrência da presença de quartzo, somada ao menor teor de óxidos de ferro e alumínio, resulta em menor estabilidade estrutural em comparação com solos de textura argilosa, facilitando o acesso microbiano à MO. Dessa forma, a oxidação se dá mais facilmente e a estabilidade dos agregados se torna extremamente dependente da adição constante de resíduos ao solo (CONCEIÇÃO, 2006).

Avaliando os estoques de COT, CFG e CAM em um Planossolo Háplico sob sistema de integração lavoura-pecuária mantido com pastejo (CP), sem pastejo (SP) e sob campo natural (CN) na região de Pelotas, RS, Carvalho (2013) não verificou diferenças nos estoques de COT nas camadas de 0 a 0,05 m e de 0,05 m a 0,10 m (Tabela 4). Entretanto, na camada de 0,10 m a 0,20 m, a área sem pastejo (SP) foi superior ao campo natural (CN), não diferindo estatisticamente da área com pastejo (CP). Esses maiores valores de COT na área SP podem estar associados à maior quantidade de fitomassa resultante das culturas sobre a superfície do solo e à ausência de pastejo nessa área, o que favorece a menor saída de C e N do sistema.

Tabela 4. Estoque de carbono orgânico total (COT), estoque de carbono da fração grosseira (CFG) e estoque de carbono associado aos minerais (CAM) de um Planossolo Háplico sob sistema de integração lavoura-pecuária mantido com pastejo, sem pastejo e em campo natural. Pelotas, RS, 2013.

Sistema de cultivo	COT	CFG	CAM
	(Mg ha ⁻¹)		
0 a 0,05 m			
Com pastejo	9,37a	3,26a	6,10a
Sem pastejo	9,99a	3,02a	6,97a
Campo natural	9,98a	3,08a	6,89a
0,05 m a 0,10 m			
Com pastejo	8,16a	1,93b	6,22ab
Sem pastejo	9,13a	1,86b	7,27a
Campo natural	7,98a	2,43a	5,54b
0,10 m a 0,20 m			
Com pastejo	14,97ab	3,59a	11,37ab
Sem pastejo	17,28a	3,65a	13,62a
Campo natural	13,21b	3,89a	9,32b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Fonte: Carvalho (2013).

Nas camadas de 0 a 0,05 m e de 0,10 m a 0,20 m, não foram verificadas diferenças significativas nos estoques de CFG (Tabela 4). Entretanto, na camada de 0,05 m a 0,10 m, os maiores estoques foram observados no CN. Segundo Müller et al. (2012), os maiores valores de CFG encontrados no CN nas camadas superficiais estão possivelmente relacionados à maior adição, ciclagem e decomposição de resíduos culturais na superfície do solo, à redução na atividade microbiana em profundidade e à queda de temperatura do solo. Na camada superficial (de 0 a 0,05 m), não foram verificadas diferenças entre os sistemas no que respeita aos valores de CAM. Nas camadas seguintes, o SP foi superior ao CN.

Dinâmica da matéria orgânica em solos sob campo natural

Estudos de caracterização da MO em solos sob campo natural buscam avaliar a sua qualidade antes da utilização agrícola, com o objetivo de monitorar o sistema de manejo utilizado, visando preservar ou incrementar a qualidade do solo e do ambiente. Essas ações contribuem para o desenvolvimento de sistemas sustentáveis de manejo do solo nesses ambientes.

Ao caracterizar quantitativa e qualitativamente a MOS, em um Neossolo Litólico (RL), um Planossolo Háptico (SX) e um Vertissolo Háptico (VX) sob campo natural na região da Serra do Sudeste do Rio Grande do Sul, Kunde (2010) observou que, em todas as camadas avaliadas, o SX apresentou os menores estoques de COT nas camadas estudadas (Tabela 5), provavelmente por apresentar maior teor de areia e, portanto, menor capacidade de estabilização da MO do solo.

Conforme verificado na Tabela 5, os estoques de COT variaram de 12,02 Mg ha⁻¹ a 20,60 Mg ha⁻¹ na camada de 0 a 0,025 m para o SX e o RL, representando, respectivamente, 60,43% e 56,18% do COT armazenado na camada de 0 a 0,075 m. Entretanto, na camada de 0,025 m a 0,075 m, os estoques variaram de 7,87 Mg ha⁻¹ a 17,72 Mg ha⁻¹ para o SX e o VX, respectivamente, constituindo 39,56% e 51,95% do COT acumulado na camada de 0 a 0,075 m.

Os maiores estoques de CFG em todas as camadas avaliadas foram observados no RL (Tabela 6), fato que pode estar relacionado ao tipo de vegetação encontrado na área, onde há predomínio de árvores e arbustos, com maior produção de fitomassa, que aumenta o CFG, o qual é essencialmente constituído por resíduos pouco decompostos (AMADO et al., 2006). Entretanto, os menores estoques de CFG encontrados no SX e VX podem ser explicados pelo fato de a fração grosseira ser facilmente acessada e decomposta pela microbiota,

Tabela 5. Estoque e contribuição porcentual do carbono orgânico total (COT) em diferentes tipos de solo sob campo natural na Serra do Sudeste do Rio Grande do Sul. Pinheiro Machado, 2010.

Tipos de solo	Carbono orgânico total				
	0 a 0,025 m		0,025 m a 0,075 m		0 a 0,075 m ⁽¹⁾
	Estoque (Mg ha ⁻¹)	Contribuição (%)	Estoque (Mg ha ⁻¹)	Contribuição (%)	Estoque (Mg ha ⁻¹)
Neossolo Litólico (RL)	20,60	56,18	16,07	43,82	36,67
Planossolo Háplico (SX)	12,02	60,43	7,87	39,56	19,89
Vertissolo Háplico (VX)	16,39	48,05	17,72	51,95	34,11
Desvio-padrão	4,29	6,29	5,28	6,29	9,04

⁽¹⁾ Valores obtidos pela soma das duas camadas amostradas.

Fonte: Kunde (2010).

pois esses solos apresentam matriz arenosa, que proporciona menor proteção a essa fração em relação ao RL (ZSCHORNACK, 2007).

Na camada de 0 a 0,075 m, o maior estoque de CAM foi encontrado no VX (27,56 Mg ha⁻¹). Possivelmente, a matriz mineral desse solo apresenta maior capacidade de proteção física da MO do solo.

Os estoques de C na FLL e na FLO foram superiores na camada de 0 a 0,025 m quando comparados aos encontrados na camada de 0,025 m a 0,075 m (Tabela 6). Resultado semelhante foi encontrado por Zschornack (2007), justificando a ocorrência pelo efeito da distribuição do sistema radicular e da deposição direta dos resíduos das plantas na camada superficial.

Recomendações

Sistemas de manejo que contemplem sistemas de culturas com máxima adição de resíduos vegetais ao solo (uso de plantas de cobertura de inverno e de verão, incluindo plantas leguminosas ou uso de dejetos animais) e revolvimento mínimo do solo (uso de semeadura direta ou cultivo mínimo) propiciam, ao longo do tempo, a manutenção ou o incremento do seu conteúdo de MO do solo.

Tabela 6. Estoque do carbono da fração grosseira (CFG), do carbono associado aos minerais (CAM), da fração leve livre (FLL), da fração leve oclusa (FLO) e da fração pesada (FP) em diferentes tipos de solos, sob campo natural na região da Serra do Sudeste do Rio Grande do Sul. Pinheiro Machado, 2010.

Tipos de solo	CFG	CAM	FLL	FLO	FP
	(Mg ha ⁻¹)				
0 a 0,025 m					
Neossolo Litólico (RL)	5,14	15,46	3,62	3,43	13,55
Planossolo Háptico (SX)	1,65	10,55	2,07	2,69	7,27
Vertissolo Háptico (VX)	1,37	15,02	1,04	2,66	12,69
Desvio-padrão	2,10	2,72	1,30	0,44	3,40
0,025 m a 0,075 m					
Neossolo Litólico (RL)	8,98	7,09	0,98	2,43	12,66
Planossolo Háptico (SX)	3,31	4,57	0,15	0,93	6,79
Vertissolo Háptico (VX)	5,18	12,54	0,27	1,83	15,62
Desvio-padrão	2,89	4,07	0,45	0,75	4,49
0 a 0,075 m⁽¹⁾					
Neossolo Litólico (RL)	14,12	22,55	4,6	5,86	26,21
Planossolo Háptico (SX)	4,96	15,12	2,22	3,62	14,06
Vertissolo Háptico (VX)	6,55	27,56	1,31	4,49	28,31
Desvio-padrão	4,89	6,26	1,70	1,13	7,69

⁽¹⁾ Valores obtidos pela soma das duas camadas amostradas.

Fonte: Kunde (2010).

Para manter ou até mesmo aumentar a MO do solo, é fundamental adotar as seguintes recomendações:

- Jamais queimar os resíduos culturais mantidos na superfície do solo.
- Realizar periodicamente a análise da fertilidade do solo e planejar o manejo da propriedade com o auxílio de um técnico, adotando programas de adubação compatíveis com os princípios da manutenção e da melhoria gradativa de sua fertilidade.
- Reduzir, ao máximo, a ocorrência de erosão hídrica e eólica do solo, executando, entre outros procedimentos, programas de terraceamento e de manejo de terraços com culturas de cobertura, e realizando descompactação mecânica e/ou biológica do solo.

Cumpra salientar que práticas como a ensilagem total determinam a retirada de todos os resíduos vegetais da parte aérea das culturas ensiladas, o que reduz drasticamente a quantidade de C aportada ao solo. Nesse caso, é importante que, entre outras práticas, sejam adotadas as seguintes: a) fazer a ensilagem numa mesma área somente uma única vez ao ano; b) se for ensilada uma cultura de verão, incluir uma cultura para a produção de biomassa vegetal como cobertura do solo no período invernal, e que contenha, de preferência, plantas leguminosas; e c) em caso de confinamento, que os dejetos animais, devidamente estabilizados, retornem à área ensilada, visando à reciclagem de nutrientes.

Referências

- AMADO, T. J. C.; BAYER, C.; CONCEIÇÃO, P. C.; SPAGNOLLO, E.; CAMPOS, B. C.; VEIGA, M. Potential of carbon accumulation in no-till soils with intensive use and cover crops in southern Brazil. **Journal of Environmental Quality**, v. 35, p. 1599-1607, 2006.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; PAVINATO, A. Armazenamento de carbono em frações lábeis da matéria orgânica de um Latossolo Vermelho sob plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 677-683, 2004.
- CARTER, M. R. Soil quality for sustainable land management: organic matter and aggregation interactions that maintain soil functions. **Agronomy Journal**, v. 94, p. 38-47, 2002.
- CARVALHO, J. S. **Qualidade física, química e biológica de um Planossolo Háplico sob sistema de integração lavoura-pecuária no bioma pampa**. 2013. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Biologia) – Universidade Católica de Pelotas, Pelotas.
- CONCEIÇÃO, P. C. **Agregação e proteção física da matéria orgânica em dois solos do sul do Brasil**. 2006. 113 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- CONCEIÇÃO, P. C.; AMADO, T. J. C.; MIELNICZUK, J.; SPAGNOLLO, E. Qualidade do solo em sistemas de manejo avaliada pela dinâmica da matéria orgânica e atributos relacionados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 777-788, 2005.
- CRUZ, L. E. C.; PILLON, C. N.; GIACOMINI, S. J. Decomposição de resíduos culturais em sistemas rotacionados de manejo em um Planossolo Háplico. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, 8., 2009, Pelotas. **Resumos...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. p. 52.
- DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and accessing soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BESDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (Ed.). **Defining soil quality for sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 3-21. (Special Publication, 35).
- GOLCHIN, A.; OADES, J. M.; SKJEMSTAD, J. O.; CLARKE, P. Study of free and occluded particulate organic matter in soils by solid state ^{13}C CP/MAS NMR spectroscopy and scanning electron microscopy. **Australian Journal of Soil Research**, v. 32, p. 285-309, 1994.
- KUNDE, R. J. **Estoque e qualidade da matéria orgânica em solos sob campo natural da região da Serra do Sudeste do Rio Grande do Sul**. 2010. 18 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Ambiental) – Universidade Católica de Pelotas, Pelotas.
- LOVATO, T.; MIELNICZUK, J.; DEBARBA, L.; FERNANDES, F. F.; VEZZANI, F. M.; PILLON, C. N. Seqüestro de CO_2 em um Argissolo Vermelho sob diferentes preparos, sistemas de cultura e níveis de N mineral. In: REUNIÃO

BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E DA ÁGUA, 13., 2000, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus: CEPLAC, 2000. p. 392-393.

MEURER, E. J. **Fundamentos de química do solo**. 4. ed. Porto Alegre: Evangraf, 2010. 264 p.

MIELNICZUK, J. Matéria orgânica e sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. A. O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2. ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p. 1-5.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Ed. UFLA, 2006. 729 p.

MÜLLER, C. B.; WEBER, O. L. S.; SCARAMUZZA, J. F. Oxidable fraction of organic carbon in an Argisol under different land use systems. **Cerne**, v. 18, p. 215-222, 2012.

OADES, J. M.; GILLMAN, G. P.; UEHARA, G.; HUE, N. V.; NOORDWIJK, M. van; ROBERTSON, G. P.; WADA, K. Interactions of soil organic matter and variable charge clays. In: COLEMAN, D. C.; OADES, J. M.; UEHARA, G. (Ed.). **Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems**. Honolulu: University of Hawaii, 1989. p. 69-95.

PALADINI, F. L. S.; MIELNICZUK, J. Distribuição de tamanho de agregados de um solo podzólico vermelho-escuro afetado por sistemas de cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 15, p. 135-140, 1991.

PILLON, C. N. **Alterações no conteúdo e qualidade da matéria orgânica do solo induzidas por sistemas de cultura em plantio direto**. 2000. 232 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

PILLON, C. N. Manejo da matéria orgânica do solo. In: PEGORARO, L. M. C. (Ed.). **Noções sobre produção de leite**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. p. 41-49.

PILLON, C. N.; MIELNICZUK, J.; MARTIN NETO, L. **Ciclagem da matéria orgânica em sistemas agrícolas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 27 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 125).

RIBASKI, J.; DEDECEK, R. A.; MATTEI, V. L.; FLORES, C. A.; VARGAS, A. F. C.; RIBASKI, S. A. G. **Sistemas silvipastoris: estratégias para o desenvolvimento rural sustentável para a metade Sul do Estado do Rio Grande do Sul**. Colombo: Embrapa Florestas, 2005. 8 p. (Embrapa Florestas. Comunicado Técnico, 150).

RIBASKI, S. A. G.; HOEFLICH, V. A.; RIBASKI, J. Sistemas silvipastoris com apoio ao desenvolvimento rural para a Região Sudoeste do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 60, p. 27-37, 2009.

ROSA, C. M. **Matéria orgânica em Planossolo Háptico sob sistemas de manejo no cultivo do arroz irrigado no Sul do Brasil**. 2010. 92 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

ROSA, C. M.; CASTILHOS, R. M. V.; PAULETTO, E. A.; PILLON, C. N.; LEAL, O. A. Conteúdo de carbono orgânico em Planossolo Háptico sob sistemas de manejo do arroz irrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 1769-1776, 2011.

ROVEDDER, A. P. M.; ELTZ, F. L. F. Desenvolvimento do *Pinus elliottii* e do *Eucalyptus tereticornis* consorciado com plantas de cobertura, em solos degradados por arenização. **Ciência Rural**, v. 38, p. 84-89, 2008.

ROVEDDER, A. P. M.; ELTZ, F. L. F.; DRESCHER, M. S.; SCHENATO, R. B.; ANTONIOLLI, Z. I. Organismos edáficos como bioindicadores da recuperação de solos degradados por arenização no Bioma Pampa. **Ciência Rural**, v. 39, p. 1061-1068, 2009.

SANTOS, D. C.; FARIAS, M. O.; LIMA, C. L. R.; KUNDE, R. J.; PILLON, C. N.; FLORES, C. A. Fracionamento químico e físico da matéria orgânica de um Argissolo Vermelho sob diferentes sistemas de uso. **Ciência Rural**, v. 43, p. 838-844, 2013.

SILVA, I. F.; MIELNICZUK, J. Ação do sistema radicular de plantas na formação e estabilização de agregados do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 21, p. 113-117, 1997.

SILVA, I. R.; MENDONÇA, E. S. Matéria orgânica do solo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. V. H.; BARROS, N. F. de; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 275-374.

SILVA, L. S.; SOUSA, R. O.; POCOJESKI, E. Dinâmica da matéria orgânica em ambientes alagados. In: SANTOS, G. de A.; SILVA, L. S. da; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. de O. (Ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2. ed. rev. atual. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p. 525-543.

STRECK, E. V.; KÄMPF, N.; DALMOLIN, R. S. D.; KLAMT, E.; NASCIMENTO, P. C. do; SCHNEIDER, P.; GIASSON, E.; PINTO, L. F. S. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2. ed. rev. ampl. Porto Alegre: Emater/RS, 2008. 222 p.

ZSCHORNACK, T. **Fracionamento e estoques de carbono orgânico de solos de várzea sob campo natural no Rio Grande do Sul**. 2007. 88 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

CRIA E RECRIA DE FÊMEAS DE REPOSIÇÃO EM REBANHOS LEITEIROS

Jorge Schafhäuser Junior
Fábio Antunes Rizzo
Rudolf Brand Scheibler
Ana Paula Binato de Souza
Lívia Argoud Lourenço
Victor Ionatan Fioreze
Eliza Simone Viégas Sallis
Jamir Luís Silva da Silva

Introdução

A criação de animais saudáveis para reposição em rebanhos leiteiros implica vários fatores, os quais podem ser determinantes da rentabilidade do sistema quando avaliada de forma direta, como também de forma indireta, quando se correlaciona essa rentabilidade à longevidade das vacas, ao volume e à frequência de uso de medicamentos durante sua vida produtiva, a respostas aos tratamentos realizados e ao volume de leite produzido por lactação, entre outros pontos.

Segundo o National Research Council (NRC), os custos relacionados às fases de cria e recria, assim como o impacto desses custos sobre o tempo que a novilha pode levar para entrar em produção, têm gerado preocupação entre técnicos e produtores sobre as taxas de crescimento de novilhas leiteiras na recria, visando a maiores ganhos e à avaliação dessas taxas de crescimento sobre a produção de leite durante a vida produtiva dessas fêmeas (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001).

O custo da criação dos animais de reposição em rebanhos leiteiros compõe a segunda maior fonte de despesas em um sistema de produção (SOCHA; JOHNSON, 2000), ficando atrás somente dos gastos com o rebanho em lactação, os quais respondem de forma imediata aos desembolsos, enquanto, na recria, essa expectativa não existe em curto

prazo. Isso, muitas vezes, leva o produtor a priorizar a qualidade do manejo com as vacas lactantes, em detrimento dos animais em recria.

O objetivo principal de um sistema de manejo de fêmeas de reposição, segundo Sejrsen e Purup (1997), é produzir excelentes vacas. Essa excelência não pode ser medida apenas em termos de ganho de peso ou eficiência alimentar, mas também pelo potencial de produção de leite da novilha ou pela produção efetiva da vaca. O principal fator limitante do potencial de produção de leite de uma vaca é a quantidade de tecido secretor da glândula mamária. Portanto, priorizar sistemas de manejo da recria que maximizem o desenvolvimento do tecido secretor da glândula mamária pode melhorar a produção de leite dos animais durante sua vida produtiva. A novilha deve ser considerada como um investimento na atividade leiteira, e o sucesso do programa de criação das novilhas deve ser avaliado pelo desempenho delas durante sua vida produtiva.

A reposição de animais de excelente qualidade em sistemas de produção de leite é fundamental para o melhoramento do rebanho e o aumento de produtividade. Dar bastante atenção à fase da cria, que vai do nascimento aos 90 dias de idade, assim como à fase da recria, dos 91 dias até o primeiro parto, é determinante para a saúde e a longevidade da futura vaca, durante sua vida produtiva. Portanto, são fases nas quais o produtor deve dedicar especial atenção à nutrição, à sanidade e ao bem-estar dos animais.

O objetivo desta revisão é discutir os principais fatores envolvidos na criação de animais de reposição, enfatizando a regulação do desenvolvimento da glândula mamária em diferentes fases de crescimento, além de aventar algumas das possíveis razões para os resultados discrepantes encontrados na literatura. Este capítulo propõe-se também a sugerir práticas ou processos de manejo que visem maximizar os resultados técnicos e econômicos da fase de cria e recria de fêmeas em rebanhos leiteiros.

Fases de crescimento

Fase de cria (desde o nascimento até 90 dias de idade)

A partir de um acasalamento bem planejado e de um manejo pré-parto executado de forma ideal, a expectativa é a do nascimento de um animal saudável e com peso compatível com a raça (em torno de 40 kg para a raça Holandesa e de 25 kg para a Jersey). Após o

nascimento, recomenda-se a limpeza das vias respiratórias, a secagem do recém-nascido e a cura do umbigo com solução de iodo. Tomados esses primeiros cuidados, deve-se proceder à ordenha da vaca e à oferta de colostro ao neonato, oferecido em balde ou mamadeira, na quantidade mínima de 2 L, durante as primeiras 6 horas de vida. Quanto mais rápido o colostro for ordenhado, maior será a concentração de imunoglobulinas presentes nele, e maior será a absorção das imunoglobulinas pelas terneiras, nas primeiras horas depois do nascimento.

Ao nascimento, a permeabilidade do epitélio intestinal é maior, permitindo a passagem de moléculas grandes; assim, as imunoglobulinas podem ser absorvidas intactas. Do mesmo modo, o pH do abomaso, que está mais elevado ao nascimento, não realiza a hidrólise ácida dessas proteínas, permitindo que elas cheguem intactas ao intestino delgado. Dessa forma, as imunoglobulinas, absorvidas intactas, mantêm preservada sua capacidade de conferir imunidade ao neonato contra uma série de enfermidades. Essa capacidade decresce linearmente nas primeiras 36 horas após o nascimento.

A separação imediata entre a terneira e sua mãe deverá ser feita visando facilitar o manejo durante o aleitamento, pois, sem mamar na mãe, a terneira tende a se condicionar mais rapidamente a ingerir leite no balde ou na mamadeira. Da mesma forma, a vaca, sobretudo quando é primípara, se adapta melhor à ordenha mecânica quando não desenvolve laços afetivos com a cria. Embora esse manejo possa parecer mais agressivo aos leigos, permite uma melhor condição de sobrevivência e vida saudável à terneira, além de melhorar o conforto e a sanidade do úbere de sua mãe.

Durante os primeiros 3 dias de vida, deve-se fazer a cura do umbigo pela manhã e à tarde. A oferta de colostro deve ser à vontade, em no mínimo três refeições diárias. A partir do quarto dia, pode-se fornecer 4 L de leite ou sucedâneo por dia, em duas refeições. É muito importante que a temperatura do leite ou do sucedâneo esteja em torno de 35 °C para evitar distúrbios digestivos na terneira, cujo trato digestivo está em final de formação, com restrições, então, nas suas capacidades digestiva e volumétrica.

O tipo e a qualidade das instalações onde os animais ficam alojados na fase de cria são de extrema importância, não somente porque afetam diretamente a saúde dos animais, mas também os custos do sistema de produção. O sistema de casas individuais móveis é preferível ao de estruturas coletivas fixas (bezerreiros) porque sua construção é de baixo custo e as casinhas têm boa durabilidade. Entretanto, para prevenir problemas com a sanidade das terneiras, é fundamental que as casinhas sejam mudadas de local com certa frequência, de modo a evitar a formação de lama e o acúmulo de fezes, que podem

contribuir para a incidência de enfermidades nas terneiras. Essa rotatividade pode ocorrer a intervalos de 1 a 3 dias, a depender das condições climáticas (presença de lama).

Diversas doenças podem interferir na criação de fêmeas de reposição em rebanhos leiteiros, causando prejuízos econômicos em virtude da morbidade, da mortalidade, dos custos com medicamentos e do retardo no desenvolvimento (BENESI, 1999). Em bovinos leiteiros jovens na fase de aleitamento, as principais causas de mortalidade estão relacionadas a problemas respiratórios e entéricos (ASSIS-BRASIL et al., 2013).

Diarreia neonatal é uma das mais preocupantes enfermidades em bovinos jovens. Tem ocorrência mundial e geralmente afeta terneiros com menos de 6 semanas de idade, embora animais com mais de 4 meses também possam ser acometidos da enfermidade (BARRINGTON et al., 2002). É considerada como síndrome, visto que decorre da interação entre vários fatores, como a imunidade dos animais, o ambiente, a nutrição e agentes infecciosos (BENESI et al., 1999; BOTTEON et al., 2008; HALL et al., 1992). As toxinas bacterianas, a inflamação induzida por bactérias e parasitas e a atrofia das vilosidades intestinais, causada por vírus e protozoários, determinam hipersecreção intestinal, má absorção e digestão, tendo como resultado a diarreia, que reflete uma disfunção do trato digestivo. Os sinais clínicos observados nos animais são: anorexia, fezes pastosas e/ou líquidas, dificuldade para mamar, fraqueza e desidratação.

Os principais agentes da diarreia neonatal em bezerros são as bactérias (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*), os vírus (coronavírus, rotavírus) e os protozoários (*Cryptosporidium* sp. e *Eimeria* spp.). Também são causadores de diarreia: distúrbios nutricionais, baixo nível de ingestão de colostro nos primeiros dias de vida, qualidade da dieta e condições de criação dos animais (BENESI et al., 1999). Os enteropatógenos de origem bacteriana, viral e parasitária podem causar diarreia, isolados ou combinados, e normalmente estão presentes no ambiente onde são criadas as terneiras ou em vacas adultas assintomáticas (MILLEMANN, 2009). As terneiras geralmente se contagiam por via oral, em contato com material fecal contaminado.

Nos Estados Unidos, a diarreia é considerada uma das principais causas de morte em bezerros (52%) na fase de aleitamento, seguida por doenças respiratórias. No Brasil, poucos são os relatos que informem as taxas de morbidade e mortalidade em bezerros. Estima-se que as taxas de mortalidade variam de 3% a 34% no Rio de Janeiro, em São Paulo e em Minas Gerais (BOTTEON et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2012). Em virtude da carência de dados sobre a frequência das causas de mortalidade, é difícil estimar as perdas por morte de bezerros. Recentemente, em um levantamento feito no Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD) da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (ASSIS-BRASI et al.,

2013) sobre enfermidades de bezerros, as doenças do sistema digestivo que cursam com diarreia representaram, em um período de 11 anos, 60,97% dos casos.

Para acelerar o processo de estabelecimento da ruminação na terneira durante a fase de aleitamento, é de fundamental importância iniciar o mais cedo possível a oferta de alimentos sólidos. Essa alimentação sólida, na forma de concentrado inicial e feno de excelente qualidade, deve ser introduzida a partir do décimo dia a contar do nascimento, para estimular o desenvolvimento do rúmen e possibilitar o desaleitamento em torno dos 60 dias de idade, sem que haja prejuízo ao desenvolvimento da terneira. Para isso, a alimentação sólida ofertada deve ser de excelente valor nutritivo e de boa palatabilidade, para que os animais jovens fiquem estimulados a consumi-la.

Na ausência da mãe, o aprendizado do consumo de alimento sólido é estimulado pela interação social e pelo contato visual com terneiras mais velhas; entretanto, o contato físico deve ser evitado em razão do risco de transmissão de enfermidades, pois, nessa fase, o sistema imunológico da terneira não está completamente desenvolvido. Atualmente, os sistemas de criação coletiva vêm sendo preconizados no sentido de promover o bem-estar animal, principalmente quando se leva em consideração o instinto gregário dos bovinos. Entretanto, em sistemas de produção de leite com animais de elevado mérito genético, a ocorrência de doenças nos sistemas coletivos tem feito prevalecer a criação individualizada. Para que sejam mais utilizados no futuro, os sistemas coletivos deverão ser capazes de proporcionar elevada condição sanitária ao ambiente de criação.

A oferta de feno e concentrado deve ser feita em pequena quantidade e com alta frequência. A oferta de água, de ótima qualidade, deve ser permanente, evitando-se os períodos imediatamente posteriores ao fornecimento de leite, pois as terneiras tendem, nesse momento, a ingerir grande quantidade de água, o que prejudica a digestão do leite e pode causar diarreia.

Nos primeiros dias de vida, deve-se fazer a extração dos tetos extranumerários. Essa não é só uma questão de estética, mas também de saúde do úbere, pois esses tetos podem, quando forem funcionais, representar focos de mamite. A descorna pode ser feita até os 60 dias de idade, mas os melhores resultados são conseguidos em animais mais jovens, até os 30 dias. Pode ser feita a quente, a frio ou por meio de descorna química. Tanto a descorna quanto o corte de tetos extranumerários devem ser feitos por técnico capacitado. Do mesmo modo, o calendário de vacinações deve seguir a recomendação técnica.

O desaleitamento pode ser feito a partir do momento que a terneira esteja ingerindo quantidade significativa de alimento sólido e ruminando regularmente. O desaleitamento

aos 60 dias de idade é o mais utilizado. Nesse momento, a terneira deve apresentar padrões normais de ruminção, estar ingerindo, diariamente, no mínimo 1% do seu peso em concentrado, não apresentar hipertermia ou diarreia, consumir feno regularmente e ter ganhado peso médio próximo a 500 g por dia desde o nascimento.

No desaleitamento, a suspensão do fornecimento de leite deve ser total e abrupta, para que a terneira seja estimulada a aumentar a ingestão de alimento sólido, que deve ser limitado a 2% do peso vivo, e ajustado semanalmente, com base no aumento de peso do animal. A oferta de feno nessa fase não deve ser restritiva.

A transferência para baias ou piquetes coletivos não deve ser feita antes de 15 dias, para possibilitar a observação e o controle da ingestão de alimentos nos primeiros dias após o desaleitamento. Na formação dos lotes, deve-se levar em consideração o tamanho dos animais, pois pode haver disputa pelo alimento, prejudicando os menores. Pelo mesmo motivo, devem ser evitados lotes com mais de 10 animais.

Depois do desaleitamento, as terneiras devem apresentar uma curva de crescimento sem oscilação, com ganho de peso médio de até 800 g por dia para novilhas da raça Holandesa e de 600 g por dia para novilhas da raça Jersey. Ganhos maiores podem levar ao acúmulo de gordura na região do úbere, o que diminui a circulação sanguínea e prejudica o desenvolvimento da glândula mamária. O consumo de feno nessa fase é ideal para estimular a distensão do trato digestivo e o aumento da capacidade de consumo de alimentos na idade adulta. Deve-se considerar que uma elevada capacidade de consumo de matéria seca é fundamental para garantir uma elevada capacidade produtiva na fase adulta.

Para acelerar o processo de recria, muitas vezes são impostos aos animais programas de nutrição específicos para elevadas taxas de ganho de peso durante a recria. Essa premissa baseia-se no fato de que um dos principais fatores que reduzem a idade ao primeiro parto – o que em geral melhora o resultado econômico dos sistemas de produção – é o aumento da taxa de crescimento das novilhas em recria. Parece haver consenso quanto a que o primeiro parto deva ocorrer o mais cedo possível, quando, então, o animal passaria de uma fase improdutiva (recria) para uma produtiva, na qual ele geraria receita no sistema (lactação).

Como a duração da gestação é fixa, e como o início da puberdade está inversamente relacionado à taxa de crescimento, acelerar o crescimento durante a pré-puberdade pode efetivamente levar à redução da idade ao primeiro parto. Além disso, durante a gestação, outros fatores, como o crescimento fetal, estão envolvidos, os quais podem restringir a imposição de altas taxas de ganho de peso nesse período. Portanto, o melhor período a ser explorado para encurtar a idade do primeiro parto parece ser a pré-puberdade.

Infelizmente, esse parece ser justamente o período no qual a glândula mamária é mais sensível aos efeitos negativos da elevada taxa de crescimento.

Nos sistemas de produção, com diferentes níveis tecnológicos, as relações entre taxa de crescimento, desenvolvimento corporal e formação do tecido mamário não têm sido devidamente consideradas, o que pode levar a uma das três situações:

- As novilhas chegam ao primeiro parto em idade avançada, em virtude da baixa velocidade de crescimento durante o período de recria, causando perda de receita potencial para o sistema de produção.
- As novilhas chegam ao primeiro parto em idade adequada, mas sem desenvolvimento corporal suficiente, o que aumenta a incidência de distocia, prejudica a produção na primeira lactação, aumenta o intervalo para o segundo parto e, provavelmente, reduz a vida útil desses animais.
- As novilhas são recriadas, indiscriminadamente, a altas taxas de ganho de peso, com dietas excessivas em energia, parindo pela primeira vez em idade adequada, com desenvolvimento corporal satisfatório, mas com o desenvolvimento da glândula mamária comprometido, muitas vezes até de forma irreversível.

Fase de recria

A fase de recria em rebanhos leiteiros pode influenciar o desempenho durante a vida produtiva das vacas e, por esse motivo, deve-se manter todo o cuidado para evitar o excessivo ganho de peso, que pode ser tão prejudicial quanto a subnutrição das novilhas. Ganhos médios diários acima de 900 g podem causar o acúmulo de tecido adiposo na glândula mamária, que reduz a síntese do parênquima mamário, responsável pela secreção láctea. O período que vai dos 90 dias de idade até a puberdade – quando as novilhas atingem cerca de 50% a 55% da estimativa do seu peso adulto – é um dos momentos críticos para o desenvolvimento da glândula mamária e, por isso, merece ser discutido em detalhes.

Nutrição na recria e potencial de produção de leite

Nos últimos 30 anos, inúmeros trabalhos relataram os efeitos de diferentes planos nutricionais, na fase de crescimento de novilhas, sobre seu potencial de produção de leite. Resultados variados têm sido apresentados.

Uma série de trabalhos tem demonstrado efeitos negativos de altos planos nutricionais sobre o desenvolvimento do tecido secretor da glândula mamária e, conseqüentemente, sobre a produção de leite. Já em outros trabalhos, não têm sido observados efeitos do plano nutricional sobre a produção futura. No segundo caso, a falta de resultados se justifica pelo fato de a metodologia utilizada não ter sido a mais adequada para evidenciar os efeitos esperados. Ainda assim, em alguns trabalhos, as razões para que a falta de efeito não tenha sido esclarecida podem estar relacionadas a fatores ainda não amplamente investigados, como a concentração de certos hormônios (como GH e IGF-I), receptores no tecido, e/ou fatores de crescimento, como ácidos graxos específicos (SEJRSEN; PURUP, 1997).

Início da puberdade

O início da puberdade, segundo Sejrsen e Purup (1997), ocorre normalmente entre 9 e 11 meses de idade (de 250 kg a 280 kg para a raça Holandesa, e de 170 kg a 190 kg para a Jersey), e é mais função do peso do que da idade. A Figura 1 mostra a influência da taxa de crescimento sobre a idade à puberdade, e como o peso à puberdade não se altera em diferentes taxas de ganho de peso.

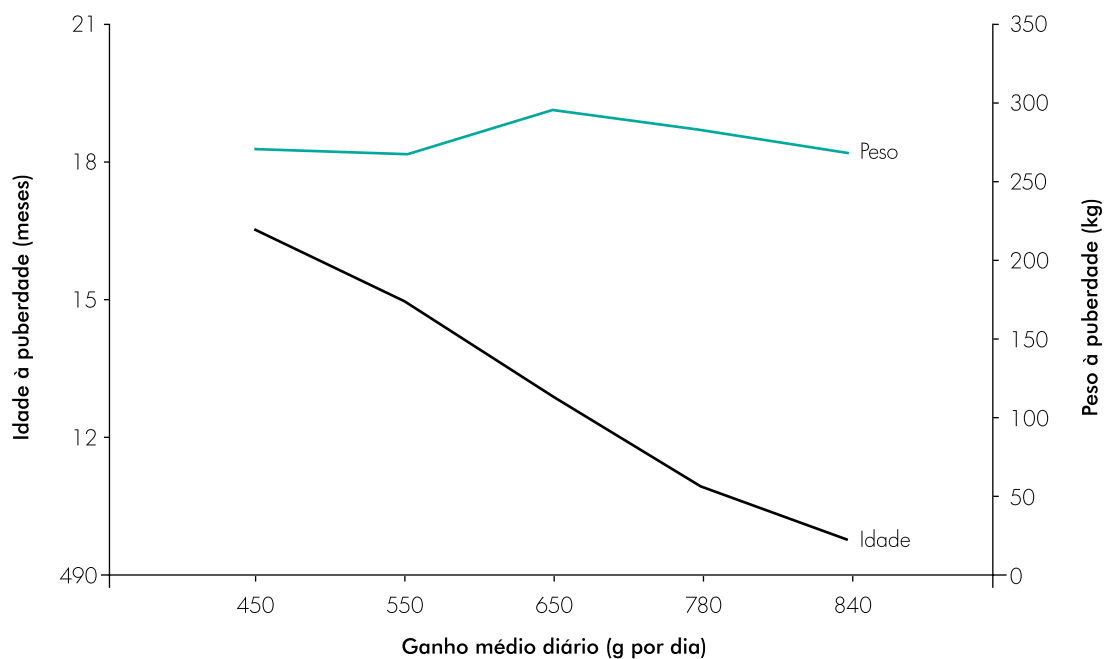


Figura 1. Efeito da velocidade de crescimento sobre a idade e o peso à puberdade, caracterizada como o primeiro cio observado.

Fonte: adaptado de Sejrsen e Purup (1997).

Com bases nesses dados, percebe-se que é fisiologicamente possível que o primeiro parto ocorra antes dos 20 meses de idade, dependendo apenas do ritmo de ganho de peso das novilhas, com vista a atingir o peso-alvo para a primeira inseminação, em torno de 55% do peso adulto esperado, e para o primeiro parto, de 82% do peso adulto esperado (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001; VAN AMBURGH et al., 1998a).

Idade ao primeiro parto

A idade ao primeiro parto é o reflexo da taxa de ganho de peso durante a recria. Sejrnsen e Purup (1997) resumem, na Tabela 1, os resultados de diferentes idades ao primeiro parto sobre a produção de leite, em várias raças de bovinos.

Fica evidente que a redução da produção leiteira não mantém uma relação de causa/efeito com o peso ao parto, mas, sim, com as taxas de ganho de peso durante a recria, mostrando a redução relativa em produção à medida que se reduz a idade ao primeiro parto.

O National Research Council (2001), baseado em Van Amburgh et al. (1998a, 1998b) e em Hoffman (1997), além de outros, afirma que ganhos de peso da ordem de 0,8 kg a 0,9 kg por dia propiciam a ocorrência do primeiro parto antes dos 24 meses.

Tabela 1. Efeitos do ganho de peso na pré-puberdade sobre a produção de leite, em várias raças de bovinos.

Raça	n	Ganho diário médio (g por dia)	Peso ao parto		Leite corrigido com 3,5% gordura (250 dias)	
			Idade (meses)	Peso vivo (kg)	kg	Produção relativa (%)
Jersey	41	362	29	341	5.125	100
	44	487	26	353	4.750	93
	44	557	23	329	4.125	80
Dinamarquesa	52	549	29	530	5.675	100
	52	718	26	525	4.900	86
	51	845	23	490	4.700	82
Holandesa	53	579	29	513	5.425	100
	53	731	26	500	5.400	100
	55	858	23	498	4.900	90

Fonte: adaptado de Sejrnsen e Purup (1997).

Essas afirmações têm como meta o parto precoce. Pirlo et al. (2000) citam que a queda de produção de leite causada pela redução da idade ao primeiro parto, de 29 meses para 23 meses, é compensada pelos menores custos da recria. Van Amburgh et al. (1998b) observaram que novilhas recriadas a uma taxa de ganho de peso de 0,94 kg por dia pariram pela primeira vez antes dos 24 meses de idade, mas produziram 5% menos leite ($P \leq 0,05$) do que o grupo com taxa de ganho de 0,68 kg por dia (8.558 kg vs. 9.008 kg de leite por lactação de 305 dias, leite corrigido para o teor de 4% de gordura), mas não houve diferença significativa quando as produções foram corrigidas para peso ao parto.

As conclusões de Pirlo et al. (2000) devem ser extrapoladas com cuidado, pois podem ser válidas apenas para condições específicas de preço de leite e de insumos. Entretanto, os autores afirmam que, realmente, há uma perda em produção como efeito da redução da idade ao primeiro parto (Figura 2).

Vê-se, na Figura 2, derivada de registros de mais de 1 milhão de animais, uma redução da produção de leite na primeira lactação à medida que diminui a idade ao primeiro parto. O teor de gordura do leite segue variação semelhante.

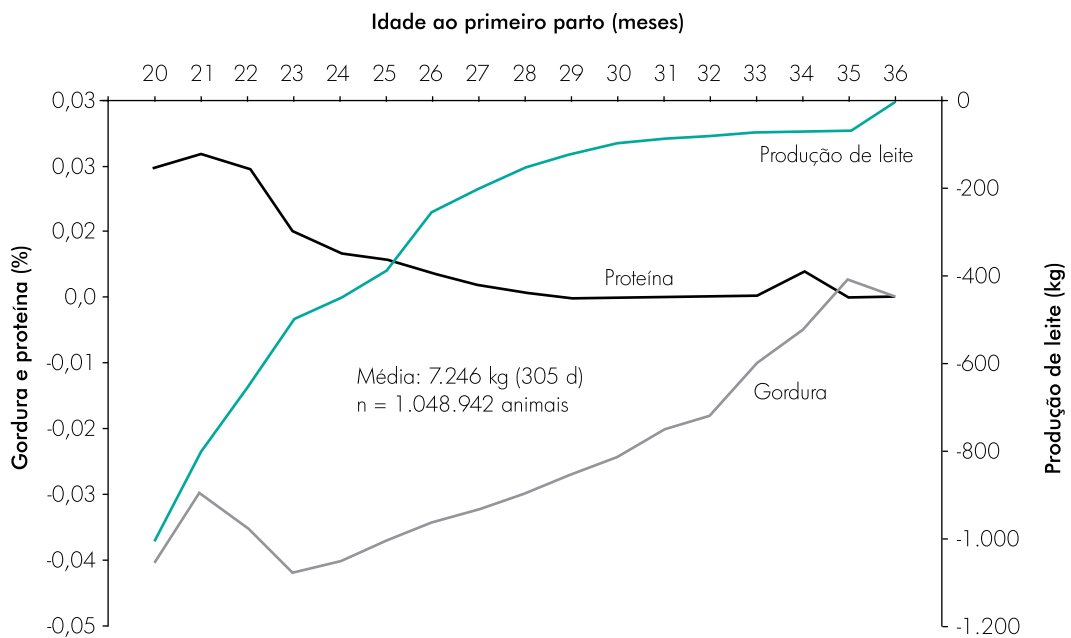


Figura 2. Efeito da idade ao primeiro parto sobre a produção de leite, o teor de proteína e o de gordura na primeira lactação, com base em um animal-padrão, parido aos 36 meses.

Fonte: adaptado de Pirlo et al. (2000).

No trabalho de Van Amburgh et al. (1998b), não foram verificadas diferenças significativas quando as produções foram corrigidas para “peso ao parto”. Segundo Sejrsen e Purup (1997), é questionável o uso dessa correção. No trabalho de Van Amburgh et al. (1998b), os animais foram submetidos a três taxas de ganho de peso entre 90 kg e 320 kg de peso vivo, tendo sido submetidos, posteriormente, ao mesmo plano nutricional até o parto e durante a lactação (Tabela 2). O plano nutricional utilizado após os 320 kg de peso vivo produziu resultados diferentes do esperado, e isso afetou o peso ao parto, que foi, em alguns casos, diferente do peso-alvo. Portanto, diferenças de peso ao parto poderiam ter sido consideradas como efeitos de tratamento. Os próprios autores põem em dúvida o uso da correção.

Tabela 2. Ganho de peso durante e após o período experimental, e produção de leite, corrigida a 4% de gordura, de novilhas recriadas em diferentes planos nutricionais, entre 90 kg e 320 kg de peso vivo.

Plano nutricional	Ganho de peso proposto		
	0,6 (kg por dia)	0,8 (kg por dia)	1,0 (kg por dia)
Número de novilhas	84	65	85
GMD durante o tratamento (kg por dia)	0,68	0,83	0,94
GMD pós-tratamento (kg por dia)	0,67	0,64	0,58
Quilograma de leite por lactação de 305 dias, leite corrigido para teor de 4% de gordura	9.008a	8.810ab	8.558b
Quilograma de leite por lactação de 305 dias, leite corrigido para teor de 4% de gordura e peso ao parto (kg) corrigido	8.918a	8.814a	8.674a
Peso vivo ao parto (kg)	550a	529b	520c
Peso vivo na 40ª semana de lactação (kg)	574a	573a	565a

GMD: ganho médio diário. Médias na mesma linha, seguidas por letras diferentes, diferem entre si ($P < 0,05$).

Fonte: adaptado de Van Amburgh et al. (1998b).

Observa-se na Tabela 2 que, quando os animais foram submetidos à mesma dieta (pós-tratamento), o desempenho foi diferente, e que as novilhas que ganharam mais peso durante o tratamento (0,94 kg por dia) tiveram pior desempenho subsequente e apresentaram menores pesos ao primeiro parto do que o grupo de menor ganho (0,68 kg por dia). Quando foi feita a correção da produção conforme o peso, a diferença em produção passou a ser não significativa; entretanto, a diferença de desempenho após os tratamentos refletiu a condição anterior dos animais, caracterizando-se isso como efeito de tratamento.

Ainda nesse trabalho, na 40ª semana de lactação, o peso vivo dos animais dos grupos de menor e maior ganho foi igualado (574 kg vs. 565 kg, $P > 0,05$), o que demonstra um perfil diferente de partição de nutrientes. Esses dados concordam com Capuco et al. (1995), que informam que:

- O consumo excessivo de energia durante a pré-puberdade pode provocar mudanças permanentes do sistema endócrino ou no tecido adiposo, o qual inibiria a lactogênese e/ou o controle homeorrético durante a lactação.
- O consumo excessivo de energia na pré-puberdade pode aumentar a propensão de engorda do animal quando adulto.

Muitos trabalhos têm demonstrado efeitos negativos de elevados planos nutricionais, durante o período da recria, sobre o desenvolvimento da glândula mamária, com redução do crescimento de tecido secretor e aumento de adipócitos, embora este último efeito negativo não tenha sido consistentemente comprovado quando avaliada a produção de leite na primeira lactação. Vários autores comentam as causas para a variação dos efeitos dos diferentes planos nutricionais sobre a produção de leite. Entre elas estão, principalmente:

- A fase do crescimento na qual os animais são submetidos às dietas e a duração dos períodos experimentais.
- As dietas prévias e posteriores aos períodos experimentais.
- As taxas de ganho de peso impostas nos experimentos e as diferenças entre elas.

Um exemplo de período experimental e de fase de crescimento inadequados pode ser visto na Tabela 3, em que estão resumidos alguns dados do trabalho de Abeni et al. (2000).

Nesse trabalho foram utilizadas duas taxas de ganho de peso e dois pesos diferentes para a primeira inseminação artificial, o que demonstra influência dos tratamentos sobre alguns dados de produção, embora essas diferenças tenham sido mais relacionadas ao peso ao primeiro parto do que às dietas.

Os dados da Tabela 3 diferem significativamente apenas quando a variável é idade à primeira inseminação artificial, enquanto o plano nutricional não produziu diferenças em relação à produção dos animais. O ocorrido pode estar relacionado ao fato de que os autores utilizaram animais com peso inicial de 150 kg no experimento 1, e 300 kg no experimento 2. Como os períodos experimentais não abrangeram (no experimento 1, apenas em parte; e, no experimento 2, totalmente) o período crítico de crescimento da glândula mamária, os efeitos ficaram mais relacionados ao peso ao primeiro parto do que às dietas utilizadas.

Tabela 3. Idade, peso ao parto e produção da primeira lactação (305 dias) de novilhas recriadas sob duas taxas de ganho de peso e inseminadas pela primeira vez com dois pesos.

Experimento	Plano nutricional ⁽¹⁾		Primeira inseminação	
	Médio	Alto	370 kg	420 kg
Experimento 1⁽²⁾				
Número de novilhas	8	9	7	10
Produção de leite (kg por dia)	25,39	26,77	24,14b	28,03a
Produção de leite (kg por dia) ⁽²⁾	26,18	27,34	26,25a	27,27a
Idade ao primeiro parto (dias)	876	871	808b	940a
Peso ao primeiro parto (kg)	559	540	527a	573a
Experimento 2⁽³⁾				
Número de novilhas	9	8	10	7
Produção de leite (kg por dia)	26,97	26,27	25,44b	27,80a
Produção de leite (kg por dia) ⁽⁴⁾	26,10	26,50	25,20b	27,41a
Idade ao primeiro parto (dias)	893	848	761b	980a
Peso ao primeiro parto (kg)	579	551	536a	594a

⁽¹⁾ Plano nutricional: não significativo (ns). ⁽²⁾ Experimento 1 – plano nutricional médio: 0,66 kg por dia; plano nutricional alto: 0,77 kg por dia. ⁽³⁾ Experimento 2 – plano nutricional médio: 0,74 kg por dia; plano nutricional alto: 0,82 kg por dia. ⁽⁴⁾ Produção considerando peso ao parto como covariável. Médias na mesma linha, seguidas por letras diferentes, diferem entre si ($P < 0,05$).

Fonte: Abeni et al. (2000).

A mamogênese nas diferentes fases do crescimento

Durante o crescimento corporal de novilhas, desde o nascimento até o primeiro parto, ocorrem quatro fases de desenvolvimento da glândula mamária:

- Do nascimento até o terceiro mês de idade (primeira fase de crescimento isométrico).
- Do terceiro mês de idade até a puberdade (primeira fase de crescimento alométrico).
- Da puberdade até o terceiro mês gestacional (segunda fase de crescimento isométrico).
- Dois terços finais da gestação (segunda fase de crescimento alométrico).

Durante as fases de crescimento isométrico o desenvolvimento da glândula ocorre em intensidade proporcional aos demais tecidos corporais; enquanto, nas fases de crescimento alométrico, o crescimento da glândula mamária ocorre duas a quatro vezes mais rápido do que o crescimento dos demais tecidos corporais (LACASSE; BLOCK, 1993; SEJRSEN; PURUP, 1997; SEJRSEN et al., 1982; TUCKER, 1987).

Os pesquisadores concordam, de uma maneira geral, que as fases de crescimento alométrico são as mais suscetíveis aos efeitos negativos da elevada taxa de crescimento, sendo que a primeira fase de crescimento alométrico tem sido identificada como o período crítico para o potencial de produção de leite (ABENI et al., 2000; BORTONE et al., 1994; LACASSE; BLOCK, 1993; SEJRSEN; PURUP, 1997; SEJRSEN et al., 1982; STELWAGEN; GRIEVE, 1990; VAN AMBURGH et al., 1998b). SejrSEN e Purup (1997) citam ainda que a primeira fase de crescimento alométrico é a mais importante para o potencial produtivo do animal, mesmo sendo quantitativamente menos importante do que a segunda (gestação). Na primeira fase de crescimento alométrico, o alongamento e a ramificação dos ductos primários ocorrem em maior proporção (CAPUCO et al., 1995). Outro aspecto importante a considerar é que, sob altos planos nutricionais, ocorre ainda o encurtamento da primeira fase alométrica de crescimento, uma vez que a novilha atinge a puberdade com menor idade cronológica.

Alguns trabalhos têm sido realizados, entretanto, em fases diferentes do desenvolvimento, totalmente ou em parte, daquelas apontadas como as mais críticas, e essa pode ser uma das razões para a falta de efeitos significativos do crescimento acelerado sobre o potencial de produção de leite, como visto em alguns trabalhos (Tabela 3). Concordando com esses achados, Charles et al. (1999) citam que dietas com alto teor energético podem ser utilizadas após a puberdade, sem interferência sobre o crescimento do tecido mamário. Outro exemplo é o trabalho de Lacasse e Block (1993), cujos dados se encontram nas Tabelas 4 a 6. Os dados da Tabela 4 demonstram o efeito do plano nutricional sobre o consumo de matéria seca e o ganho de peso, com efeitos mais pronunciados durante a segunda fase de crescimento alométrico da glândula mamária, mas sem efeito sobre o potencial produtivo dos animais.

As diferenças produzidas pelos tratamentos (Tabela 4) não ocasionaram diferenças significativas no desempenho dos animais durante a lactação (Tabela 5), a não ser para o teor de gordura do leite, em que houve efeito da dieta na fase isométrica do desenvolvimento, e ganho de peso durante a lactação, sendo afetado pela dieta utilizada na fase alométrica. Nesse caso, o efeito poderia estar relacionado a um diferente perfil de partição de nutrientes, ou simplesmente a diferenças de peso ao parto (Tabela 5).

Tabela 4. Efeito do plano nutricional durante a segunda fase isométrica (ISO) e durante a segunda fase alométrica (ALO) de desenvolvimento da glândula mamária sobre o desempenho na recria de novilhas da raça Holandesa.

Efeito	Plano nutricional ⁽¹⁾				Efeito	
	A:A	A:M	M:A	M:M	ISO	ALO
CMS (kg por dia)						
Durante ISO	9,1	8,9	7,2	7,2	0,0001	-
Durante ALO	9,2	7,0	10,1	6,7	0,4000	0,0001
GMD (kg por dia)						
Durante ISO	0,86	0,80	0,73	0,71	0,0010	-
Durante ALO	0,84	0,66	0,95	0,73	0,0100	0,0010
Peso antes do parto (kg)	643	609	642	598	0,6000	0,0100

⁽¹⁾A ou plano nutricional alto: 840 g por dia; M ou plano nutricional médio: 720 g por dia.

CMS = Consumo diário de matéria seca. GMD = Ganho médio diário. ISO: de 1 ano até o terceiro mês de gestação. ALO: do terceiro mês de gestação até o parto.

Fonte: Lacasse e Block (1993).

Tabela 5. Efeitos do plano nutricional durante a segunda fase isométrica (ISO) e durante a segunda fase alométrica (ALO) de desenvolvimento da glândula mamária sobre o desempenho na lactação, de novilhas leiteiras.

Efeito	Plano nutricional ⁽¹⁾				Efeito	
	A:A	A:M	M:A	M:M	ISO	ALO
Peso pós-parto (kg)	584	553	593	559	0,60	0,02
Peso da cria (kg)	38,7	37,7	38,0	40,0	0,60	0,70
GMD lactação (kg por dia)	-0,04	0,19	0,07	0,10	0,25	0,01
CMS (kg por dia)	16,5	16,5	16,9	16,5	0,65	0,65
Produção de leite (kg por dia)	23,1	22,4	24,5	23,5	0,24	0,36
Leite 4% de gordura (kg por dia)	22,5	21,8	22,4	22,1	0,90	0,35
Gordura (%)	3,91	3,84	3,51	3,68	0,01	0,60
Gordura (kg por dia)	0,89	0,85	0,84	0,85	0,50	0,70
Proteína (%)	2,90	2,92	2,86	2,93	0,70	0,30
Proteína (kg por dia)	0,69	0,70	0,65	0,67	0,30	0,60

⁽¹⁾A ou plano nutricional alto: 840 g por dia; M ou plano nutricional médio: 720 g por dia.

GMD = Ganho médio diário. CMS = Consumo diário de matéria seca. ISO: de 1 ano até o terceiro mês de gestação. ALO: do terceiro mês de gestação até o parto.

Fonte: Lacasse e Block (1993).

Quando as variáveis analisadas estão relacionadas ao desempenho reprodutivo dos animais, as medidas de desempenho não diferiram entre si. Os dados estão na Tabela 6.

Tabela 6. Efeitos do plano nutricional durante a segunda fase isométrica (ISO) e durante a segunda fase alométrica (ALO) de desenvolvimento da glândula mamária sobre o desempenho reprodutivo de novilhas leiteiras.

Inseminação artificial/prenhez	Plano nutricional ⁽¹⁾			
	A:A	A:M	M:A	M:M
Fase de crescimento	1,6	1,6	1,4	1,4
Fase de lactação	2,1	2,5	1,6	1,6
Idade ao primeiro parto (meses)	24,9a	24,8a	24,5a	25,1a
Primeiro cio observado pós-parto (dias)	77,4a	55,1a	67,5a	56,3a
Período de serviço (dias)	129,5a	142,7a	122,5a	115,5a

⁽¹⁾A ou plano nutricional médio: 840 g por dia; M ou plano nutricional médio: 720 g por dia.

ISO: 1 ano até terceiro mês de gestação; ALO: terceiro mês de gestação até o parto.

Médias na mesma linha, seguidas por letra diferente, diferem entre si ($P < 0,05$).

Fonte: Lacasse e Block (1993).

Os dados do trabalho de Lacasse e Block (1993) ajudam a confirmar a hipótese de que variações do plano nutricional, aplicadas fora do período crítico de desenvolvimento da glândula mamária, produzem pouco ou nenhum efeito sobre o potencial produtivo do animal, ficando os efeitos restritos muitas vezes ao peso que o animal atinge ao primeiro parto. Isso tem levado alguns pesquisadores a conclusões errôneas sobre recomendações de dietas para a recria de novilhas leiteiras.

Efeitos das dietas pré- e pós-experimentais

Outro fator, que é de extrema relevância e que algumas vezes não tem sido levado em consideração, é o estado nutricional anterior e posterior ao período no qual os animais são submetidos às dietas experimentais. O estado nutricional prévio é mais importante naqueles experimentos em que o período crítico é abrangido apenas em parte, como, por exemplo, o de Hoffman et al. (1996), em que os animais tinham 10 meses de idade no início do experimento, ou o de Stelwagen e Grieve (1990), em que tinham de 6 a 16 meses de idade. No trabalho de Peri e Gertler (1993), os animais tinham, no início do experimento, em média 175 dias de idade. Capuco et al. (1995) atribuem a ausência de efeito em seu experimento

ao fato de ter sido iniciado quando os animais estavam com 7,3 meses de idade, o que, segundo ele, é um momento tardio para evidenciar o efeito do crescimento acelerado sobre a produção de leite. Considerando que o período crítico inicia aos 3 meses de idade, o estado nutricional prévio aos trabalhos citados pode ter influenciado os resultados.

Com relação ao estado nutricional pós-experimental, aquele efeito conseguido durante a primeira fase de crescimento alométrico pode se diluir durante a segunda fase (gestação), na qual alguns autores citam efeitos positivos do ganho de peso sobre a saúde geral do animal e, possivelmente, sobre a produção de leite (BORTONE et al., 1994; PARK et al., 1987). Tais efeitos tendem a ocorrer principalmente quando os animais parem pela primeira vez com idade e peso elevados. Os efeitos do peso ao primeiro parto são demonstrados em vários trabalhos: Abeni et al. (2000), Sejrsen et al. (1982) e Van Amburgh et al. (1998b).

Em trabalho no qual foram utilizadas 273 novilhas, Van Amburgh et al. (1998b) concordam com Sejrsen et al. (1982) em que, após a concepção, a produção de leite aumenta linearmente com o peso vivo e o escore de condição corporal. O trabalho de Van Amburgh indica, claramente, os efeitos da nutrição posterior ao período experimental sobre o desempenho dos animais durante a lactação (Tabela 2).

Considerações sobre as taxas de ganho de peso

Vários trabalhos têm sido revisados, nos quais diferentes taxas de ganho de peso têm sido utilizadas, com resultados variáveis. Revisando o assunto, Sejrsen e Purup (1997) citam que um dos motivos para a variabilidade dos resultados encontrados, além da utilização de períodos inapropriados, é a pequena diferença de ganho de peso entre grupos, o que, muitas vezes, associado a um pequeno número de animais utilizados nos experimentos, não permite evidenciar os efeitos negativos das altas taxas de crescimento sobre o desenvolvimento da glândula mamária.

Ganhos diários variando de 0,5 kg por dia a 1,2 kg por dia têm sido apresentados, com resultados que, embora variáveis, indicam que, quando acima de 0,7 kg por dia durante a pré-puberdade, produzem resultados negativos para o potencial de produção de leite (PERI; GERTLER, 1993; PIRLO et al., 1997, 2000; SEJRSEN; PURUP, 1997).

Alguns autores têm proposto taxas de ganho de peso menores durante a pré-puberdade (abaixo de 0,7 kg por dia), uma vez que esse é considerado o período crítico para o

desenvolvimento da glândula mamária, sendo que, após a concepção, poderiam ocorrer ganhos maiores até mesmo que 1,0 kg por dia sem a ocorrência de problemas relacionados ao potencial de produção de leite dos animais. Segundo Pirlo et al. (2000), utilizar um ganho de peso de 0,7 kg por dia dos 3 aos 12 meses, e de 0,9 kg por dia dos 12 meses até o parto, parece ser a alternativa mais econômica sem afetar o desenvolvimento da glândula mamária, quando o objetivo é o primeiro parto antes dos 24 meses de idade. Peri e Gertler (1993) mostram que 0,7 kg por dia seria um ganho de peso ótimo entre os 90 kg e 300 kg de peso vivo (em torno dos 3 a 12 meses de idade). Segundo esses autores, a produção de leite de novilhas recriadas a maiores taxas de ganho nesse período ficaria prejudicada.

Quando são consideradas as diferenças entre taxas de ganho de peso em experimentos, Pirlo et al. (1997) afirmam que, com taxas de ganho de peso em torno de 0,8 kg por dia, diferenças iguais ou menores que 0,2 kg por dia entre tratamentos não são capazes de evidenciar efeitos negativos do crescimento sobre a produção de leite.

A mamogênese em vários planos nutricionais

O desenvolvimento da glândula mamária tem sido avaliado em diferentes planos nutricionais, e diversos métodos de avaliação têm sido utilizados. Entre eles estão avaliações visuais do tamanho da glândula até quantificação do DNA do parênquima mamário, além de medidas do perfil metabólico ligadas ao crescimento, como concentração hormonal e outros medidores do crescimento dos tecidos.

Medidas externas têm sido pouco efetivas, em virtude principalmente do fato de que altos planos nutricionais estão diretamente relacionados com maiores volumes da glândula, pelo maior acúmulo de tecido adiposo. O trabalho de Stelwagen e Grieve (1990) confirma essa pressuposição, no qual foram incluídos abate e análise química dos tecidos da glândula mamária de animais recriados com diferentes taxas de ganho de peso (L = 0,6; M = 0,75; e H = 1,0 kg por dia). Os autores encontraram aumento do tecido adiposo de 57% para 0,75 kg por dia e de 129% para 1,0 kg por dia em relação ao tratamento 0,6 kg por dia (Tabela 7).

Os dados da Tabela 7 evidenciam a influência do elevado plano nutricional sobre os depósitos de gordura na glândula mamária, bem como seu efeito negativo sobre o desenvolvimento do tecido secretor, avaliado pela quantificação do tecido seco sem gordura e DNA, que foram reduzidos em relação ao peso da glândula, com o aumento do ganho de peso. Segundo os autores, bons resultados têm sido obtidos por intermédio da dissecação

de glândulas de animais abatidos, embora o abate seja um método dispendioso de trabalho, principalmente quando envolve um grande número de animais, além de inviabilizar medidas subseqüentes no mesmo animal. Por essa razão, técnicas *in vivo* são desejáveis. Uma alternativa seria a utilização de biópsias ou métodos não invasivos. Sorensen et al. (1987) utilizaram a tomografia computadorizada como meio de avaliação do crescimento dos diferentes tecidos da glândula mamária e concluíram que a tomografia apresentou menor variação do que as medidas tomadas por meio de dissecação, principalmente em razão das dificuldades de separar mecanicamente os tecidos conectivo, adiposo e parenquimal.

Tabela 7. Análise química dos tecidos da meia-glândula mamária do grupo abatido, de novilhas recriadas em diferentes taxas de ganho de peso (L: 0,6 kg por dia; M: 0,75 kg por dia; H: 1,0 kg por dia), de 6 a 16 meses de idade.

Variável	Grupo do abate inicial	Tratamento		
		L (0,6 kg por dia)	M (0,75 kg por dia)	H (1,0 kg por dia)
Número de animais	5	6	6	6
GMD proposto (g por dia)	-	600	750	1.000
GMD atingido (g por dia)	-	611	737	903
Peso inicial (kg)	196,9	199,1	204,0	187,8
Peso final (kg)	-	378,7c	420,6b	447,2a
Peso da meia glândula (g)	630,0	1.106,7c	1.583,7b	2.136,7a
Gordura (g)	351,3	703,2c	1.096,1b	1.552,3a
DFFT (g por 100 g de glândula)	7,7	7,5a	6,6a	5,7a
DNA (mg por 100 g de glândula)	74,8	103,1a	73,5b	56,4c

GMD: Ganho médio diário. DFFT (ou TSLG) = *dry free fat tissue* (tecido seco sem gordura). Médias na mesma linha, seguidas por letras diferentes, diferem entre si ($P < 0,01$).

Fonte: adaptado de Stelwagen e Grieve (1990).

Nível proteico das dietas

Discussões têm sido feitas em torno dos níveis de proteína das dietas, supondo que uma melhora na relação proteína/energia poderia aumentar a velocidade de crescimento da novilha sem ocasionar um grande acúmulo de gordura no úbere (CAPUCO et al., 1995; PIRLO et al., 1997; VANDEHAAR, 1997, 1998). Mäntysaari et al. (1995 citados por SEJRSEN; PURUP,

1997) testaram os efeitos de diferentes níveis e fontes de proteína total e de baixa degradabilidade na dieta de novilhas em crescimento, e concluíram que os efeitos sobre o crescimento de parênquima mamário e a concentração de DNA parenquimal se relacionaram mais com as taxas de ganho de peso do que com a fonte ou o nível proteico utilizados (Tabela 8).

Tabela 8. Efeitos do plano nutricional e da fonte e do nível proteico (ureia ou farelo de canola) sobre o desenvolvimento da glândula mamária no período pré-púbere de novilhas leiteiras.

Variável	Tratamento ⁽¹⁾			
	Baixa proteína/ureia	Baixa proteína/farelo	Alta proteína/ureia	Alta proteína/farelo
Número de novilhas	5	6	6	6
Ganho médio diário (GMD)(g por dia)	692	655	805	890
Peso do parênquima (g)	134	146	107	109
DNA parenquimal (mg)	1.812	1.815	1.039	1.025

⁽¹⁾Alta vs. baixa (P < 0,05); ureia vs. farelo (ns).

Fonte: Mäntysaari (1995 citado por SEJRSEN; PURUP, 1997).

A utilização de elevado nível proteico, independentemente da fonte, ocasionou maior ganho de peso, com redução do parênquima mamário, bem como da concentração de DNA no parênquima.

Em outro trabalho, Pirlo et al. (1997), variando os níveis de energia e proteína em comparação com aqueles recomendados pelo NRC, não encontraram efeito significativo de nível de energia ou de proteína durante a recria sobre a produção de leite em 36 semanas da primeira lactação. Eles trabalharam com níveis de 90% e 110% das recomendações para ganho de peso da ordem de 0,7 kg por dia, com animais de 100 kg a 300 kg de peso vivo (Tabela 9).

Os dados da Tabela 9 mostram que apenas houve efeito do tipo de dieta sobre o ganho de peso, mas sem reflexos na produção de leite. Note-se que os pesos à concepção e, conseqüentemente, ao parto foram bastante altos. Os possíveis efeitos negativos da elevada taxa de crescimento sobre o desempenho na lactação poderiam simplesmente ter se diluído durante o período compreendido entre o final da fase experimental e o primeiro parto.

Tabela 9. Efeito de níveis de proteína e energia na dieta de novilhas pré-púberes (de 100 kg a 300 kg de peso vivo) sobre a produção de leite durante 36 semanas da primeira lactação.

Efeito	Dieta				Efeito		
	BE e BP	BE e AP	AE e BP	AE e AP	E	P	E × P
Número de novilhas	12	14	13	12			
Peso inicial (kg)	89,6	87,1	85,7	86,4	ns	ns	ns
Idade final (dias)	442	419	370	349	<0,001	<0,05	ns
GDM (kg dia ⁻¹)	0,608	0,658	0,794	0,847	<0,001	<0,001	ns
Peso à concepção (kg)	454,3	416,0	476,3	457,4	ns	ns	ns
Peso ao parto (kg)	659,3	629,1	650,8	671,7	ns	ns	ns
Produção de leite (kg por dia)	22,7	22,2	20,2	21,8	ns	ns	ns
Gordura do leite (%)	3,74	3,62	3,82	3,68	ns	ns	ns

BE: 90% das recomendações de energia do NRC; AE: 110% das recomendações de energia do NRC; BP: 90% das recomendações de proteína do NRC; AP: 110% das recomendações de proteína do NRC para ganho de 0,7 kg por dia.

Fonte: adaptado de Pirlo et al. (1997).

Uma publicação de Vandehaar (1998) faz inferências sobre a relação entre proteína bruta (PB) e energia metabolizável (EM) nas dietas utilizadas em alguns trabalhos com novilhas em recria (Figura 3). Ele menciona que dietas com relação de 65 g a 70 g de PB por Mcal EM poderiam ser utilizadas em altos níveis de ganho de peso sem comprometer o desenvolvimento do tecido mamário. Entretanto, o autor aconselha que essa relação seja reduzida 2 meses antes da inseminação, para não prejudicar a fertilidade dos animais. Isso ocorreria, provavelmente, pelo excesso de nitrogênio não metabolizado pelo animal, o que aumentaria a taxa de ureia no sangue.

Quando são analisadas as relações entre proteína e energia das recomendações do NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1989), em comparação com o NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001), vê-se que a publicação mais recente recomenda uma relação maior, mais próxima daquela mencionada por Vandehaar (1998).

Parece lógico inferir que o excesso de energia, a deficiência de proteína metabolizável ou ambos tendem a aumentar a deposição de gordura quando se utilizam altos planos nutricionais, e que, melhorando-se essa relação, poderia ser reduzido o efeito negativo de altas taxas de ganho de peso sobre o desenvolvimento da glândula mamária.

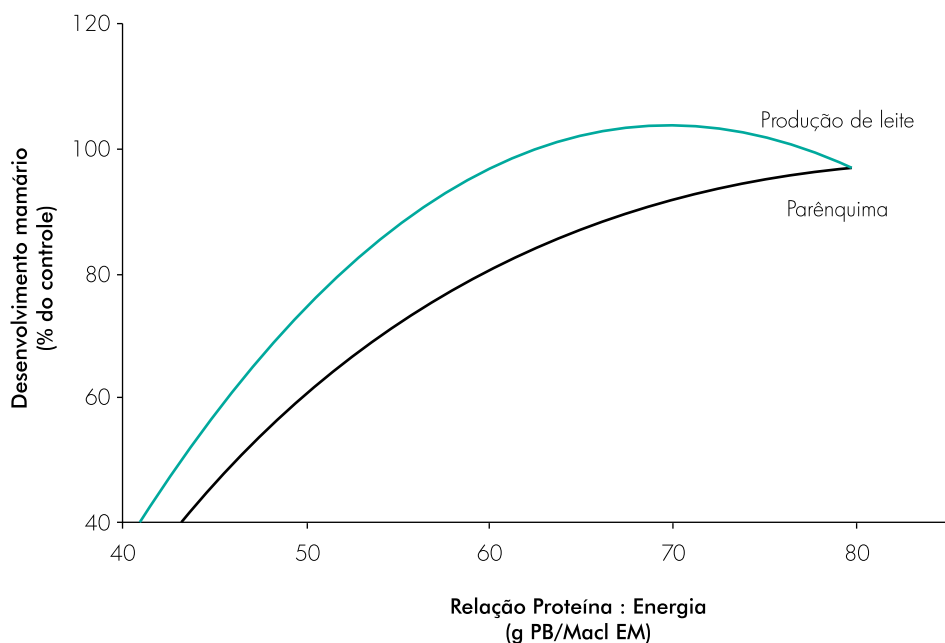


Figura 3. Efeitos da relação entre proteína e energia em dietas para novilhas, durante a recria, sobre o crescimento do tecido do parênquima mamário e sobre a produção de leite.

Fonte: adaptado de Vandehaar (1998).

Um ponto importante, que deve ser avaliado com cuidado no trabalho de Vandehaar (1998), é que ele trabalhou com proteína bruta, o que gera dúvidas sobre como essa proteína poderia ser metabolizada pelo animal. O NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001) informa que há importantes diferenças em metabolizabilidade da proteína por animais em crescimento, à medida que se aproximam da maturidade. A capacidade de aproveitamento da proteína líquida diminui mais rapidamente do que as exigências proteicas. Além disso, não há uma relação constante entre o teor de proteína bruta na dieta e o aporte de proteína metabolizável para o animal.

Hormônio do crescimento e desenvolvimento do tecido mamário

O hormônio do crescimento (GH) é o principal regulador do crescimento, alterando a partição de nutrientes para as diversas funções metabólicas do organismo animal (BAUMAN, 1992; BAUMAN et al., 1999; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1994, 2001; PEEL; BAUMAN, 1987). O GH também tem sido citado como um fator que influencia o desenvolvimento

do tecido mamário. Segundo Cowie et al. (1966) e Lyons et al. (1958), citados por Sejrsen e Purup (1997), o GH é determinante para o crescimento normal dos ductos mamários. Weber et al. (1999) citam que a somatotropina exógena estimula o desenvolvimento mamário em novilhas leiteiras. Outros resultados, como os de Sejrsen et al. (1983), apontam redução dos níveis circulantes de GH em novilhas recriadas em altos planos nutricionais.

O mecanismo de ação do GH sobre o crescimento do tecido mamário, entretanto, não é claro, uma vez que o GH não tem, consistentemente, estimulado o crescimento de tecido parenquimal da glândula mamária *in vitro*, e sua ação poderia ser indireta, via IGF-I, para o qual sítios de ligação estão presentes no tecido mamário (SEJRSEN; PURUP, 1997). Weber et al. (1999) citam que há síntese de IGF-I nos tecidos da glândula mamária, e que tanto o IGF-I local quanto o sistêmico influenciam a proliferação das células do tecido mamário. Uma revisão de Peel e Bauman (1987) relata que a somatotropina provoca aumento da produção hepática de somatomedinas.

Sejrsen e Purup (1997) afirmam não serem conclusivas as respostas sobre GH ou IGF aumentarem a síntese de tecido parenquimal na glândula mamária, pois encontraram efeito estimulatório do GH aplicado diretamente na glândula mamária em bovinos gestantes; ademais, outros trabalhos, com camundongos, indicam a existência de receptores para GH na glândula mamária. Em suas conclusões, Weber et al. (1999) relatam que o IGF-I pode ser responsável por uma considerável porção da atividade mitogênica em extratos de glândula mamária. Há ainda a possibilidade de os sítios receptores de prolactina na glândula mamária do animal jovem funcionarem como receptores de GH.

Em outro trabalho, Capuco et al. (1995), medindo a concentração plasmática de GH e IGF-I de animais submetidos a dois planos nutricionais durante a recria, encontraram que o grupo submetido a alto plano nutricional apresentou menores concentrações de GH circulante ($P < 0,01$) do que o grupo de baixo plano nutricional ($10,5 \text{ ng mL}^{-1}$ vs. $8,6 \text{ ng mL}^{-1}$), embora o plano nutricional tenha influenciado as concentrações plasmáticas de IGF-I apenas na dieta baseada em silagem de milho ($P \leq 0,05$), mas não no grupo alimentado com silagem de alfafa ($P > 0,8$).

Segundo o National Research Council (1994), reunindo dados de 21 experimentos com animais em crescimento, doses moderadas de somatotropina bovina (bST) produzem um incremento do ganho de peso da ordem de 10% a 15% e melhoria da eficiência alimentar de 9% a 20%. O aumento de deposição de proteína (músculos) na carcaça tem sido de 5% a 10%, e a redução na deposição de gordura tem sido de 10% a 15%. Quando a relação dose-resposta foi testada, utilizando níveis de bST de 0, $6,7 \mu\text{g kg}^{-1}$, $33 \mu\text{g kg}^{-1}$, $67 \mu\text{g kg}^{-1}$,

100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de PV por dia, uma resposta curvilínea sugeriu que os melhores resultados estariam de 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ a 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de PV por dia.

Radcliff et al. (1997), utilizando doses diárias de 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de PV para novilhas recriadas a duas taxas de ganho de peso (0,8 kg e 1,2 kg por dia) de 126 kg a 363 kg de PV, concluíram que doses moderadas de somatotropina bovina (bST) melhoraram o ganho de peso sem afetar o escore de condição corporal, além de terem aumentado o crescimento do tecido mamário.

Considerações finais

Muitos trabalhos têm sido apresentados com razoável variabilidade de resultados, mas com uma clara tendência de efeito positivo quando se considera o período crítico do desenvolvimento da glândula mamária durante o crescimento da novilha.

A busca do primeiro parto precoce ocorre, claramente, no sentido de melhorar o resultado econômico dos sistemas. Os resultados poderão ser bastante satisfatórios desde que as estratégias para o estabelecimento das taxas de ganho de peso levem em consideração aquele período no qual a literatura tem evidenciado os efeitos negativos da elevada taxa de crescimento.

Estratégias específicas a cada sistema de produção poderão ser estabelecidas, que avaliem a relação entre o preço dos insumos e o do leite, e, tendo isso em conta, a idade ótima ao primeiro parto poderá variar quando o objetivo for otimizar o resultado econômico.

As taxas de ganho de peso poderão ser estabelecidas para 0,7 kg e 0,5 kg por dia durante a pré-puberdade, para as raças Holandesa e Jersey, respectivamente, visando evitar restrições ao desenvolvimento do tecido secretor da glândula mamária. Após a puberdade, o ganho de peso pode ser adequado conforme o peso-alvo para o primeiro parto, já que não há informações sobre efeitos negativos de altos ganhos de peso sobre o desenvolvimento mamário após a puberdade, além do que há muitos trabalhos que têm associado o ganho de peso durante a gestação e o peso ao parto com melhor desempenho durante a lactação.

Fontes e níveis proteicos diferentes daqueles das recomendações clássicas (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001) ainda não têm demonstrado resultados consistentes. Para tanto, é necessário um maior número de trabalhos que estudem a fase crítica do desenvolvimento mamário.

A somatotropina bovina pode ser uma alternativa para a obtenção de maiores ganhos em tecido magro, no lugar do adiposo. Entretanto, para tanto, são requeridas mais pesquisas, principalmente sobre a forma como a somatotropina atua na glândula mamária

durante o crescimento, além dos fatores de crescimento relacionados a ela e possíveis modificações hormonais posteriores que possam vir a ocorrer nos animais.

Referências

- ABENI, F.; CALAMARI, L.; STEFANINI, L.; PIRLO, G. Effects of daily gain in pre- and postpubertal replacement dairy heifers on body conditions score, body size, metabolic profile and future milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1468-1478, 2000.
- ASSIS-BRASIL, N. D.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; HINNAH, F. L.; LADEIRA, S. R. L.; SALLIS, E. S. V.; GRECCO, F. B.; SCHILD, A. L. Enfermidades diagnosticadas em bezerros na região sul do RS. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 4, p. 423-430, 2013.
- BARRINGTON, G. M.; GAY, J. M.; EVERMANN, J. F. Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. **Veterinary Clinics of North American: Food Practice**, v. 18, n. 1, p. 7-34, 2002.
- BAUMAN, D. E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 3432-3451, 1992.
- BAUMAN, D. E.; EVERETT, R. W.; WEILAND, W. H.; COLLIER, R. J. Production responses to bovine somatotropin in Northeast dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2564-2573, 1999.
- BENESI, F. J. Síndrome diarreia dos bezerros. **Revta CRMV-ES**, v. 2, n. 3, p. 10-13, 1999.
- BORTONE, E. J.; MORRILL, J. L.; STEVENSON, J. S. Growth of heifers fed 100 or 115% of National Research Council requirements to 1 year of age and then changed to another treatment. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 270-277, 1994.
- BOTTEON, R. C. C. M.; BOTTEON, P. T. L.; SANTOS JÚNIOR, J. C. B.; PINNA, M. H.; LÓSS, Z. G. Frequência de diarreia em bezerros mestiços sob diferentes condições de manejo na região do médio Paraíba-Rio de Janeiro e Minas Gerais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 2, p. 153-160, 2008.
- CAPUCO, A. V.; SMITH, J. J.; WALDO, D. R.; REXROAD JUNIOR, C. E. Influence of prepubertal dietary regimen on mammary growth of Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 2709-2725, 1995.
- CHARLES, S. L.; VONNAHME, K. A.; YELICH, J. V.; DOLEZAL, H. G.; WETTEMANN, R. P. Effect of growth rate on mammary gland development at puberty in beef heifers. **Animal Science Research Report**, p. 293-295, 1999. Disponível em: <<http://www.ansi.okstate.edu/RESEARCH/1999rr/49.htm>>. Acesso em: 15 jul. 2001.
- HALL, G. A.; JONES, P. W.; MORGAN, J. H. Calf Diarrhea. In: ANDREWS, H. A.; BOYD, H.; BLOWEY, R. W. **Bovine medicine diseases and husbandry of cattle**. Oxford: Blackwell, 1992. p. 154-180.
- HOFFMAN, P. C. Optimum body size of Holstein replacement heifers. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 836-845, 1997.
- HOFFMAN, P. C.; BREHM, N. M.; PRICE, S. G.; PRILL-ADAMS, A. Effect of accelerated postpubertal growth and early calving on lactation performance of primiparous Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, Stanford, v. 79, p. 2024-2031, 1996.
- LACASSE, P.; BLOCK, E. Effect of plane of nutrition of dairy heifers before and during gestation on milk production, reproduction and health. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3420-3427, 1993.
- MILLEMANN, Y. Diagnosis of neonatal calf diarrhea. **Revue de Medecine Veterinaire**, v. 160, n. 8, p. 404-409, 2009.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Metabolic modifiers**: effects on the nutrient requirement of food-producing animals. Washington, DF: National Academy Press, 1994. 96 p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th revised ed. Washington, DC: National Academy Press, 2001. 478 p.

- OLIVEIRA, D. M. de; SANTOS, A. C. dos; OLIVEIRA, F. D. de; BERTASSOLI, B. M.; ARROYO, M. A. M.; ASSIS NETO, A. C. de; CAVALCANTI, J. N. Principais causas de mortalidade em bezerras da raça holandesa na região Bragantina. **Biotemas**, v. 25, n. 2, p. 171-179, 2012.
- PARK, C. S.; ERICKSON, G. M.; CHOI, Y. J.; MARX, G. D. Effect of compensatory growth on regulation of growth and lactation: response of dairy heifers to a stair-step growth pattern. **Journal of Animal Science**, v. 64, p. 1751-1758, 1987.
- PEEL, C. J.; BAUMAN, D. E. Somatotropin and lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 474-486, 1987.
- PERI, I.; GERTLER, A. The effect of manipulation in energy allowance during the rearing period of heifers on hormone concentrations and milk production in first lactation cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 742-751, 1993.
- PIRLO, G.; CAPELLETTI, M.; MARCHETTO, G. Effects of energy and protein allowances in the diets of prepubertal heifers on growth and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 730-739, 1997.
- PIRLO, G.; MIGLIOR, F.; SPERONI, M. Effect of age at first calving on production traits and on difference between milk yield returns and rearing costs in Italian Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 603-608, 2000.
- RADCLIFF, R. P.; VANDEHAAR, M. J.; SKIDMORE, A. L.; CHAPIN, L. T.; RADKE, B. R.; LLOYD, J. W.; STANISIEWSKI, E. P.; TUCKER, H. A. Effects of diet and bovine somatotropin on heifer growth and mammary development. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1996-2003, 1997.
- SEJRSEN, K.; HUBER, J. T.; TUCKER, H. A.; AKERS, R. M. Influence of nutrition on mammary development in pre- and postpubertal heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 793-800, 1982.
- SEJRSEN, K.; PURUP, S. Influence of prepubertal feeding level on milk potential of dairy heifers: a review. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 828-835, 1997.
- SERJSEN, K.; HUBER, J. T.; TUCKER, H. A. Influence of amount fed on hormone concentration and their relationship to mammary growth in heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 66, p. 845-855, 1983.
- SOCHA, M. T.; JOHNSON, A. B. Dietary recommendations for replacement heifers. **Krafftutter**, v. 4, p. 156-160, 2000.
- SORENSEN, M. T.; SEJRSEN, K.; FOLDAGER, J. Estimation of pubertal mammary development in heifers by Computed Tomography. **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 265-270, 1987.
- STELWAGEN, K.; GRIEVE, D. G. Effect of plane of nutrition on growth and mammary gland development in Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 2333-2341, 1990.
- TUCKER, H. A. Quantitative estimates of mammary growth during various physiological states: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 1958-1966, 1987.
- VAN AMBURGH, M. E.; FOX, D. G.; GALTON, D. M.; BAUMAN, D. E.; CHASE, L. E. Evaluation of National Research Council and Cornell Net Carbohydrate and Protein Systems for predicting requirement of Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 509-526, 1998a.
- VAN AMBURGH, M. E.; GALTON, D. M.; BAUMAN, D. E.; EVERETT, R. W.; FOX, D. G.; CHASE, L. E.; ERB, H. N. Effects of three prepubertal body growth rates on performance of Holstein heifers during first lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 527-538, 1998b.
- VANDEHAAR, M. J. Current concepts in feeding dairy replacements. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 9., 1998, Gainesville. **Proceedings**... Gainesville: IFAS, 1998. p. 189.
- VANDEHAAR, M. J. Dietary protein and mammary development of heifers: analysis from literature data. **Journal of Dairy Science**, v. 80, Suppl. 1, p. 216, 1997.
- WEBER, M. S.; PURUP, S.; VESTERGAARD, M.; ELLIS, S. E.; SCNDERGARD-ANDERSEN, J.; AKERS, R. M.; SEJRSEN, K. Contribution of Insuline-like growth factor (IGF-I) and IGF-binding protein-3 to mitogenic activity in bovine mammary extracts and serum. **Journal of Endocrinology**, v. 161, p. 365-373, 1999.

BEM-ESTAR EM BOVINOS LEITEIROS

Isabella Dias Barbosa Silveira
Leandro De Conto
Sheilla Madruga Moreira

Introdução

A produção de leite no Brasil vem apresentando um crescimento anual significativo desde os anos 1990. Atualmente, ostentando o terceiro maior rebanho leiteiro do mundo, o País é o sexto maior produtor mundial de leite e o primeiro da América Latina, com uma produção acima de 30,7 bilhões de litros por ano (EMBRAPA, 2010). O Rio Grande do Sul é o segundo estado brasileiro em produção de leite, sendo 85% do leite produzido em propriedades com até 50 ha, caracterizadas como agricultura familiar (IBGE, 2011). Os dados são animadores, porquanto consolidam o Brasil como um dos grandes produtores de leite; porém, o setor lácteo preocupa-se com um provável excesso do produto no mercado interno, em futuro próximo, o que trará sérias repercussões negativas ao setor, caso não haja aumento da demanda interna e/ou das exportações de leite e derivados.

Nos últimos anos, vem crescendo significativamente uma tendência mundial, originada de pressão do mercado consumidor, de formulação de padrões de bem-estar para a criação de animais zootécnicos. Essa preocupação ficou evidenciada na *II Conferência da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE)*, realizada em outubro de 2008, que tratou do tema “bem-estar animal”. Na ocasião, foi explicitada a necessidade de se estabelecerem critérios para a produção animal, a serem seguidos pelos países signatários. Várias pesquisas mostram soluções para os sistemas criatórios; entretanto, a maioria delas é desenvolvida na Europa, onde as condições de produção de animais são diferentes daquelas apresentadas no Brasil, o que pode induzir o estabelecimento de padrões de bem-estar não condizentes com as características da produção brasileira.

No Brasil, o interesse pelo bem-estar animal decorre não só do fato de o País ter o máximo interesse em manter sua posição de destaque internacional em volume de produção e

exportação, mas também por possuir um clima favorável e espaço territorial suficiente para o estabelecimento de sistemas produtivos menos confinados. Faltam, porém, estudos específicos sobre questões atinentes à produção em pasto, a exemplo da exposição a endo e a ectoparasitas, do acesso a sombra e a água, e do manejo apropriado do pasto (FRASER, 2008).

Certos aspectos do manejo de bovinos leiteiros alteraram-se consideravelmente nos últimos 50 anos, tornando obrigatório o aprimoramento simultâneo dos conhecimentos de fisiologia e comportamento animal. Muitos estudiosos da produção animal passaram, então, a reconhecer os efeitos das condições e dos procedimentos nos ambientes de produção, tanto em termos de eficiência quanto em relação ao bem-estar dos animais.

No ambiente científico, a definição mais aceita sobre bem-estar animal foi cunhada por Broom (1986). Segundo o autor, “bem-estar” pode ser definido como o “estado de um indivíduo em relação às suas tentativas de se adaptar ao seu ambiente” (BROOM, 1986, p. 524, tradução nossa). Os recursos que o animal dispõe para enfrentar as inadequações do seu meio ambiente são as alterações no seu caráter fisiológico ou no comportamental. Sabe-se que os bovinos têm mecanismos cerebrais complexos que regulam seus processos comportamentais, uma estrutura social elaborada e capacidade sofisticada de aprendizagem (HAGEN; BROOM, 2003, 2004).

Dessa forma, a promoção do bem-estar aos animais é uma temática ética, moral e biológica sobre as condições de criação, que vai direcionar as práticas de manejo de forma a permitir que os animais tenham condições de escolha da ingesta, livre locomoção e possibilidade de interação social entre si, sem que isso interfira na eficiência da atividade leiteira, no que tange aos aspectos socioeconômicos (AIRES, 2008).

Assim, observar como os animais respondem às condições do ambiente em que vivem e avaliar se esse ambiente atende às condições de conforto e bem-estar requeridas pelos animais, além de identificar os fatores que influenciam a vida produtiva do animal, permite fazer ajustes nas práticas de manejo dos sistemas de produção que os ajudem a superar os obstáculos presentes nesse ambiente, conferindo-lhe, ao mesmo tempo, sustentabilidade e viabilidade econômica (NEIVA et al., 2004).

Este capítulo aborda os principais fatores que dificultam a manutenção dos níveis aceitáveis de conforto e bem-estar entre bovinos de leite, bem como as tecnologias indicadas para solucionar e/ou amenizar o problema.

Bem-estar e estresse

Avaliar o bem-estar de um indivíduo é entender seu estado em relação às suas tentativas de adaptar-se ao ambiente (BROOM, 1986). O conceito refere-se ao estado de um indivíduo em uma escala que varia de muito bom a muito ruim. Além das mensurações diretas do estado do animal, devem ser feitas tentativas de medição dos sentimentos inerentes ao estado psíquico do indivíduo (BROOM; MOLENTO, 2004).

A maioria dos indicadores de bem-estar permite localizar o estado do animal dentro da escala de muito bom a muito ruim. Algumas medidas são mais consistentes com problemas de curto prazo, tais como aquelas associadas a manejo ou a um breve período de condições físicas adversas; já outras são mais apropriadas a problemas de longo prazo (BROOM; ZANELLA, 2004).

Broom e Johnson (1993) arrolam os seguintes parâmetros para a mensuração do bem-estar animal:

- Demonstração de uma variedade de comportamentos normais.
- Grau em que comportamentos fortemente preferidos podem ser apresentados.
- Indicadores fisiológicos de prazer.
- Indicadores comportamentais de prazer.
- Expectativa de vida reduzida.
- Crescimento ou reprodução reduzidos.
- Danos corporais.
- Doença.
- Imunossupressão.
- Tentativas fisiológicas de adaptação.
- Tentativas comportamentais de adaptação.
- Doenças comportamentais.
- Autonarcotização.
- Grau de aversão comportamental.
- Grau de supressão de comportamento normal.

- Grau de prevenção de processos fisiológicos normais e de desenvolvimento anatômico.

Alguns sinais de bem-estar precário são expressos por mensurações fisiológicas, por exemplo, o aumento da frequência cardíaca, ou uma resposta imunológica reduzida após um desafio pode indicar que o bem-estar está reduzido, porém, isso deve ser interpretado com cuidado, pois o impedimento da função do sistema imune, assim como outras alterações fisiológicas, pode indicar estado pré-patológico (MOBERG, 1985).

Mensurações do comportamento têm, igualmente, grande valor na avaliação do bem-estar. Quanto mais forte for a reação de esquiva à presença de um objeto ou a um evento, por parte do animal, mais pobre será o bem-estar durante a presença do objeto ou do fato. Se, porém, um animal ficar impedido de realizar uma ação preferida – de repouso, por exemplo –, esse será considerado como um bem-estar menor do que outro não impedido dessa ação (BROOM; MOLENTO, 2004). Comportamentos anormais – tais como este-reotipias, automutilação ou comportamento excessivamente agressivo – indicam que o indivíduo em questão encontra-se em condições de baixo grau de bem-estar. Na Tabela 1, encontra-se um resumo da avaliação de bem-estar animal.

Doença, ferimento, dificuldades de movimento e anormalidades de crescimento, são, todos eles, indicativos de baixo grau de bem-estar. Em um experimento, comparando-se dois sistemas de criação, se a incidência de qualquer um dos itens mencionados for significativamente maior em um deles, o bem-estar dos animais será pior nesse sistema. O bem-estar de um animal doente é sempre mais pobre do que o bem-estar de um animal

Tabela 1. Resumo da avaliação do bem-estar animal.

Métodos gerais	Avaliação
Indicadores diretos de bem-estar pobre	Grau de pobreza
Teste de esquiva	Grau em que os animais têm de conviver com situações ou estímulos dos quais preferem esquivar-se
Teste de preferência	Grau em que se encontra disponível aquilo que é intensamente preferido
Medida da possibilidade de expressão de comportamento normal e de outras funções biológicas	Grau de privação de desenvolvimento comportamental, fisiológico e anatômico normal

Fonte: adaptado de Broom e Johnson (1993).

que não está doente; porém, há carência de estudos sobre a magnitude dos efeitos de doença sobre o bem-estar animal (NORGAARD-NIELSEN, 1990).

Existem diversas abordagens para avaliar o bem-estar animal, sendo a ausência de estresse um dos principais indicadores. Estresse é um sintoma consequente da exposição do indivíduo a um ambiente hostil, que provoca sobrecarga no seu sistema de controle (a própria homeostase) e causa aumento de mortalidade, como também insucesso na produção e na reprodução. Os agentes estressores podem ser de natureza mecânica (traumatismo), física (calor ou frio), química (drogas) e biológica (parasitas, fatores nutricionais, agentes infecciosos) (FERRO et al., 2010).

As medidas fisiológicas associadas ao estresse são baseadas no fato de que, se o estresse aumenta, o bem-estar diminui. Já os indicadores comportamentais estão relacionados especialmente à ocorrência de comportamentos anormais e de comportamentos provocados pelo afastamento do ambiente natural (FRASER et al., 1975).

Animais submetidos a uma situação de manejo aversivo ou a mudanças de ambiente, bem como animais expostos a mudanças ocorridas no seu ambiente, recorrem a mecanismos de adaptação fisiológica a fim de manterem a homeostase (equilíbrio fisiológico), caracterizando, assim, uma situação de estresse.

Estresse pode ser definido como um estímulo ambiental sobre um indivíduo que sobrecarrega seus sistemas de controle e reduz sua adaptação, ou parece ter potencial para tanto. Por essa definição fica bem clara a relação entre estresse e bem-estar (BROOM, 1993). Em primeiro lugar, considerando-se que bem-estar se refere a uma gama de estados de um determinado animal, desde muito bom até muito ruim, sempre que existe estresse, o bem-estar torna-se pobre. Em segundo lugar, estresse refere-se somente a situações em que existe falência de adaptação. Bem-estar pobre, por sua vez, refere-se ao estado de um animal, seja em condições em que existe falência de adaptação, seja em condições em que o indivíduo tem dificuldade de se adaptar (BROOM, 2001).

O modelo de estresse animal desenvolvido por Moberg (2000) sugere uma resposta biológica à ação, que comporta três estágios: 1) reconhecimento de um estímulo estressante; 2) defesa biológica contra o estímulo estressante; e 3) consequências da resposta ao estresse.

O efeito do estresse começa com a percepção, pelo sistema nervoso central, de uma ameaça potencial (estímulo estressante) à homeostase. Diante de um ou mais estímulos estressores, os animais respondem de maneira diferente, como: a) mobilização ou alerta; b) resistência ou adaptação; e c) exaustão. Percebida a ameaça, o organismo desenvolve resposta biológica

ou de defesa, consistindo em uma combinação de quatro respostas: de comportamento, do sistema nervoso autônomo, do sistema neuroendócrino e do sistema imunológico.

O conjunto das defesas do organismo causa mudanças biológicas significantes no animal para aliviar a ameaça percebida (MOBERG, 2000). De acordo com esse mesmo autor, a primeira delas é comportamental, segundo a qual, diante de um agente estressor, o animal evita a ameaça pela remoção do estímulo estressante; porém, essas atitudes comportamentais podem ser limitadas pela dificuldade de livrar-se do agente estressor – por exemplo, quando os animais vivem em confinamento.

O ambiente é composto de estressores que interagem e inclui as combinações nas quais o organismo vive. De acordo com o agente estressor, o estresse pode ser:

- Social: desorganização hierárquica por reagrupamentos, separação precoce da mãe e superpopulação.
- Manejo: transporte, alojamento e vacinação.
- Ambiental: nutrição inadequada, agentes patogênicos, má qualidade do ar e do clima.

Sem sombra de dúvidas, para a bovinocultura leiteira do Rio Grande do Sul, o agente estressor que altera significativamente o bem-estar dos animais é o estresse decorrente do clima, mais precisamente da temperatura. Isso se dá pelo fato de o sistema de produção característico do estado ser à base de pastagens, o que mantém os animais à mercê das oscilações de temperatura por longos períodos do dia.

O estresse climático pode afetar o crescimento, a produção e a reprodução dos animais. Esse estresse pode ser causado pelo frio ou pelo calor, e recebe o nome de estresse térmico.

Estresse térmico

Homeotermia e termorregulação

Os ruminantes são animais homeotermos, isto é, possuem funções fisiológicas capazes de manter a temperatura corporal em constância, independentemente da variação da temperatura ambiente (em limites apreciáveis) (MARTELLO et al., 2004).

A homeotermia aparece como prioridade no metabolismo do animal em comparação com outras funções produtivas, como, por exemplo, a lactação (BACCARI JUNIOR, 2001). Em bovinos, os limites ideais de temperatura corporal para a produtividade e a sobrevivência devem ser mantidos entre 38 °C e 39 °C (RODRIGUES et al., 2010).

Para a manutenção da temperatura corporal, o animal mantém o equilíbrio do calor produzido pelo organismo e o ganho do ambiente com o calor perdido para o mesmo ambiente. Para dissipar ou reter calor, o animal utiliza-se de mecanismos fisiológicos e comportamentais, que contribuem para a manutenção da homeotermia, entre os quais podem ser citados: aumento de taxa respiratória, aumento dos batimentos cardíacos, sudorese, aumento da ingestão de água, diminuição da ingestão de alimentos, procura por lâminas de água, por sombra, etc. (RODRIGUES et al., 2010).

Como fenômenos físicos, as trocas de calor ocorrem por condução, convecção e/ou radiação, quando há gradiente (ou diferença) de temperatura entre o animal e o ambiente (fluxo de calor sensível); ou por evaporação, quando há gradiente de pressão de vapor de água (fluxo de calor latente) (PEREIRA, 2005).

As principais vias indicadas para que o animal perca calor corporal são descritas a seguir:

- **Condução:** ocorre pela transferência de calor pelo contato direto, através de superfícies, de substâncias sólidas e/ou líquidas, entre regiões com temperaturas diferentes. Pode ocorrer entre tecidos ou entre o corpo e um objeto externo, como o chão ou a água. A condução do calor pode ser reduzida pelo isolamento ocasionado por camadas de gordura do corpo e pela camada de ar contida na pelagem da superfície corporal.
- **Convecção:** a perda de calor ocorre como resultado da circulação do sangue aquecido vindo do interior do corpo para os tecidos mais frios da superfície, potencializada, principalmente, pela passagem de ar frio através da pelagem do animal.
- **Radiação:** é a forma de troca de calor que ocorre no vácuo. Dessa maneira, os animais ganham e perdem calor por radiação, dependendo da diferença de temperatura existente entre o animal e todo o ambiente que o envolve.
- **Evaporação:** a evaporação de água de áreas úmidas da superfície corporal do animal propicia perda de calor.

- **Ofego:** a perda de calor ocorre quando, ao respirar, o animal expira o ar mais aquecido do que quando foi inspirado. Por perderem muita água através da respiração, os animais tendem a usar esse recurso somente em situações emergenciais, apesar de os bovinos recorrerem a ele com frequência.

Além do calor da radiação solar, do meio ambiente e da atividade muscular, o calor total do organismo compõe-se ainda de uma parcela proveniente da fermentação ruminal, graças ao calor produzido pelo metabolismo dos alimentos (Tabela 2).

Tabela 2. Quantidade de calor produzida pelos principais tipos de alimentos.

Alimentos	Produção de calor (Kcal g ⁻¹)		
	Por grama de alimento	Por litro de O ₂ consumido	Por litro de CO ₂ produzido
Carboidratos	4,1	5,05	5,05
Lipídeos	9,6	4,75	6,67
Proteínas	4,2	4,46	5,57

Fonte: adaptado de Cunningham (2008).

O metabolismo basal é a quantidade de energia metabólica sob o mínimo estresse, enquanto o animal está em jejum. O metabolismo basal é mais elevado em bovinos (homeotermos) porque precisam gerar calor para manter a temperatura corporal. O grau de troca de calor do animal com o meio em que vive depende, em parte, da extensão da superfície do corpo, resultante da taxa metabólica do animal, e é expressa em Kcal m⁻² de superfície corporal por hora. Quanto maior for a superfície, maior será a troca de calor (MCDOWELL et al., 1954).

Assim, a relação massa:superfície tem grande importância no que respeita à perda de calor. Quanto maior a massa corporal, menor será a superfície de contato proporcionalmente. Quanto menor for o animal, maior será a área de exposição para a perda de calor, em relação ao núcleo central que possui maior calor em virtude do metabolismo. Assim sendo, animais maiores têm mais dificuldade em perder calor do que os menores (MÜLLER, 1989).

Reações fisiológicas

A capacidade de o animal resistir às condições de estresse calórico tem sido avaliada fisiologicamente por alterações na temperatura retal e na frequência respiratória (PEREIRA, 2005). A Tabela 3 mostra a relação entre essas variáveis fisiológicas e níveis de estresse.

Tabela 3. Relação entre alterações da temperatura retal (TR), frequência respiratória (FR) e níveis de estresse.

Frequência respiratória (movimentos por minuto)	Temperatura retal	Nível de estresse
23	38,3 °C	Não há estresse
45 a 65	38,4 °C a 38,6 °C	O estresse está sob controle: o apetite, a reprodução e a produção estão normais
70 a 75	39,1 °C	Início do estresse térmico: menor apetite, mas a reprodução e a produção estão estáveis
90	40,1 °C	Estresse acentuado: cai o apetite, a produção diminui, os sintomas de cio quase desaparecem – ocorre repetição de cios
100 a 120	40,9 °C	Estresse sério: grandes perdas na produção, a ingestão de alimentos diminui 50% e a fertilidade pode cair para 12%
> 120	> 41 °C	Estresse mortal: as vacas expõem a língua e babam muito, não conseguem beber água, nem se alimentam

Fonte: adaptado de Pires (2006).

A temperatura retal é um bom indicador da temperatura corporal e, além disso, deve-se considerar a praticidade de se proceder à aferição. Embora não represente uma média da temperatura corporal profunda (TCP), o equilíbrio na temperatura retal (TR) ocorre mais lentamente do que em outros pontos internos, tornando-se um índice de equilíbrio dinâmico verdadeiro. Para Hickman Junior et al. (2004), a temperatura retal permite avaliar se, em condições de estresse térmico, esses animais estão conseguindo manter sua temperatura dentro dos limites normais.

Para bovinos, a temperatura retal normal está em torno de 38,3 °C para a maioria das raças, havendo variações de acordo com a idade, o sexo, o nível nutricional, a lactação e o estágio reprodutivo (MARTELLO et al., 2004). Kolb (1987b) chegou ao valor de 38,5 °C \pm 1,5 °C da temperatura retal média em bovinos ao ano. Stober (1993) concluiu que a temperatura retal normal da vaca leiteira, em termoneutralidade e em repouso, varia, geralmente, entre 38,0 °C e 39,5 °C. Já para Silva (2000), a faixa de temperatura retal considerada normal é de 37,5 °C a 39,3 °C para bovinos.

Mota (1997) afirma ser possível, por meio da medida da temperatura retal, determinar o equilíbrio entre o ganho e a perda de calor do corpo, sendo a medida da temperatura retal

usada frequentemente como índice de adaptabilidade fisiológica aos ambientes quentes, pois seu aumento mostra que os mecanismos de liberação de calor se tornaram insuficientes para manter a homeotermia. As alterações nas frequências cardíaca e respiratória permitem saber quais raças toleram melhor o calor de uma determinada região.

O aumento da frequência respiratória (FR) por um certo período de tempo é um método eficiente de perda de calor, por auxiliar os animais a dissipar o calor endógeno; entretanto, se esse mecanismo passa a ser exigido por um período prolongado, pode interferir na ingestão de alimentos e na ruminação, pode proporcionar aumento do calor endógeno em decorrência da atividade muscular (ofegar) e também pode desviar a energia de outros processos metabólicos (ROBERTSHAW, 2006).

A oscilação da frequência respiratória depende da intensidade e da duração do estresse aos quais os animais são submetidos. Segundo Matarazzo (2004), o aumento da frequência respiratória por longos períodos pode causar prejuízos ao organismo animal, tais como: a) redução no consumo de forragens; b) produção de calor endógeno adicional em decorrência do exercício da ofegação; c) desvio de energia para outros processos metabólicos; e d) redução de CO₂ (acarretando alcalose respiratória pelos baixos níveis de ácido carbônico no sangue).

Com isso, há, então, a elevação do pH do plasma, o que ocasiona alcalose respiratória. Paralelamente, em virtude do menor consumo alimentar, da menor motilidade estomacal e da predileção por alimentos concentrados (menor calor de fermentação no rúmen), há redução do pH ruminal que, eventualmente, pode levar a uma maior produção de ácido láctico. O excesso de ácido láctico poderia ser absorvido, determinando uma redução do pH sanguíneo e levando a uma acidose metabólica. Observou-se, portanto, que o animal, durante o estresse térmico, permanece em constante desequilíbrio fisiológico, que pode também ser responsável por problemas de saúde relacionados a uma baixa resistência imunológica (MACHADO, 1998).

Paralelamente, há aumento do fluxo sanguíneo periférico, para reduzir a temperatura corporal, ocasionando redução na absorção de nutrientes e na disponibilidade desses para a glândula mamária (MCGUIRE, 1989). Além disso, nos períodos mais quentes do ano, as vacas Holandesas utilizam alguns mecanismos – como redução do tempo de alimentação e ruminação, e aumento do tempo de ócio –, provavelmente para diminuir a produção de calor metabólico excedente. O aumento do tempo de permanência em pé pode auxiliar na dissipação do calor, como tentativa dos animais em manter a homeotermia (PIRES et al., 2002).

A frequência respiratória (FR) em ambientes termoneutros corresponde a 24 a 36 movimentos por minuto (PIRES et al., 2003; PIRES; CAMPOS, 2004). Feitosa (2005) observou um valor médio de 23 movimentos por minuto, e afirmou que, a cada acréscimo de 10 °C à temperatura do ar, tal valor duplica. Embora o primeiro sinal visível de animais submetidos a estresse térmico seja o aumento da frequência respiratória, essa pode não indicar estresse calórico, visto que um animal eficiente em dissipar calor pode apresentar FR alta, mas não estar em estado de estresse calórico, por não ser a FR totalmente um índice de estoque calórico (PIRES et al., 2003).

A taxa de respiração pode quantificar a severidade do estresse causado pelo calor, em que uma frequência de 40 a 60 movimentos por minuto, de 60 a 80 movimentos por minuto e de 80 a 120 movimentos por minuto caracterizam um estresse baixo, médio-alto e alto para os ruminantes, respectivamente. Acima de 150 movimentos por minuto para bovinos, o estresse é classificado como severo (SILANIKOVE, 2000).

Em condições de termoneutralidade, a frequência respiratória normal da vaca em lactação varia de 18 a 28 movimentos por minuto e começa a elevar-se significativamente a partir da temperatura crítica maior que 26 °C (ANDERSON, 1988). Em condições subtropicais, Berman et al. (1985) encontraram frequências respiratórias de 50 a 60 movimentos por minuto, em temperatura ambiente de 25 °C.

A frequência cardíaca é influenciada pela espécie, pela raça, pela idade, pelo trabalho muscular e pela temperatura ambiente (KOLB, 1987a). A ingestão de grande quantidade de alimentos causa aumento considerável na frequência cardíaca, a qual pode ser alterada em até 3%, também pela ruminação. Para bovinos adultos, os valores normais de frequência cardíaca estão na faixa de 60 a 70 batimentos por minuto (bpm).

Conforto térmico

As melhores condições de temperatura e umidade relativa para criar animais, em termos gerais, estão em torno de 13 °C a 18 °C e de 60% a 70%, respectivamente, segundo Pires et al. (2003). Para gado europeu, os mesmos autores mencionam que as condições adequadas se encontrariam em regiões com uma média mensal de temperatura abaixo de 20 °C, associada a uma umidade relativa em torno de 50% a 80%.

O conforto térmico no animal consiste no intervalo de temperatura em que não há o mínimo esforço dos sistemas termorreguladores para manter homeotermia (FERRO et al., 2010). Nesse caso, a saúde, a produtividade e a atividade reprodutiva não são comprometidas,

visto que não há desgaste dos processos fisiológicos, já que os animais, nessas condições, apresentam temperatura, frequência respiratória e apetite normais (BAÊTA; SOUZA, 1997; MARTELLO et al., 2004). Esse intervalo é denominado de zona de conforto térmico (ZCT), ou termoneutra, ou zona de indiferença térmica (BAÊTA; SOUZA, 1997).

Uma zona de conforto térmico (ZCT) para animais em pastejo seria aquela delimitada pelas temperaturas crítica superior (TCS) e crítica inferior (TCI), ótimas para a produção. Nessa faixa, o balanço térmico é nulo, isto é, o calor que o organismo do animal produz, mais o que ele ganha do ambiente, é igual ao calor perdido por intermédio da condução, da radiação, da convecção, da evaporação e do calor contido nas substâncias corporais eliminadas (SILVA, 1998). No entanto, fixar TCSs e TCIs não é tarefa fácil de ser realizada, pois certos fatores, como nível de velocidade do vento, radiação solar e umidade relativa, podem alterar os valores. A radiação solar, que varia de acordo com as regiões e as épocas do ano, assim como a umidade relativa, a idade do animal, a raça, as condições de nutrição e as condições de instalação são fatores os quais, somados, caracterizam as medições desses extremos de temperatura (FEITOSA, 2005; RODRIGUES et al., 2010).

Quando um animal está submetido a uma temperatura abaixo da TCI, está em estresse por frio. Quando está exposto a uma temperatura acima da TCS, ocorre estresse por calor (SILVA, 2000). Baêta e Souza (1997), em termos gerais, citaram um limite de ZCT entre -1 °C e 16 °C para bovinos europeus adultos, entre 10 °C e 27 °C para zebuínos adultos e entre 18 °C e 21 °C para bovinos recém-nascidos.

Segundo Martello (2002), para o período de lactação, os limites ideais de temperatura ficaram em torno de 4 °C a 24 °C, havendo uma restrição para um limite entre 7 °C e 21 °C, em virtude da ação da radiação solar e da umidade relativa. Já para Pires et al. (1999), as temperaturas que oferecem máxima eficiência para produção e reprodução, para as raças leiteiras, estão entre 10 °C e 20 °C.

Não há valores rígidos para a zona de conforto térmico, porém se reconhece que as variações ocorrem por múltiplos fatores, como: idade, raça, indivíduo dentro da raça, peso, estado fisiológico, condição nutricional e fatores ambientais diversos (PEREIRA, 2005).

As raças taurinas europeias foram selecionadas, ao longo de centenas de anos, para produzir e reproduzir em condições de clima temperado e, por isso, estão fisiológica e geneticamente adaptadas a esse ambiente climático. Temperatura média mensal inferior a 20 °C e umidade relativa do ar entre 50% e 80% parecem ser mais compatíveis com esses germoplasmas. Porém, há notáveis diferenças entre raças. O consumo de alimento e a

produção de leite são afetados quando a temperatura ambiente é de 24 °C a 26 °C para a raça Holandesa, de 27 °C a 29 °C para a Jései e de 29,5 °C para a Pardo-Suíço.

O conforto térmico dos animais depende dos níveis de umidade atmosférica em associação com a temperatura do ar. Nesse sentido, para estimar e avaliar o efeito ambiente sobre o conforto dos bovinos, foram desenvolvidos alguns índices, entre eles o índice de temperatura e umidade (ITU) e o índice de temperatura de globo e umidade (ITGU) (SILVA, 2000; SOUZA et al., 1992). O ITU foi desenvolvido por Thom em 1958, levando em consideração os pesos para as temperaturas dos termômetros de bulbo seco e de bulbo úmido, ou a temperatura no ponto de orvalho para relação com o desempenho produtivo dos animais (FERREIRA, 2005). Baêta e Souza (1997) constataram que as desvantagens do ITU são a insensibilidade a pequenas mudanças de umidade relativa e a pequena faixa de desconforto.

Para Armstrong (1994), o estresse térmico, de acordo com a variação de ITU, é classificado para vacas leiteiras, em ameno ou brando (de 72 a 78), moderado (de 79 a 88) e severo (de 89 a 98). Já Pires et al. (1999) observaram que um ITU acima de 72 já caracteriza uma situação de estresse calórico para vacas de alta produção.

Quanto aos animais criados em pasto, foi desenvolvido, por Buffington et al. (1981), o índice de temperatura de globo e umidade (ITGU), o qual, em seu cálculo, considera a temperatura do globo negro e a temperatura no ponto de orvalho, que, segundo os mesmos autores, é um indicador de conforto térmico mais acurado do que o ITU. Para bovinos, de acordo com o National Weather Service – EUA (1976 citado por BAÊTA, 1985), valores de ITGU de 79 a 84 caracterizam uma situação perigosa, e acima de 84, de emergência.

A temperatura de globo negro (TGN), medida por meio do termômetro de globo negro, representa, em um único valor, os efeitos combinados da temperatura do ar, da velocidade do vento e da energia térmica procedente do meio, em todas as direções possíveis, a partir do qual se pode concluir sobre o nível de conforto térmico proporcionado por um dado ambiente. Para vacas em lactação, Mota (2001) estabelece que a faixa de TGN de 7 °C a 26 °C é considerada ótima, de 27 °C a 34 °C é regular, e acima de 35 °C é crítica.

Estudando os benefícios do sombreamento em vacas leiteiras, Roman-Ponce et al. (1977) verificaram que a temperatura de globo negro diferiu entre os ambientes sombra e sol (28,4 °C contra 36,7 °C). A produção de leite foi elevada em 10,7% (16,6 kg contra 15,0 kg); entretanto, a temperatura retal e a frequência respiratória foram reduzidas pelo sombreamento.

De forma semelhante, Baccari Junior et al. (1982), estudando as respostas fisiológicas e produtivas de vacas cruzadas Zebu-Europeu, em lactação, às diferenças ambientais em locais com ou sem sombra, verificaram que a temperatura de globo negro diferiu entre os ambientes. Observaram ainda que as vacas não abrigadas apresentaram maior temperatura retal, indicando que acumularam mais calor durante o dia.

Consumo de alimento sólido e água

Os ancestrais dos animais domésticos atendiam a suas exigências para as funções vitais de sobrevivência por meio da seleção dos alimentos que ingeriam, sem qualquer interferência humana. Assim, a hipótese de que os animais são capazes de selecionar sua dieta de maneira voluntária, como forma de atender a suas exigências, foi formulada (FORBES, 1998). Segundo Forbes (1999), os animais alimentam-se para minimizar desconfortos de ordem física ou metabólica. Assim, a modificação no fornecimento de nutrientes para órgãos e tecidos pode levar a mudanças na escolha dos alimentos a serem ingeridos.

Os requisitos nutricionais de vacas de leite são calculados sob condições ambientais ótimas, sem a exposição a elementos estressantes. Mudanças ambientais podem contribuir para que o animal escolha determinada combinação de alimentos. O aumento da temperatura ambiente pode influenciar negativamente a ingestão de alimentos, em razão do aumento da temperatura retal, resultando em alterações nos requisitos de manutenção e produção, bem como modificando os parâmetros de fermentação ruminal e o aproveitamento dos nutrientes (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001).

A redução do consumo de alimentos é maior quanto mais intenso é o estresse térmico, em decorrência principalmente da inibição, pelo calor, do centro do apetite, localizado no hipotálamo, resultante da hipertermia corporal (BACCARI JUNIOR, 2001).

Os animais submetidos ao estresse térmico reduzem o número de refeições diárias, a duração das refeições e a taxa de consumo de matéria seca (ALBRIGHT, 1993). O padrão diário de consumo dos bovinos é bem característico, com dois momentos principais: início da manhã e final da tarde. Esse comportamento é fortemente afetado pelo clima. Geralmente, o consumo diminui quando a temperatura ultrapassa 26 °C, ocorrendo alteração dos hábitos alimentares. Quando a temperatura ambiente supera 32 °C, as vacas em lactação interrompem o pastejo entre a ordenha da manhã e a da tarde, e utilizam apenas 7 horas e 30 minutos por dia para pastejar, entre o período do entardecer e o da ordenha do dia seguinte (BEEDE; COLLIER, 1986).

Em pastagem consorciada de aveia-preta e azevém anual, com bezerras suplementadas e não suplementadas, o maior tempo de pastejo foi observado ao amanhecer e ao entardecer, havendo uma grande concentração das bezerras não suplementadas em pastejo entre as 12h e as 18h (BREMM et al., 2005). Olivo et al. (2005), trabalhando com vacas da raça Holandesa em pastagem de capim-elefante e aveia-preta, observaram picos superiores de pastejo após as ordenhas da manhã e da tarde, e picos menores entre as 10h e as 16h. Nesse mesmo trabalho, o tempo de ruminação, em média, foi de 8 horas, sendo maior à noite, concentrando-se entre as 24h e as 6h.

A redução do consumo de alimentos em geral, bem como a redução do consumo de forragem em proporção ao total de alimento, pode alterar de forma significativa a composição do leite, como, por exemplo, seu teor de gordura (BACCARI JUNIOR, 2001).

Os teores de gordura do leite diminuem quando as vacas são expostas a estresse calórico classificado como “severo”. Os ácidos graxos de cadeia longa aumentam e os de cadeia curta diminuem (BERNABUCCI; CALAMARI, 1998). Uma possível explicação para os menores teores de gordura observados no leite de vacas em situações de estresse calórico seria a variação no consumo de forrageiras pelos animais. O menor consumo de volumosos provoca uma alteração na relação acetato:propionato, modificando, assim, a composição do leite (COOLIER, 1985).

Deve-se considerar que, em condições de estresse calórico, além de alterações no consumo de alimentos, ocorre também um aumento na ingestão de água (PERISSINOTTO et al., 2005). A partir de 4 °C, o consumo de água obedece a taxa crescente e proporcional ao aumento da temperatura ambiente. Esse aumento no consumo é esperado até 35 °C, porém, acima desse ponto, o consumo de água é deprimido, em virtude da redução do consumo de alimento.

A água é o alimento de maior demanda quantitativa para o gado de leite. Vacas em lactação necessitam de mais água em relação a seu peso vivo do que outras categorias de animais, pois o leite contém 87% de água. Além disso, admite-se que, nos últimos 4 meses de gestação de vacas, o consumo de água é cerca de 50% maior do que o de adultos não gestantes. O corpo do gado adulto apresenta de 55% a 70% desse elemento, chegando a 80% a 85% no animal jovem, e a até 90% no recém-nascido.

Em clima temperado, a produção de 1 kg de alimento implica o consumo de grande volume de água. Para a produção de leite, o consumo é de aproximadamente 10.000 L de água por quilograma; e para carne, de 20.000 L a 50.000 L de água por quilograma. Esse

volume total de água se baseia na necessidade para a produção de pastagens e alimentos concentrados utilizados pelos bovinos, além da quantidade ingerida pelos animais.

Ao contrário das pastagens de clima temperado, as tropicais possibilitam às vacas leiteiras um consumo de matéria seca (MS) de 12 kg a 15 kg por vaca por dia, quando ingerem de 60 L a 80 L de água proveniente dessa forragem. Esse consumo involuntário pode suprir grande parte da exigência de água desses animais.

O manejo nutricional para os períodos mais quentes do ano deve incluir o fornecimento de dietas “frias”, dietas de alta densidade energética, além de suplementação adicional de minerais, tais como potássio, sódio e magnésio, e manter água de boa qualidade à disposição dos animais (PIRES, 2006).

Dieta fria é aquela que gera uma alta proporção de nutrientes para síntese e diminui o incremento calórico oriundo da fermentação e do metabolismo dos alimentos. As características dessa dieta são: maior teor de energia, fibras de alta fermentação, menor degradabilidade de proteínas e alto conteúdo de nutrientes protegidos. Nessa categoria estão incluídas as pastagens tenras, a silagem com alto conteúdo de grãos e concentrados ricos em gordura (GONÇALVES et al., 2009).

Medidas para amenizar o estresse térmico

Independentemente do tipo de sistema de produção de leite a ser adotado – em pasto ou em confinamento –, assim como das diferentes espécies de forrageiras, os animais respondem melhor em condições ambientais que os favoreçam. Dessa forma, além do método ou manejo a ser adotado para amenizar o estresse calórico nesses sistemas, deve ser considerada a escolha de animais adequados e/ou adaptados a cada região.

Inúmeros trabalhos atestam os efeitos negativos das elevadas temperaturas sobre a produção de leite, a reprodução e a suscetibilidade a doenças, bem como informam a redução na taxa metabólica (SILVA, 2000). Dessa forma, diversas modificações no ambiente podem ser introduzidas, visando diminuir a temperatura sobre os animais e auxiliando, assim, a dar conforto às vacas leiteiras.

Diante desse contexto, a preocupação com o sombreamento, principalmente, aumenta na medida em que é empregado para animais altamente especializados, muito sensíveis a altas temperaturas e criados nos sistemas de produção em pasto, onde as condições ambientais apresentam maior influência sobre eles. Para Titto et al. (2008), o efeito

benéfico da disponibilidade de sombra para os animais de produção baseia-se na melhoria de suas condições fisiológicas (frequência respiratória, temperatura retal, batimentos cardíacos, etc.), no comportamento animal (consumo, ócio, ruminação, etc.) e no desempenho produtivo (carne, leite, etc.), percebendo-se diferenças mais acentuadas nessas variáveis quanto menor for a tolerância dos animais a elevadas temperaturas.

A melhor sombra é a proporcionada pelas árvores, em sistemas silvipastoris, pois promovem o bloqueio da radiação solar e a circulação desejável do ar, graças à evaporação oriunda das folhas (BUCKLIN et al., 1991). Porém, quando o sombreamento natural não está satisfatoriamente disponível, o sombreamento artificial (móvel ou permanente) proporciona uma melhora considerável nas condições térmicas ambientais (BUCKLIN; BRAY, 1998).

Segundo Guiselini et al. (1999), para sombreamento natural, plantas com copas densas, não raleadas, de grande porte e projeção de largas sombras conferem boas condições de conforto térmico, o mesmo não ocorrendo com árvores de folhas largas, copa muito densa e baixa, pois dificultam a ventilação em virtude da ascensão do ar quente, que terá maior dificuldade em se dissipar (POLYCARPO, 2008).

A melhor eficiência das árvores se explica pelo fato de elas utilizarem a energia da radiação solar para a realização da fotossíntese, sendo que, de toda a radiação recebida pela árvore, apenas 10% a 25% retornam ao ambiente, tornando-se, então, mais eficiente em comparação com a radiação incidente no interior de instalações com telhados (FERREIRA, 2005).

Para a sombra natural, a escolha correta da espécie é fator primordial. Deve-se levar em consideração principalmente a adaptação da espécie à região e dar preferência ao plantio de espécies nativas que forneçam boas copa e ventilação, para que ocorra a secagem rápida da área sombreada, evitando, assim, o acúmulo de água e barro. As árvores recomendadas para sombreamento não devem produzir frutos grandes, pois, se ingeridos pelos animais, podem provocar obstrução do esôfago, timpanismo e morte.

A melhor condição de conforto térmico proporcionada por sombra natural não está associada apenas à presença de árvores nos piquetes, mas, sim, à distribuição dessas árvores no ambiente, uma vez que a formação de pequenos bosques proporciona melhor condição de conforto aos bovinos do que a presença de árvores com distribuição isolada nas pastagens. Porém, como a formação desses bosques é feita a longo prazo, é necessário recorrer ao uso de sombreamento artificial.

Harris et al. (1960) relataram que vacas sem acesso à sombra apresentaram maiores valores de temperatura retal e frequências respiratória e cardíaca comparadas àquelas mantidas em abrigos sombreados. Em regiões onde o inverno impõe um grau de estresse que pode levar os animais à morte, a implantação de proteção arbórea contribui para diminuir consideravelmente as perdas (PORFÍRIO-DA-SILVA, 2005).

A sombra artificial móvel, como a tela de fibra sintética (polietileno), em conjunto com estruturas simples de metal ou madeira, pode prover de 30% a 90% de sombra, conforme a abertura da rede. Esse tipo de sombra produz menor proteção contra a radiação solar do que as estruturas permanentes, embora seja preferível aos locais sem proteção nenhuma (BUCKLIN et al., 1991).

O sombreamento conhecido como sombrite mais utilizado é aquele com provisão de 80% de sombra. Esse tipo de sombreamento é capaz de promover conforto térmico considerável aos bovinos leiteiros, quando comparados aos animais expostos diretamente ao sol. Há, contudo, tipos de coberturas mais eficientes, como a telha de fibrocimento sem amianto e as telhas galvanizadas, no que se refere à redução da carga térmica radiante (CTR) (CONCEIÇÃO, 2008). Em experimento realizado no Estado de Minas Gerais com vacas da raça Holandesa, Cardoso et al. (1983) não observaram diferenças entre sombreamento total ou parcial, para variáveis fisiológicas, indicando que o uso de cobertura total é desnecessário para abrigar esses animais. Quando parte do ambiente é coberto, os animais procuram a sombra nas horas mais quentes do dia, evitando, assim, parte da carga térmica adicional proveniente da radiação solar direta. No trabalho de Baccari Junior et al. (1995), não ocorreu diferença na produção de leite, na ingestão de matéria seca e na eficiência da produção de leite de vacas Holandesas expostas a sombra total e parcial durante verão.

De maneira geral, a literatura cita que os abrigos artificiais não devem ter uma altura inferior a 3,5 m de pé direito. Já Polycarpo (2009) relata que a altura da parte inferior da cobertura dos abrigos não deve ser menor do que 4 m e que os abrigos devem dispor de laterais abertas para facilitar a circulação do ar. O material selecionado para a construção deve apresentar alta refletividade, baixa condutividade e baixa emissividade, ou seja, devem ser evitados materiais de alta absorção de calor.

Em seus trabalhos, Mellace (2009) relata não apenas a importância da sombra artificial para amenizar o estresse térmico de bovinos leiteiros, mas também chama a atenção sobre o tamanho da área de proteção solar necessário para abrigar todos os animais. A mesma autora, trabalhando com o efeito do tamanho de área de cobertura de abrigos sobre o conforto de novilhas das raças Jései e Holandesa puras, verificou diferença estatística

($P < 0,05$) na temperatura de globo negro (TGN) entre uma área sem sombra (controle), comparada a áreas com 1,5 m², 3,0 m², 5,0 m² e 8,0 m² de sombra por animal. Constatou a redução de 5,4 °C na temperatura de globo negro (TGN) do tratamento-controle para uma área de 1,5 m² de sombra por animal. Verificou o mesmo efeito do tratamento-controle para uma área de 8,0 m² de sombra por animal, que passou de 37,2 °C para 29,8 °C, respectivamente, representando um decréscimo de 7,4 °C (19,89%).

Esses resultados demonstram que, proporcionando o mínimo de sombra aos animais, aumenta-se o seu conforto térmico, e também que quanto maior a área de sombreamento proporcionada para cada animal do rebanho, maior o conforto térmico conferido aos bovinos.

A utilização do sombreamento, seja nas pastagens, seja em instalações de produção intensiva, influencia diretamente a produção de leite dos bovinos. Trabalhos com o emprego de sistemas de resfriamento evaporativo vêm sendo realizados em instalações para bovinos de leite, a fim de avaliar a influência do uso de ventilação, aspersão, nebulização, entre outros recursos, na produção de leite (MARTELLO et al., 2004; PERISSINOTTO et al., 2007).

Silva et al. (2002), avaliando o efeito da climatização da sala de espera na produção de leite de vacas da raça Holandesa, momentos antes da ordenha, verificaram que, quando se promove o resfriamento do ambiente, há uma redução de 2,53 °C na temperatura do ar e de 2,36 °C na TGN, refletindo-se em aumento médio diário de 7,28% na produção de leite.

Em condições de confinamento ou até mesmo nas salas de espera e ordenha dos sistemas de produção de leite, a ventilação dos animais é um mecanismo eficiente para amenizar os efeitos do estresse térmico. O sucesso da ventilação para tal fim depende da temperatura do vento que ela promove, devendo ser essa necessariamente inferior à do corpo do animal. Assim, as moléculas de ar que estão em contato com o corpo do animal e aquecidas por ele são substituídas por moléculas mais frias, sendo o calor dissipado por evaporação ou convecção, amenizando, assim, o estresse. Cabe ressaltar que o dimensionamento da potência dos ventiladores deve ser realizado considerando-se a velocidade de 2,5 m s⁻¹ (9 km h⁻¹) (SILVA et al., 2011) ou de 5 km h⁻¹ a 8 km h⁻¹ (FERREIRA, 2005).

A aspersão, sem dúvida, é uma alternativa eficiente entre as técnicas utilizadas para diminuir os efeitos das altas temperaturas sobre bovinos de leite, indicada com base no comportamento natural dos animais em condições de dias quentes, pois, nessas condições, eles procuram açudes e aguadas para dissipar o calor por meio de banhos. O sistema de aspersão é constituído por gotas grandes que, em contato com o corpo do animal, o umedecem, retirando o calor da superfície corporal, pela evaporação das gotas d'água.

A técnica é recomendada quando a temperatura ambiente, no horário mais quente do dia (entre 11h e 17h), for superior a 27 °C, momento este em que a umidade relativa do ar está mais baixa, em torno de 70%. Diante disso, nota-se que o sucesso da aspersão tem relação inversa com a UR, aumentando quando essa diminui.

A associação de aspersão e/ou nebulização com ventilação, em busca de uma sinergia entre as técnicas – ou seja, somar os efeitos positivos de ambas para alcançar a máxima eficiência em diminuir o estresse térmico –, é utilizada em ambientes fechados, sendo conhecido como resfriamento adiabático evaporativo. Consiste em baixar a temperatura do ar que entra na instalação, causada pela evaporação da água, antes ou imediatamente após sua entrada no galpão, provocada pelo uso de ventiladores e exaustores (FERREIRA, 2005).

Arcaro Junior et al. (2003), em trabalho com vacas da raça Holandesa, não verificaram efeito do resfriamento (ventilação + aspersão) da sala de espera sobre a produção de leite, quando comparado ao uso de ventilação e ao controle (apenas sombra) ($P > 0,05$), havendo, no entanto, um aumento significativo ($P < 0,05$) no teor de gordura do leite dos animais submetidos ao tratamento com ventilação. Pinheiro et al. (2005), ao avaliarem vacas da raça Jérsei lactantes, submetidas, a 30 minutos antes da ordenha, ao uso de chuveiros e ventilação, também não verificaram diferença estatística ($P > 0,05$) sobre a produção de leite dos animais submetidos ao ambiente climatizado, comparado ao controle (sem resfriamento).

A não alteração na produção de leite, observada nos trabalhos mencionados acima, não indica que os sistemas de climatização utilizados não conferem conforto térmico aos animais, pois o fato observado nesses ambientes climatizados, além da temperatura ambiente e outros índices e variáveis ambientais, é a redução na TGN (temperatura de globo negro) (ARCARO JUNIOR et al., 2003) e no ITGU (índice de temperatura de globo e umidade) (MARTELLO et al., 2004), variáveis utilizadas para mensurar e que expressam com confiança o conforto térmico dos animais, estando o não aumento da produção de leite muitas vezes relacionado a fatores alheios às condições do ambiente.

Além disso, os autores atribuem esses resultados ao fato de os animais terem acesso à sombra constante no ambiente de pastagem, não sofrendo, por esse motivo, praticamente nenhum estresse térmico ao chegarem para a ordenha, o que favorece o consumo de alimentos e o ajuste dos hormônios envolvidos na lactação, e a consequente estabilidade da produção leiteira.

Resultados encontrados por Nääs e Arcaro Junior (2001), avaliando a influência da sombra artificial (S), da sombra com ventilação (SV) e da sombra com ventilação e aspersão (SVA) sobre o desempenho produtivo de vacas leiteiras de alta produção, verificaram,

na ordenha da manhã, melhor desempenho para o SVA, seguido do SV e por último do S ($P < 0,05$), enquanto, no turno da tarde, embora o melhor resultado tenha sido também observado para o SVA ($P < 0,05$), não foi identificada diferença estatística entre SV e S. Quando observada a produção diária total, foi registrada uma diferença de 2,33 kg de leite por animal por dia (11,33%) entre SVA e S.

Martello et al. (2004), avaliando a produção de leite de vacas multíparas e primíparas alojadas em instalações climatizadas (ICL), instalações de piquetes com tela sombrite (TS) e instalações-controle (ICO) (sombra apenas sobre o comedouro), verificaram que as vacas multíparas do TS apresentaram produção maior (8,5%) do que as dos tratamentos ICL e ICO, não havendo diferença estatística entre esses. Já para as primíparas, os melhores resultados de produção foram observados nas instalações-controle. Para os autores, o resultado observado para as multíparas ocorreu graças à maior área de sombra/animal disponível do TS, enquanto, para as primíparas, o sombreamento sobre o comedouro no ICO foi suficiente para aliviar o estresse ambiental nos momentos mais quentes do dia – portanto, não ocorrendo reduções no consumo de alimentos e, conseqüentemente, na produção de leite.

Dor em bovinos de leite

A sensação de dor é um mecanismo essencial de proteção e sobrevivência, uma função biológica que mantém o indivíduo em estado de alerta contra as condições hostis do meio onde vive. A International Association for the Study of Pain's (IASP) definiu "dor" como uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada com dano tecidual presente ou potencial, ou descrita em termos de tal dano (BONICA, 1979).

O termo "nociceção" significa o reconhecimento dos estímulos nocivos ou dolorosos feitos inicialmente pelos nociceptores (receptores sensoriais de dor) e transmitidos até o sistema nervoso central, chegando, então, ao cérebro, onde esses estímulos são interpretados (MUIR III, 2009). Com base nesses conceitos, o termo "dor" seria mais bem aplicado a seres humanos do que a animais irracionais, pelo fato de esse termo envolver um componente emocional. Mesmo assim, convencionou-se usar o termo "dor" tanto para pacientes humanos quanto para animais irracionais (HELLEBREKERS, 2002).

A dor é uma sensação desagradável, é uma experiência emocional associada a um dano presente ou potencial, além de ser considerada como uma forma de doença com alto potencial incapacitante. Animais com deficiências físicas podem compensá-las com outras

atividades ou fortalecer outras funções ou sentidos; entretanto, nenhum ser pode exercer suas atividades plenamente quando sofre dor (LUNA, 2008).

Nos últimos anos, com a crescente preocupação da sociedade com o bem-estar animal, tornou-se de suma importância conhecer os mecanismos envolvidos no processo da dor, para que se possa reconhecer sua origem, aliviá-la e, subsequentemente, preveni-la. Reconhecer a dor é parte do caminho, pois também é necessário encontrar formas de reduzir ou evitar sua ocorrência (WEARY et al., 2006).

Classificação da dor

Para Luna (2008), a dor é o quinto sinal vital, juntamente com a função cardiorrespiratória e a térmica. Pode ser classificada como fisiológica quando os mecanismos atendem a uma função de defesa e alarme, e como patológica quando não cumpre uma função de alarme, incapacitando e levando a alterações de comportamento, comprometendo, assim, o bem-estar físico e mental (HELLYER et al., 2007).

Quando um estímulo nocivo é induzido, causa a “primeira dor”, também denominada “dor fisiológica”, que serve para proteger o organismo pela advertência do contato com estímulos teciduais nocivos (STILWELL, 2009). Peters (2012) descreve a dor fisiológica como aquela que é experimentada no cotidiano, aquela que o animal sente quando é beliscado, cutucado ou palpado de maneira agressiva, ou quando da realização do teste de limiar térmico de dor.

A dor fisiológica é bem localizada e transitória, tendo uma função protetora, que incita o reflexo de fuga e o comportamento de luta ou fuga (LORENZ et al., 2011; STILWELL, 2009). Todos os outros tipos de dor podem ser considerados patológicos ou clínicos, sendo que a maior parte surge de lesões teciduais (inflamatórias) ou nervosas (neuropáticas) (GAYNOR; MUIR III, 2009).

A “segunda dor” ou “dor profunda” é interpretada pelo sistema nervoso central como uma sensação difusa, dolorida ou latejante; algumas vezes é chamada de “dor clínica, crônica ou patológica” (GEORGE, 2003). Caracteriza-se pela transformação de um estímulo não lesivo em um estímulo lesivo, que desencadeia sensibilidade dolorosa (alodínia), resposta exagerada aos estímulos nocivos (hiperalgesia) e aumento da área de hipersensibilidade (hiperalgesia secundária), provavelmente resultado de uma inflamação ou processo patológico (FANTONI; MASTROCINQUE, 2004; KLAUMANN et al., 2008).

A forma aguda da dor patológica, assim como se dá com a dor fisiológica, funciona como uma proteção, levando a não utilizar a região afetada, ao descanso e à recuperação, como forma de amenizar o agravamento do dano e de promoção da reparação. A dor prolongada (crônica) tem um impacto significativo na qualidade de vida do animal, excedendo em muito qualquer função protetora, rompendo a homeostasia e causando alterações fisiopatológicas e um sofrimento considerável (GAYNOR; MUIR III, 2009).

Vale ressaltar que, de acordo com a duração, pode ser aguda ou crônica (CAPONERO et al., 2001). A dor aguda é de curta duração e tende a desaparecer com a cura, estando geralmente associada a procedimentos cirúrgicos. Já a dor crônica é de longa duração, podendo durar mais tempo do que o processo de cicatrização normal (FIERHELLER, 2009).

A dor aguda, na maioria dos casos, tem origem em inflamação ou trauma de tecidos moles e, em virtude da hipersensibilização da área afetada, assim como dos tecidos próximos, provoca no indivíduo um afastamento a estímulos externos, facilitando a recuperação tecidual (LAMONT et al., 2000).

A dor crônica costuma ter uma duração de 3 a 6 meses, e pode manifestar-se de forma espontânea ou ser provocada por vários estímulos externos. É normalmente exagerada em duração, amplitude ou em ambas. É um tipo de dor que não exerce nenhuma função biológica vantajosa, sendo debilitante, prejudicial e comprometedora da qualidade de vida do paciente (LAMONT et al., 2000; LORENZ et al., 2011).

Em ruminantes, a dor crônica está relacionada ao corte da cauda em novilhas leiteiras (EICHER et al., 2006) e a enfermidades, como claudicação e mastite. A inflamação induz alterações no processamento da informação nociceptiva, que pode ter consequências graves para o animal (FITZPATRICK et al., 2006).

A dor pode ser classificada conforme os mecanismos básicos que fazem a medição em sua origem, sendo classificada como de origem nociceptiva ou não nociceptiva (ALMEIDA et al., 2006).

A dor nociceptiva resulta da ativação das terminações nervosas sensitivas delta A e C (nociceptores) por estímulos mecânicos, térmicos ou químicos. Esses processos podem ser sensibilizados por substâncias algogênicas, gerando como resultado a hiperalgesia (TRANQUILLI, 2004). De acordo com Souza et al. (2001), a dor nociceptiva pode ser dividida em somática ou visceral.

A dor somática origina-se das estruturas superficiais, como pele ou tecido celular subcutâneo, e também da parede muscular; já a dor visceral origina-se das vísceras abdominais e torácicas, sendo associada a princípio à irritação da serosa (SOUZA et al., 2001).

A dor não nociceptiva divide-se em dor neuropática e psicogênica. A primeira é aquela cuja origem é a lesão ou irritação do nervo, que persiste por longo tempo após o evento, podendo ser ocasionada por sensibilização central (ALMEIDA et al., 2006); já a psicogênica ocorre quando nenhum mecanismo nociceptivo ou neuropático pode ser identificado e há sintomas psicológicos suficientes para que sejam estabelecidos critérios de distúrbios dolorosos (DUARTE, 1998).

Avaliação da dor em bovinos

A dor é uma experiência individual, cujas observação e mensuração dependem de vários fatores. Algumas dessas variáveis são: espécie, linhagem genética dentro da espécie, sexo, peso corporal, condicionamento prévio, dominância social do animal, saúde em geral e condições do meio ambiente no momento da observação (HARDIE, 2002).

A dor é uma experiência complexa que não envolve somente a transdução de estímulos nocivos advindos do ambiente, mas, e principalmente, seu processamento cognitivo e emocional, realizado pelo sistema nervoso central (JULIUS; BASBAUM, 2001). Com base nessa definição, pode-se citar um componente fisiológico e outro psicológico ou emocional, e a junção de ambos é o que os humanos entendem por dor (GUGINSKI, 2008). Mas, pergunta-se, o que podemos concluir sobre as sensações dos animais se nós, os humanos, não compartilhamos uma linguagem comum com eles? (DUNCAN, 2005).

Os animais de produção são os que mais sofrem dor, tanto pelo fato de que raramente recebem tratamento, como pelo fato de serem submetidos a diversos procedimentos com a finalidade de incrementar a capacidade produtiva ou corrigir problemas. Entre as principais causas de dor em animais de produção, podem ser citadas: a marcação a quente ou a frio, a descorna, a mastite e a laminite em ruminantes (LUNA, 2008).

A avaliação de dor em bovinos é difícil de ser feita porque, na sua condição de espécies-presa, não dão sinais evidentes de dor em comparação com outros animais ou seres humanos. Isso é um instinto natural de sobrevivência das espécies-presa, em que a não expressão de sinais de dor ou de doença evita a aproximação de predadores (FIERHELLER, 2009).

Molony e Kent (1997) classificam em objetivas e subjetivas as avaliações de dor em animais. As avaliações objetivas consideram os estados físico, comportamental e mental dos animais – a mensuração de cortisol plasmático e as escalas de dor têm sido os elementos mais empregados. Já as avaliações subjetivas consideram o comportamento ativo de fuga e a questão postural.

Medidas comportamentais de dor

A avaliação do comportamento animal é de suma importância para o diagnóstico da dor. Segundo Peters (2012), há três classes principais de comportamento para a avaliação da dor.

A primeira, e mais evidente, são os comportamentos específicos da dor, como contorções, repetidas vocalizações e comportamentos vigorosos de fuga. Por exemplo, terneiros respondem à marcação com ferro quente com certos comportamentos, como tropeçar para frente com os membros dianteiros e traseiros, mas respondem à dor pós-operatória com comportamentos mais sutis e diretos, tais como sacudindo a orelha e balançando a cabeça (GRONDAHL-NIELSEN et al., 1999). A segunda classe é a diminuição de frequência ou de magnitude de certos comportamentos. A terceira classe de medidas de dor são as de escolha ou preferência. Por meio de exposições repetidas a diferentes situações, os animais podem aprender o que esperar, bem como evitar uma situação dolorosa (PETERS, 2012).

Molony e Kent (1997) relatam que, observando-se os animais, vários tipos de respostas à dor podem ser reconhecidos: a) respostas que modificam o comportamento do animal por meio da aprendizagem, permitindo que o animal evite a recorrência da experiência dolorosa; b) respostas, muitas vezes automáticas, que protegem partes do corpo ou todo o animal (por exemplo, bovinos com alteração na postura corporal relutam em deitar-se, como forma de proteger a área dolorida em caso de lesões podais); c) respostas que minimizam a dor e promovem a cura; e d) respostas que são projetadas para obter ajuda ou para impedir que outro animal continue a lhe infligir mais dor (por exemplo: vocalização, cheiro, etc.).

Observando o comportamento dos animais, Molony e Kent (1997) descrevem alterações na postura, na marcha, na atividade, na expressão facial, na vocalização, no estado mental, no comportamento evocado e nos padrões de comportamento, em resposta ao tratamento com analgésico em animais com dor. Já as respostas fisiológicas à dor são principalmente os aspectos da resposta de defesa do organismo integrado, incluindo a

luta ou a fuga. Citam-se como respostas fisiológicas à dor: a) dilatação das pupilas e/ou ampla abertura das pálpebras; b) alterações da pressão arterial e da frequência cardíaca; c) aumento da taxa de respiração; d) piloereção; e) alterações na pele e na temperatura corporal; f) aumento do tônus muscular; g) transpiração; e h) aumento da defecação e da micção (PELLEGRINI, 2012).

Vale ressaltar que a ausência de sinais claros de dor, como vocalização e agitação, não significa que o animal não esteja sentindo dor. Almeida et al. (2006) relatam que traumatismos, cirurgias e desarranjos metabólicos podem mascarar o comportamento animal em relação à dor. Cada animal, conforme sua experiência, demonstra dor de uma maneira única e, embora seja difícil quantificá-la, existem algumas posições corporais e comportamentos característicos, facilmente reconhecíveis, atribuídos à sensação de dor (MATHEWS, 2000).

Em vista disso, torna-se importante o conhecimento dos padrões comportamentais da espécie observada e das particularidades de cada indivíduo, pois, assim, qualquer alteração no comportamento normal poderá ser identificada e, conseqüentemente, tornará possível conhecer as causas para solucionar o problema. Entre os comportamentos indicativos de dor em bovinos de leite, podem ser citados os seguintes: comportamento ingestivo alterado, comportamento social alterado e mudanças do comportamento de ordenha. Bovinos com elevado grau de dor reduzem o consumo de alimentos, diminuem as atividades de ruminção e, se o animal apresentar febre, como ocorre em casos de mastite clínica grave, podem aumentar o consumo de água (PETERS, 2012).

Em bovinos de leite, a categoria de vacas em lactação apresenta grande vantagem em comparação com as demais categorias, no que concerne à possibilidade de observação do seu comportamento, pois, como o manejo de ordenha é diário e cada animal é manejado individualmente, isso favorece a identificação dos comportamentos anormais. Por exemplo: vacas com laminite apresentam escore de andadura anormal, mostrando relutância em colocar o peso sobre a pata doente, reduzem a flexão dos joelhos e caminham com o dorso arqueado, indicando, assim, dor e desconforto (RUSHEN et al., 2008).

Fisiopatologia e percepção da dor

O reconhecimento dos estímulos nocivos ou dolorosos é chamado de “nocicepção”. Nocicepção consiste nos processos de transdução (os receptores periféricos transformam o estímulo nocivo em atividade elétrica), transmissão (propagação dos impulsos elétricos através de diferentes tipos de fibras aferentes) e modulação (amplificação ou inibição do

impulso periférico no nível da medula espinhal) de sinais neurais gerados em resposta a um estímulo nocivo externo. De forma simplificada, pode ser considerada como uma cadeia de três neurônios: o neurônio de primeira ordem é originado na periferia e projeta-se para a medula espinhal; o neurônio de segunda ordem ascende pela medula espinhal; e o neurônio de terceira ordem projeta-se para o córtex cerebral (TRANQUILLI, 2004).

Todas as fibras nociceptivas sensoriais primárias fazem conexões sinápticas com neurônios secundários na substância cinzenta do corno dorsal da medula espinhal. Os neurônios do corno dorsal projetam seus axônios e transmitem a informação nociceptiva para os centros cefálicos superiores, os quais, através de neurônios terciários, enviam informações ao córtex cerebral, onde ocorre o processamento que resulta em consciência da dor (ALMEIDA et al., 2006).

Os nociceptores cutâneos respondem a estímulos (pressão, calor, mediadores químicos) que transmitem impulsos via fibras C e delta e beta A para os neurônios do corno dorsal da medula espinhal. De acordo com Andrade (2002), a percepção da dor começa na periferia, por meio da ativação de nociceptores, classificada de acordo com o estímulo que recebem em receptores: mecânicos de alto limiar (detectam pressão), mecanotérmicos de baixo limiar (pressão e calor) e polimodais (pressão, calor e fatores químicos). Também são classificados de acordo com o tipo de fibra aferente (em direção ao sistema nervoso central) a eles associada, podendo ser fibra A delta e/ou C. Os nociceptores mecânicos utilizam fibras A delta mielinizadas de pequeno diâmetro e limiar alto, que respondem a estímulos, como beliscões, apertões e extremos de pressão. Os nociceptores associados a fibras C não mielinizadas têm pequeno diâmetro, condução lenta e são considerados polimodais, pois respondem a estímulos nocivos mecânicos, térmicos ou químicos. As fibras A delta compõem a dor rápida, pois a transmissão do estímulo é mais rápida em virtude da característica da fibra (mielinizada), enquanto as fibras C são responsáveis pela dor lenta, em razão da característica diferente desse tipo de fibra (GAYNOR; MUIR III, 2009).

Tranquilli (2004) relata que a comunicação da informação nociceptiva entre neurônios ocorre através de mediadores químicos (neurotransmissores), que são aminoácidos excitatórios ou inibitórios, e neuropéptidos produzidos, armazenados e liberados nas terminações nervosas aferentes, como nos neurônios do corno.

O organismo possui mecanismos intrínsecos de controle da dor. Embora a dor seja um aviso de perigo ao corpo, a capacidade de suprimir a consciência da dor pode ser benéfica para o animal em situações que ameacem sua sobrevivência. Esse mecanismo ocorre da seguinte forma: após a estimulação de vários núcleos do tálamo, os sinais

são transmitidos para diversas áreas do córtex cerebral: hipotálamo, substância cinzenta periaquidutal, amígdala e cerebelo. Um circuito modulador endógeno descendente, que conecta a substância cinzenta periaquidutal com o corno dorsal da medula, é responsável pela ativação de conexões que promovem a facilitação ou a inibição da nocicepção. Vale ressaltar que a resposta do animal a uma experiência dolorosa varia de maneira considerável, dependendo da gravidade, da intensidade e da duração do estímulo doloroso (BOOTH; DONALD, 1992).

Medidas fisiológicas da dor

Respostas fisiológicas de dor são reações do organismo a um estímulo doloroso. Quando o cérebro percebe o estímulo doloroso, o sistema nervoso simpático é ativado, produzindo a adrenalina. A adrenalina causa aumento da frequência cardíaca e da pressão sanguínea, além de aumentar os níveis do hormônio do estresse, o cortisol. Essas variáveis – frequência cardíaca, pressão sanguínea e cortisol – podem ser utilizadas como agentes indicadores de dor em animais de produção (FIERHELLER, 2009).

A medida de hormônios do estresse, como o cortisol, tem sido útil como indicador de dor, embora apresente algumas limitações, como a falta de especificidade para a dor e a ocorrência de um efeito-teto (MOLONY; KENT, 1997). Alterações nas concentrações plasmáticas de glicose, ácidos graxos livres, ácido láctico e outras substâncias que ocorrem em resposta a estresse e/ou a atividade prolongada, depois de alguns tipos de dor, podem ser utilizadas, desde que o estado geral do animal também seja avaliado (PEERS et al., 2002).

As proteínas de fase aguda também têm se mostrado úteis na categorização de gravidade da doença, e podem então ser correlacionadas com a dor e o bem-estar. De acordo com Peters (2012), a resposta da fase aguda altera a síntese e a liberação de muitas proteínas sintetizadas pelo fígado – algumas diminuem (fase aguda negativa), enquanto outras aumentam (fase aguda positiva).

Em resumo, é importante conhecer os indicadores comportamentais e fisiológicos que os animais produtores de leite apresentam em resposta ao manejo ao qual são submetidos, já que, por meio desses indicadores, é possível saber se o sistema de criação atende às condições de conforto e bem-estar do animal. Além disso, os indicadores comportamentais são de fácil reconhecimento e de custo zero. Tudo vai depender da disposição do tratador em observar e entender o modo como os animais interagem com o meio. Assim, poderá ajudá-los a enfrentar os desafios apresentados pelos sistemas produtivos, melhorando,

consequentemente, o bem-estar dos animais. Isso pode trazer ganhos consideráveis ao produtor, além de trazer satisfação ao tratador, ao reconhecer que o resultado da produção foi fruto do seu trabalho, principalmente do entendimento que tem das necessidades dos animais.

Referências

- AIRES, J. L. F. **Produção, qualidade e perfil de ácidos graxos do leite de vacas holandesas conduzidas em pastagens de aveia-preta e azevém-anual, com e sem suplementação**. 2008. 263 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- ALBRIGHT, J. L. Nutrition and feeding calves: feeding behavior of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 2, p. 485-498, 1993.
- ALMEIDA T. P.; MAIA, J. Z.; FISCHER, C. D. B.; PINTO, V. N.; PULZ, R. S.; RODRIGUES, P. R. C. Classificação dos processos dolorosos em medicina veterinária. **Veterinária em Foco**, v. 3, n. 2, p. 107-118, jan./jun. 2006.
- ANDERSON, B. E. Regulação da temperatura e fisiologia ambiental. In: DUKES, H. H. (Ed.). **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. p. 623-630.
- ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2002.
- ARCARO JUNIOR, I.; ARCARO, J. R. P.; POZZI, C. R.; FAGUNDES, H.; MATARAZZO, S. V.; OLIVEIRA, C. A. Teores plasmáticos de hormônios, produção e composição do leite em sala de espera climatizada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, n. 2, p. 350-354, 2003.
- ARMSTRONG, D. V. Heat stress interaction with shade and cooling. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2044-2050, 1994.
- BACCARI JUNIOR, F. **Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes**. Londrina: Ed. UEL, 2001.
- BACCARI JUNIOR, F.; AGUIAR, I. S.; TEODORO, S. M. Hipertermia, taquipnéia e taquicardia em vacas holandesas malhadas de vermelho sob stress térmico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMETEOROLOGIA, 1., 1995, Jaboaticabal. **Anais...** Jaboaticabal: Sociedade Brasileira de Biometeorologia, 1995. p. 15-26.
- BACCARI JUNIOR, F.; ASSIS, P. S.; POLASTRE, R.; FRE, C. A. Shade management in tropical environment for milk production in crossbred cows. In: WESTERN SECTION AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, 33., 1982, [S.l.]. **Proceedings...** [S.l.]: American Society of Animal Science, 1982. p. 209-210.
- BAÊTA, F. C. **Responses of lactating dairy cows to the combined effects of temperature, humidity and wind velocity in the warm season**. 1985. 218 f. Thesis (Ph.D.) – University of Missouri, Columbia.
- BAÊTA, F. C.; SOUZA, C. F. **Ambiência em edificações rurais: conforto animal**. Viçosa: Ed. UFV, 1997. 246 p.
- BEEDE, D. K.; COLLIER, R. J. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. **Journal of Animal Science**, v. 62, n. 2, p. 543-554, 1986.
- BERMAN, A.; FOLMAN, Y.; KAIM, M.; MAMEN, M.; HERZ, Z.; WOLFENSON, D.; ARIELI, A.; GRABER, Y. Upper critical temperatures and forced ventilation effects of high yielding dairy cows in a subtropical climate. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 6, p. 1488-1495, 1985.
- BERNABUCCI, U.; CALAMARI, L. Effects of heat stress on bovine milk yield and composition. **Zootecnica e Nutrizione Animale**, v. 24, n. 6, p. 247-257, 1998.
- BONICA, J. J. The need of a taxonomy. **Pain**, v. 6, n. 3, p. 247-248, 1979.
- BOOTH, N. H.; DONALD, L. E. M. **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.

- BREMM, C.; ROCHA, M. G.; RESTLE, J.; PILAU, A.; MONTAGNER, D. B.; FREITAS, F. K.; MACARI, S.; ELEJALDE, D. A. G.; ROSO, D.; ROMAN, J.; GUTERRES, E. P.; COSTA, V. G.; NEVES, F. P. Efeito de níveis de suplementação sobre o comportamento ingestivo de bezerras em pastagem de aveia (*Avena strigosa* Schreb.) e azevém (*Lolium multiflorum* Lam.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 2, p. 387-397, 2005.
- BROOM, D. M. A usable definition of animal welfare. **Journal of Agriculture and Environmental Ethics**, v. 6, p. 15-25, 1993.
- BROOM, D. M. **Coping with challenge**: welfare in animals including humans. Berlin: Dahlem University Press, 2001.
- BROOM, D. M. Indicators of poor welfare. **British Veterinary Journal**, v. 142, p. 524-526, 1986.
- BROOM, D. M.; JOHNSON, K.G. **Stress and animal welfare**. London: Chapman and Hall, 1993.
- BROOM, D. M.; MOLENTO, C. F. M. Animal welfare: concept and related issues: Review. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 2, p. 1-11, 2004.
- BROOM, D. M.; ZANELLA, A. J. Brain measures which tell us about animal welfare. **Animal Welfare**, v. 13, p. 41-45, 2004. Supplement 1.
- BUCKLIN, R. A.; BRAY, D. R. The american experience in dairy management in warm and hot climates. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE, 1., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 56-174.
- BUCKLIN, R. A.; TURNER, L. W.; BEEDE, D. K.; BRAY, D. R.; HEMKEN, R. W. Methods to relieve heat stress for dairy cows in hot, humid climates. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 7, n. 2, p. 241-247, 1991.
- BUFFINGTON, D. E.; COLLAZO-AROCHO, A.; CANTON, G. H.; PITT, D.; THATCHER, W. W.; COLLIER, R. J. Black-Globe-Humidity Index (BGHI) as comfort equations for dairy cows. **Transactions of the ASAE**, v. 24, n. 3, p. 711-714, 1981.
- CAPONERO, R.; VIEIRA, D. E.; TEIXEIRA, M. J. **Dor no doente com câncer**: prática hospitalar. 2001. Disponível em: <<http://www.praticahospitalar.com.br/pratica%2035/paginas/materia%2001-35.html>>. Acesso em: 18 ago. 2013.
- CARDOSO, R. M.; FALCO, J. E.; SILVA, M. A.; GARCIA, J. A. Reações fisiológicas de vacas leiteiras mantidas à sombra, ao sol e em ambiente parcialmente sombreado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 12, n. 3, p. 458-468, 1983.
- CONCEIÇÃO, M. N. **Avaliação da influência do sombreamento artificial no desenvolvimento de novilhas em pastagens**. 2008. 137 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- COLLIER, R. J. Nutritional, metabolic and environmental aspects of lactation. In: LARSON, B. L. (Ed.). **Lactation**. Iowa: State University Press, 1985. p. 80-128.
- CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 710 p.
- DUARTE, R. A. Classificação da dor. In: KANNER, R. **Segredos em clínica de dor**. Porto Alegre: Artmed, 1998. p. 22-24.
- DUNCAN, I. J. H. Science-based assessment of animal welfare: farm animals. **Revue Scientifique et Technique Office International des Épizooties**, v. 24, n. 2, p. 483-492, 2005.
- EICHER, S. D.; CHENG, H. W.; SORRELLS, A. D.; SCHUTZ, M. M. Short communication: behavioral and physiological indicators of sensitivity or chronic pain following tail docking. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 8, p. 3047-3051, 2006.
- FANTONI, D. T.; MASTROCINQUE, S. Analgesia preemptiva, mito ou fato? **Clínica Veterinária**, ano IX, n. 49, p. 24-32, mar./abr. 2004.
- FEITOSA, A. N. **Manejo nutricional de gado de leite submetido em condições de estresse calórico**. 2006. 26 f.

- FERREIRA, R. A. **Maior produção com melhor ambiente**: para aves, suínos e bovinos. Viçosa: Aprenda Fácil, 2005. 371 p.
- FERRO, F. R. A.; MONTALDO, Y. C.; CAVALCANTI NETO, C. C.; TOLEDO FILHO, M. R.; FERRI, S. T. S. Efeito do estresse calórico no desempenho reprodutivo de vacas leiteiras. **Revista Verde**, v. 5, n. 5, p. 1-25, 2010. Número Especial.
- FIERHELLER, E. E. Reducing pain during painful procedures. **Advances in Dairy Technology**, v. 21, p. 129-140, 2009.
- FITZPATRICK, J. L.; SCOTT, M.; NOLAN, A. Assessment of pain and welfare in sheep. **Small Ruminant Research**, v. 62, n. 1-2, p. 55-61, 2006.
- FORBES, J. M. Dietary awareness. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 57, n. 5, p. 287-297, 1998.
- FORBES, J. M. Minimal total discomfort as a concept for the control of food intake and selection. **Appetite**, v. 33, n. 3, p. 371, 1999.
- FRASER, D. Toward a global perspective on farm animal welfare. **Applied Animal Behavior Science**, v. 113, p. 330-339, 2008.
- FRASER, O.; RITCHIE, J. S. D.; FRASER, A. F. The term "stress" in a veterinary context. **British Veterinary Journal**, v. 13, n. 1, p. 653-662, 1975.
- GAYNOR, J. S.; MUIR III, W. W. **Manual de controle da dor em medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: MedVet, 2009. 643 p.
- GEORGE, L. W. Pain control in food animals. In: STEFFEY, E. P. (Ed.). **Recent advances in anesthetic management of large domestic animals**. Ithaca: International Veterinary Information Service, 2003. p. 615-1103.
- GONÇALVES, L. C.; BORGES, I.; FERREIRA, P. D. S. **Alimentação de gado de leite**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2009. 412 p.
- GRONDAHL-NIELSEN, C.; SIMONSEN, H. B.; LUND, J. D.; HESSELHOLT, M. Behavioural, endocrine and cardiac responses in young calves undergoing dehorning without and with use of sedation and analgesia. **Veterinary Journal**, v. 158, n. 1, p. 14-20, 1999.
- GUGINSKI, G. Dor: o que sabemos sobre ela? **Perspectivas Online**, v. 2, n. 7, p. 113-121, 2008. Invited Review. Disponível em: <http://www.seer.perspectivasonline.com.br/index.php/revista_antiga/article/view/322>. Acesso em: 18 ago. 2013.
- GUISELINI, C.; SILVA, I. J. O.; PIEDADE, S. M. Avaliação da qualidade do sombreamento arbóreo no meio rural. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 3, n. 3, p. 380-384, 1999.
- HAGEN, K.; BROOM, D. M. Cattle discriminate between individual familiar herd members in a learning experiment. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 82, p. 13-28, 2003.
- HAGEN, K.; BROOM, D. M. Emotional reactions to learning in cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 85, p. 203-213, 2004.
- HARDIE, E. M. Reconhecimento do comportamento doloroso em animais. In: HELLEBREKERS, L. J. **Dor em animais**. São Paulo: Manole, 2002. p. 49-68.
- HARRIS, D. L.; SHRODE, R. R.; RUPEL, I. W.; LEIGHTON, R. E. A study of solar radiation as related to physiological and production responses of lactating Holstein and jersey cows. **Journal Dairy Science**, v. 43, n. 9, p. 1255-1262, 1960.
- HELLEBREKERS, L. J. **Dor em animais**. São Paulo: Manole, 2002. 166 p.
- HELLYER, P. W.; ROBERTSON, S. A.; FAILS, A. D. Pain and its management. In: TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. (Ed.). **Veterinary anesthesia and analgesia**. 4th ed. Iowa: Blackwell, 2007. p. 31-52.
- HICKMAN JUNIOR, C. P.; ROBERTS, L. S.; LARSON, A. **Princípios integrados de zoologia**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 846 p.
- JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, n. 6852, p. 203-210, 2001.

- KLAUMANN, P. P.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. Patofisiologia da dor. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n. 1, p. 1-12, 2008.
- KOLB, E. Coração e circulação. In: KOLB, E. **Fisiologia veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987a. p. 293-294.
- KOLB, E. **Fisiologia veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987b. 612 p.
- LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J.; GRIMM, K. A. Physiology of pain. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 30, n. 4, p. 703-728, 2000.
- LORENZ, D. M.; COATES, J.; KENT, M. Pain. In: LORENZ, D. M. (Ed.). **Handbook of veterinary neurology**. St. Louis: Elsevier, 2011. p. 413-430.
- LUNA, S. P. L. Dor, seniência e bem-estar em animais. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 11, n. 1, p. 17-21, 2008.
- MACHADO, P. F. Efeitos da alta temperatura sobre a produção, reprodução e sanidade de bovinos leiteiros. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE, 1., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 179-188.
- MARTELLO, L. S. **Diferentes recursos de climatização e sua influência na produção de leite, na termorregulação dos animais e no investimento das instalações**. 2002. 67 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Produção Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- MARTELLO, L. S.; SAVASTANO JÚNIOR, H.; SILVA, S. L.; TITTO, E. A. L. Respostas fisiológicas e produtivas de vacas holandesas em lactação submetidas a diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 1, p. 181-191, 2004.
- MATARAZZO, S. V. **Eficiência do sistema de resfriamento adiabático evaporativo em confinamento do tipo freestall para vacas em lactação**. 2004. 143 f. Tese (Doutorado em Física do Ambiente Agrícola) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- MATHEWS, K. A. Pain assessment and general approach to management. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 30, n. 4, p. 729-755, 2000.
- MCDOWELL, R. E.; LEE, D. H. K.; FOHRMAN, M. H. The measurement of water evaporation from limited areas of a normal body surface. **Journal of Animal Science**, v. 13, p. 405-416, 1954.
- MCGUIRE, M. A.; BEEDE, D. K.; DELORENZO, M. A.; WILCOX, C. J.; HUNTINGTON, G. B.; REYNOLDS, C. K.; COLLIER, R. J. Effects of thermal stress and level of feed intake on portal plasma flow and net fluxes of metabolites in lactating Holstein cows. **Journal of Animal Science**, v. 67, n. 4, p. 1050-1060, 1989.
- MELLACE, M. E. **Eficiência da área de sombreamento artificial no bem-estar animal de novilhas leiteiras criadas a pasto**. 2009. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- MOBERG, G. P. Biological response to stress: implications for animal welfare. In: MOBERG, G. P.; MENCH, J. A. (Ed.). **The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare**. Wallingford: CABI Publishing, 2000. p. 1-22.
- MOBERG, G. P. Biological response to stress: key to assessment of animal well-being? In: MOBERG, G. P. **Animal stress**. Bethesda: American Physiological Society, 1985. p. 27-49.
- MOLONY, V.; KENT, E. Assessment of acute pain in farm animals using behavioral and physiological measurements. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 266-272, 1997.
- MOTA, F. S. **Bioclimatologia zootécnica**. Pelotas: Edição do Autor, 2001. 104 p.
- MOTTA, L. S. **Adaptação e interação genótipo-ambiente em vacas leiteiras**. 1997. 69 f. Tese (Doutorado em Biologia Comparada) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

- MUIR III, W. Fisiologia e fisiopatologia da dor. In: GAYNOR, J. S.; MUIR III, W. **Manual de controle da dor em medicina veterinária**. São Paulo: Editora MedVet, 2009. p. 13-41.
- MÜLLER, P. B. **Bioclimatologia aplicada aos animais domésticos**. 3. ed. Porto Alegre: Sulina, 1989. 262 p.
- NÄÄS, I.; ARCARO JUNIOR, I. Influência de ventilação e aspersão em sistemas de sombreamento artificial para vacas em lactação em condições de calor. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 5, n. 1, p. 139-142, 2001.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington, DC: National Academy Press, 2001.
- NEIVA, J. N. M.; TEIXEIRA, M.; TURCO, S. H. N.; OLIVEIRA, S. M. P.; MOURA, A. A. N. Efeito do estresse climático sobre os parâmetros produtivos e fisiológicos de ovinos Santa Inês mantidos em confinamento na região litorânea do nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 3, p. 668-678, 2004.
- NORGAARD-NIELSEN, G. Bone strength of laying hens kept in alternative system, compared with hens in cages and on deep litter. **British Poultry Science**, v. 31, p. 81-89, 1990.
- OLIVO, C. J.; SOBCZAK, M. F.; CHARÃO, P. S.; HEIMERDINGER, A.; SILVA, J. H. S. Comportamento de vacas da raça holandesa em pastagem manejada sob princípios agroecológicos. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 862-869, 2005.
- PEERS, A.; MELLOR, D. J.; WINTOUR, E. M.; DODIC, M. Blood pressure, heart rate, hormonal and other acute responses to rubber-ring castration and tail docking of lambs. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 50, n. 2, p. 56-62, 2002.
- PELLEGRINI, M. Z. **Incidência da mastite ovina em criação extensiva e sua relação à dor e variáveis comportamentais**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- PEREIRA, C. C. J. **Fundamentos de bioclimatologia aplicados à produção animal**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2005. 195 p.
- PERISSINOTTO, M.; CRUZ, V. F.; PEREIRA, A.; MOURA, D. J. Influência das condições ambientais na produção de leite da vacaria da Mitra. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 30, n. 1, p. 134-149, 2007.
- PERISSINOTTO, M.; MOURA, D. J.; SILVA, I. J. O.; MATARAZZO, S. V. Influência do ambiente na ingestão de água por vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 2, p. 289-294, 2005.
- PETERS, M. D. P. **Avaliação da mastite e seu impacto sobre a sensibilidade à dor em vacas leiteiras**. 2012. 99 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- PINHEIRO, M. G.; NOGUEIRA, J. R.; LIMA, M. L. P.; LEME, P. R.; MACARI, M.; NÄÄS, I. A.; LALONI, L. A.; TITTO, E. A. L.; PEREIRA, A. F. Efeito do ambiente pré-ordenha (sala de espera) sobre a temperatura da pele, a temperatura retal e a produção de leite de bovinos da raça Jersey. **Revista Portuguesa de Zootecnia**, v. 12, n. 2, p. 37-43, 2005.
- PIRES, M. de F. A.; CAMPOS, A. T. de. **Modificações ambientais para reduzir o estresse calórico em gado de leite**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2004. 6 p. (Embrapa Gado de Leite. Comunicado técnico, 42).
- PIRES, M. de F. A.; SILVA JÚNIOR, J. L. C. da; CAMPOS, A. T. de; COSTA, L. C.; NOVAES, L. P. **Zoneamento da região Sudoeste do Brasil, utilizando o índice de temperatura e umidade**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. 21 p. (Embrapa Gado de Leite. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 13).
- PIRES, M. F. A. **Manejo nutricional para evitar o estresse calórico**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2006. 4 p. (Embrapa Gado de Leite. Comunicado Técnico, 52).
- PIRES, M. F. A.; FERREIRA, A. M.; COELHO, S. G. Estresse calórico em bovinos de leite. **Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia**, n. 29, p. 23-37, 1999.
- PIRES, M. F. A.; FERREIRA, A. M.; SATURNINO, H. M.; TEODORO, R. L. Taxa de gestação de fêmeas da raça holandesa confinadas em *free stall*, no inverno e verão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, n. 1, p. 57-63, 2002.

POLYCARPO, R. C. A influência do sombreamento artificial no desempenho de novilhas leiteiras em pastagens. **Radar Técnico**, 18 jun. 2009. Sistemas de Produção. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/sistemas-de-producao/a-influencia-do-sombreamento-artificial-no-desempenho-de-novilhas-leiteiras-em-pastagens-54628n.aspx>>. Acesso em: 18 ago. 2013.

POLYCARPO, R. C. Sombra para bovinos: parte 1. **Radar Técnico**, 30 jan. 2008. Sistemas de Produção. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/sistemas-de-producao/sombra-para-bovinos-parte-1-42451n.aspx>>. Acesso em: 18 ago. 2013.

PORFÍRIO-DA-SILVA, V. Arborização de pastagens como prática de manejo ambiental e estratégia para o desenvolvimento sustentável do Brasil pecuário. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RAÇAS ZEBUÍNAS, 6., 2005, Uberaba. **Pecuária sem barreiras**: palestras... Uberaba: Associação Brasileira dos Criadores de Zebu, 2005. p. 59-70.

ROBERTSHAW, D. Regulação da temperatura e o ambiente térmico. In: REECE, W. O. **Dukes**: fisiologia dos animais domésticos. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 897-908.

RODRIGUES, A. L.; SOUZA, B. B.; PEREIRA FILHO, J. M. Influência do sombreamento e dos sistemas de resfriamento no conforto térmico de vacas leiteiras. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 6, n. 2, p. 14-22, 2010.

ROMAN-PONCE, H.; THATCHER, W. W.; BUFFINGTON, D. E.; WILCOX, C. J.; HORN, H. H. van. Physiological and production responses of dairy cattle to a shade structure in a subtropical environment. **Journal Dairy Science**, v. 60, n. 3, p. 424-430, 1977.

RUSHEN, J.; PASSILÉ, A. M. de; VON KEYSERLINGK, M. A. G.; WEARY, D. M. **The welfare of cattle**. [Amsterdam]: Springer, 2008. 310 p. (Animal Welfare, 5).

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock Production Science**, v. 67, p. 1-18, 2000.

SILVA, I. J. O.; PANDORFI, H.; ACARARO JUNIOR, I.; PIEDADE, S. M. S.; MOURA, D. J. Efeitos da climatização do curral de espera na produção de leite de vacas holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 5, p. 2036-2042, 2002.

SILVA, J. C. P. M.; VELOSO, C. M.; CAMPOS, J. M. S.; OLIVEIRA, A. S.; VITOR, A. C. P. **Bem-estar do gado leiteiro**: como manter o alto desempenho do gado em temperaturas desfavoráveis. Viçosa: Aprenda Fácil, 2011. 126 p.

SILVA, R. G. Estimação do balanço térmico por radiação em vacas holandesas ao sol e à sombra. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMETEOROLOGIA, 2., 1998, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Brasileira de Biometeorologia, 1998. p. 118-128.

SILVA, R. G. **Introdução à bioclimatologia animal**. São Paulo: Nobel, 2000. 286 p.

SOUZA, C. F.; BAÊTA, F. C.; CARDOSO, R. M.; TORRES, R. A. **Eficiência de diferentes tipos de bezerreiros quanto ao conforto térmico, na primavera e no verão em Viçosa, MG**. Viçosa: Ed. UFV, 1992. 97 p.

SOUZA, H. J. M.; HAHN, M. D.; LEIVAS, R. M.; BELCHIOR, C. Gatos: analgesia pós-operatória. **Nosso Clínico**, n. 22, p. 8-12, jul./ago. 2001.

STILWELL, G. T. **Pain evaluation and control after routine interventions in cattle**. 2009. 185 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

STOBER, M. Identificação, anamnese, regras básicas da técnica do exame clínico geral. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. (Ed.) **Rosenberger**: exame clínico dos bovinos. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 44-80.

TITTO, E. A. L.; PEREIRA, A. M. F.; VILELA, R. A.; TITTO, C. G.; AMADEU, C. C. B. Manejo ambiental e instalações para vacas leiteiras em ambiente tropical. In: WORKSHOP DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE, 1., 2008, Nova Odessa. **Palestras...** Nova Odessa: Centro Apta - Bovinos de Leite-Instituto de Zootecnia, 2008. p. 1-24.

TRANQUILLI, W. J. Fisiologia da dor aguda. In: GREENE, S. A. **Segredos em anestesia veterinária e manejo da dor**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 399-402.

WEARY, D. M.; NIEL, L.; FLOWER, F. C.; FRASER, D. Identifying and preventing pain in animals. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 100, p. 64-76, 2006.

USO DO AZEVÉM EM SISTEMAS DE PECUÁRIA DE LEITE

Ana Carolina Fluck
Olmar Antônio Denardin Costa
Rudolf Brand Scheibler
Victor Ionantan Fioreze
Jorge Schafhäuser Junior
Fábio Antunes Rizzo

Introdução

O sistema agrícola brasileiro utiliza uma eficiente e bem-sucedida estratégia econômica para conquistar mercados estrangeiros, o que vem trazendo ótimos resultados principalmente para o setor pecuário de corte e leite.

Nesse contexto, a região Sul do Brasil participa intensamente do desenvolvimento da economia nacional, graças, principalmente, à sua representação na bovinocultura de corte e de leite. Essa última atividade cresce constantemente, tanto no mercado interno dos estados da região quanto no externo, consolidando sua inserção definitiva no quadro econômico brasileiro.

No Brasil, em 2011, a bovinocultura de leite atingiu a terceira posição em âmbito mundial, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da Índia. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (PRODUÇÃO AGRÍCOLA MUNICIPAL, 2011), a produção brasileira de leite naquele ano aumentou cerca de 4,5%, com destaque para os índices de produção da região Sul, tendo o Rio Grande do Sul respondido por 12,1% e o Paraná por 11,9% da produção nacional. A maior produtividade de leite foi registrada na região Sul do País, com 2.388 L por vaca por ano. O Estado de Santa Catarina ocupou a primeira posição, com 2.432 L por vaca por ano.

A alta nos insumos utilizados para a produção de lácteos, tanto para o produtor quanto para a indústria, alavancou o preço desses produtos no mercado brasileiro, cujos aumentos foram repassados para os consumidores. Essa alta, somada ao aumento da inflação, fica mais visível em meses de entressafra, no outono e no inverno, em virtude do vazio forrageiro.

Nos estados da região Sul, são mais praticados os sistemas extensivos e semi-intensivos de produção de leite, o que exige manejo pastoril do campo durante todo o ano. No Rio Grande do Sul, em especial, grande parte da área do estado ainda é coberta por campo natural, constituindo o chamado bioma Pampa. Essa área, de aproximadamente 176.496 km², equivale a 2,07% da área brasileira e a 63% da área territorial gaúcha. A pastagem natural do bioma Pampa se caracteriza por apresentar grande estacionalidade na oferta de forragem, em virtude da baixa população de espécies de ciclo hibernal com potencial forrageiro. Isso propicia ciclos de abundância de forragem e nutrientes, principalmente no período estival; em contraposição, a oferta forrageira do campo nativo decai drasticamente no período hibernal.

Durante o período estival, é encontrado grande aporte forrageiro de diversas gramíneas e leguminosas características da região.

O vazio forrageiro outonal é bastante prejudicial à pecuária leiteira. A qualidade nutricional do campo nativo entra em declínio, tanto pela composição das forrageiras encontradas (que se encontram em final de ciclo produtivo) quanto pela ausência de espécies que apresentem ciclo vegetativo nesse período. Geralmente as espécies estivais estão em senescência, e as espécies hibernais ainda não apresentam condições de serem submetidas, a corte ou a pastejo.

Já no período do inverno, o aporte de alimentos do campo está em seu período crítico, fazendo-se necessárias algumas práticas de manejo, como o controle da carga animal e a introdução de novas espécies forrageiras, principalmente as de estação fria, ou, então, a suplementação da dieta com volumosos ou concentrados.

Nos estados do Sul do Brasil e em alguns países do Mercosul, como Uruguai e Argentina, pecuaristas ligados à bovinocultura de corte preferem manejar adequadamente o campo natural durante o ciclo hibernal a implementar as pastagens, em virtude dos custos financeiros dessa última atividade. Porém, quando se trata de bovinos de leite, há um desafio a enfrentar: a alta e constante exigência nutricional dos animais, de que dependem os picos de produção de leite e o escore corporal das fêmeas. Esses elementos,

de fundamental importância para a bovinocultura, manifestam seu potencial genético de produção, fatores que não são atendidos somente pela vegetação nativa.

A adequação do aporte de forragem às necessidades do animal é fundamental para a manutenção da produção. Para isso é preciso utilizar forrageiras que forneçam alto valor nutritivo e sejam adaptadas a baixas temperaturas. Além disso, precisam apresentar comportamento precoce, para que possuam produção de biomassa no período outonal, podendo ser uma alternativa viável ao sistema de produção, e de ciclo vegetativo mais longo, que se estenda até ao momento em que as espécies estivais voltem a produzir significativamente.

O azevém anual é uma forrageira que corresponde a todos esses requisitos para a produção de leite no pasto, nos estados do Sul do Brasil, podendo proporcionar elevadas produções por animal e por área.

O azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) é a espécie mais cultivada entre as gramíneas forrageiras de inverno no Sul do Brasil (MORAES et al., 1995) por apresentar alto valor nutritivo, bom potencial de produção de sementes e alta ressemeadura natural, resistência a doenças e versatilidade de uso em associações (MORAES, 1994). Além disso, o azevém pode ser implantado de forma singular ou em consorciação com outras forrageiras.

Este capítulo tem por objetivo fazer uma breve revisão e discussão sobre o azevém anual e sua utilização na bovinocultura de leite, apresentando informações gerais sobre suas características, aspectos nutricionais, estabelecimento da pastagem e diferentes formas de fornecimento na dieta de ruminantes.

Caracterização morfológica e nutricional

Pertencente à família Poaceae, o azevém anual (*Lolium multiflorum*) foi introduzido no Brasil por imigrantes italianos, por volta de 1875. É originário das bacias do Mediterrâneo (FLOSS, 1988). Atualmente é a gramínea de inverno mais disseminada nos estados da região Sul do Brasil, com grande número de populações mantidas em cultivo ou na forma natural, em diferentes condições de clima, solo e sistemas de produção (SKONIESKI, 2009).

O azevém destaca-se como a forrageira de inverno com maior adaptabilidade às condições edafoclimáticas do Rio Grande do Sul; além disso, tem bom potencial de produção de forragem e capacidade de rebrote (PEDROSO et al., 2004) e elevada qualidade nutricional, podendo também ser utilizado na forma de silagem e feno.

Além disso, o azevém tem alta tolerância ao pisoteio, bom vigor inicial e alta ressemeadura natural, podendo, assim, ser utilizado para o melhoramento de pastagens naturais ou para a formação de pastagens de cultivo solteiro ou consorciado (QUADROS et al., 2003). Esse fato foi discutido por Coelho Filho e Quadros (1995), que apontam, como principais características para a satisfatória utilização do azevém em sistemas consorciados, sua elevada produção de sementes e sua resistência a doenças.

O azevém apresenta rota metabólica C_3 (FONTANELLI, 1993). Tem folhas brilhantes, característica que o distingue sobremaneira da aveia-forrageira (*Avena strigosa*). Possui lígula curta, apresentando, em sua morfologia, sistema radicular fasciculado e hábito cespitoso. Sua inflorescência é em forma de espiga dística, que apresenta duas fileiras de espiguetas (FLOSS, 1988).

É conhecida entre as forrageiras utilizadas para a produção animal pela alta qualidade nutricional, principalmente pelo elevado teor de proteína, fator que depende do manejo da dieta, pela adubação nitrogenada e estágio de desenvolvimento. De Visser et al. (1997) relatam que, no estágio vegetativo, essa forrageira apresenta alta concentração de açúcares solúveis e baixa de carboidratos fibrosos, o que interfere na imediata síntese de proteína microbiana.

Considerações sobre germoplasmas

Pela alta importância que o azevém representa entre as gramíneas de estação fria, são lançados anualmente muitos genótipos, no propósito de aumentar as características de produção. O germoplasma de azevém utilizado pela maioria dos produtores é diploide ($2n$), mas o tetraploide ($4n$) já vem despertando a atenção dos produtores (FARINATTI et al., 2006).

Entre as cultivares com germoplasma diploide, a mais utilizada é a conhecida como azevém-comum. Essa planta não possui melhoramento genético, é largamente utilizada na atividade pecuária, embora apresente um ciclo vegetativo mais curto, sendo propícia para a utilização na integração lavoura-pecuária. Entre outras cultivares com germoplasma diploide, podem ser citados o BRS Ponteio e o INIA Camaro, que apresentam alta produção de biomassa e ciclo vegetativo mais longo do que a cultivar comum.

Essas cultivares apresentam ótima produção durante as estações frias e boa adaptação a diferentes tipos de solo. Recomenda-se que sua semeadura seja realizada de março a maio, com 15 kg a 18 kg de sementes por hectare de sementes puras viáveis em semeadura em linha, e 20 kg ha^{-1} a lanço.

Os genótipos tetraploides se destacam pela alta produção de massa em condições ótimas de cultivo, possuem folhas mais largas e aparentam ser mais robustos do que os diploides (BLOUNT; PRINE, 2012); porém, apresentam pouca tolerância a temperaturas muito baixas e exigem fertilidade do solo mais acentuada para expressar seu potencial de crescimento (SUGIYAMA, 2006). São mais precoces do que os diploides, apresentam rápida produção inicial e ciclo vegetativo mais longo, podendo ser semeados no término das culturas de verão, em substituição ao consórcio com aveia (FARINATTI et al., 2006), o que pode diminuir os custos de produção.

Em virtude de algumas cultivares tetraploides terem sido desenvolvidas no Uruguai (QUADROS et al., 2003), alguns produtores do Rio Grande do Sul podem encontrar dificuldade de estabelecimento da pastagem por não conhecerem as características produtivas daquelas plantas. Entre as cultivares mais conhecidas, podem ser citadas KLM 138, INIA Escorpio, INIA Titan e Winter Star, todas elas vendidas no Rio Grande do Sul.

Para determinar o desenvolvimento desses genótipos de azevém, pode-se utilizar o conceito de temperatura base inferior, ou seja, a temperatura mínima sob a qual a planta vai se desenvolver, limitando o acúmulo de matéria seca (MS) (SENTELHAS et al., 1994).

Estudando a temperatura de base inferior para diferentes cultivares de azevém diploides e tetraploides, Medeiros (2009) concluíram que, para os genótipos diploides, a temperatura base inferior é mais baixa do que a temperatura para os tetraploides, não apresentando estacionalidade de produção em relação à temperatura média e mínima do ar. Esses dados comprovam a melhor adaptação climática dos germoplasmas diploides ao Rio Grande do Sul, características que se refletem na produção de biomassa das cultivares.

Estabelecimento da pastagem

Em meses com temperaturas baixas, o crescimento do azevém ocorre de forma lenta. O ambiente ideal para seu florescimento é observado nos meses com temperatura um pouco mais elevada (de 20 °C a 25 °C) e com umidade presente, como na primavera. Nessa estação, há maior massa forrageira no campo, de alta qualidade nutricional, que atinge seu pico de crescimento em meados de setembro/outubro.

A época de semeadura ideal para o azevém está no período compreendido entre os meses de março a maio, quando a temperatura e a umidade do solo são ideais para a quebra da dormência da semente, além do fato de as características climáticas serem adequadas à germinação da semente. Semeaduras tardias são prejudiciais à semente,

pois a luminosidade e as características do solo não atendem aos requisitos desejados, dificultando sua emergência. Os cuidados obedecidos durante a semeadura resultam na implantação mais rápida da pastagem e, conseqüentemente, na possibilidade de utilizá-la mais cedo.

Eventualmente, essa forrageira é semeada sobre o campo nativo, em consorciação com outra gramínea ou leguminosa, ou de forma singular. Sua semeadura pode ser a lanço ou em semeadura direta, dependendo do campo de utilização. Em áreas onde ela estará sobreposta ao campo nativo, normalmente se indica a semeadura a lanço.

As sementes de azevém são compactas, de tamanho médio para uma gramínea forrageira, sendo que 1.000 grãos pesam de 2,0 g a 2,5 g (FONTANELI, 1984). A semeadura deve ser feita superficialmente, respeitando uma densidade de 18 kg a 20 kg de sementes por hectare.

Apesar de ser uma gramínea de ciclo anual, pode ter comportamento perene por apresentar ressemeadura natural. Maia e Maia (2008) citam que o azevém é capaz de permanecer na área graças ao banco de sementes do solo e pelo fato de alongar os entrenós, o que eleva a inflorescência, afim de aperfeiçoar a dispersão de sementes.

O azevém adapta-se bem em solos submetidos à rotação de culturas, pois a presença de matéria orgânica é essencial para seu crescimento. Para a correta adubação, deve ser feita a análise de solo, pois o estabelecimento e a produtividade do azevém dependem do pH do solo e do aporte de certos nutrientes, como potássio e fósforo, além do nitrogênio presente no solo. Este último influencia diretamente no tamanho e no alongamento das folhas, e também no número e na permanência de afilhos jovens, tanto em plantas individuais quanto naquelas em consorciação (LESAMA; MOOJEN, 1999), além de estar altamente correlacionado com o teor de proteína na planta.

Uso de azevém anual na dieta de ruminantes

Animais ruminantes apresentam diferenciação em sua digestão, principalmente em relação a proteínas e carboidratos. Assim, a composição da dieta e os cuidados com ela não variam apenas de acordo com fatores como categoria, estado fisiológico ou composição da dieta, mas também com a condição do ambiente ruminal. Segundo Russel et al. (1992), a qualidade e a quantidade dos produtos provenientes da fermentação ruminal são diretamente dependentes da atividade da flora ruminal (bactérias, protozoários e fungos) e da inter-relação entre esses microrganismos. Discutindo essa característica, Acuri e Mantovani

(2006) atribuem ao rúmen a capacidade de ser o órgão de maior capacidade metabólica, pois, além de ter funções fisiológicas e nutritivas, pode ter funções imunológicas.

Entre esses grupos de microrganismos ruminais, as bactérias representam o grupo mais numeroso (KOZLOSKI, 2012). Tais microrganismos são responsáveis por grande parte da degradação dos nutrientes no rúmen, sendo seu crescimento dependente da quantidade de proteína e energia da dieta. A parte proteica da dieta pode ser dividida em proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR). A fração degradável ocorre principalmente pela ação de peptidases secretadas por esses microrganismos, resultando em aminoácidos, peptidases e amônia, produtos que estimulam o crescimento da microbiota ruminal (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001).

Russel et al. (1992) descrevem que, para haver uma máxima síntese microbiana ruminal, a dieta deve prover uma quantidade e uma qualidade adequadas de PDR, para que sejam evitadas perdas proteicas na forma de amônia. Para a máxima utilização dessa proteína pelos microrganismos ruminais, sugere-se que a dieta seja composta por 10% a 13% de PDR, e que 56% dos carboidratos que compõem essa ração sejam de carboidratos não estruturais (HOOVER; STROKES, 1991). Em relação a forragens, Fulkerson et al. (1998) indicam que, para terem um bom valor nutricional, devem ter um alto teor de carboidratos solúveis associados aos aminoácidos, juntamente com baixo teor de carboidratos estruturais. A proteína deve ser de baixa degradabilidade ruminal, aumentando, assim, o teor de PNDR.

Conforme Van Soest (1994), os carboidratos podem constituir de 50% a 80% da matéria seca (MS) de volumosos e concentrados, e sua disponibilidade para o animal vai depender da capacidade desse de quebrar as ligações glicosídicas e de outras substâncias, como os compostos fenólicos. Os carboidratos não estruturais representam a porção desse nutriente que é de rápida digestão, sendo compostos por amido, açúcares solúveis e pectina. No caso de alimentos volumosos, normalmente são encontrados na forma de polissacarídeos ou dissacarídeos, sendo que a sacarose é mais frequente nas plantas. Ela pode ser armazenada no caule ou utilizada como precursora da síntese do polissacarídeo de reserva, o amido (ANTUNES; RODRIGUES, 2006).

Os carboidratos não estruturais são digeridos principalmente no rúmen, pelos microrganismos, e a energia fornecida pela sua degradação desempenha papel importante para a síntese de proteína microbiana, já que essa pode ser limitada pela baixa disponibilidade de carboidratos não estruturais, os quais são fontes de ATP. Grande parte do processo de fermentação desse tipo de carboidrato no rúmen é realizada pelas bactérias, enquanto uma

pequena parte, por protozoários e fungos. Os produtos dessa fermentação são: ácidos graxos voláteis, CO₂, H₂, metano e lactato, e ATP (CAÑIZARES et al., 2009).

A adequação da oferta de forragem às necessidades do animal é fundamental para a manutenção da população ruminal e, conseqüentemente, para a sua produção. Nesse aspecto, o azevém apresenta alto potencial nutritivo, o que se reflete diretamente na produção do rebanho. Entretanto, muitos sistemas alimentares adotam estratégias equivocadas, principalmente utilizando suplementos de alto valor proteico e baixa complementação energética, o que pode resultar em baixa eficiência de utilização do nitrogênio do azevém, pelo desbalanço da relação carbono:nitrogênio da dieta (NABINGER et al., 1999) e conseqüente perda de nitrogênio e de desempenho.

A resposta do animal a dietas à base de azevém não depende somente da resposta fisiológica, mas, assim como ocorre com as demais forrageiras, depende também do estágio em que a planta se encontra. Sabe-se que, assim como os carboidratos solúveis e estruturais, o nitrogênio também é extremamente necessário ao crescimento, ao desenvolvimento e à manutenção da microflora ruminal.

Conhecida por ser uma pastagem com alto valor proteico, essa queda de eficiência fica mais explícita em seu estágio vegetativo, quando, então, a quantidade de carboidratos solúveis é alta e a parede celular é pouco espessa. Essa característica pode causar problemas, pois esse nitrogênio não fica disponível para a síntese microbiana; e, não havendo carboidrato capaz de fornecer energia necessária para isso acontecer, haverá perdas desse nitrogênio na forma de amônia.

McCormick et al. (2001) citam que esse deficit na sincronização entre uma fonte de carboidrato e a digestão do azevém tem como resultado um aumento da absorção de amônia ruminal no sangue e a conversão em ureia no fígado. Segundo Kolver (2003), o fator que limita a produção de leite quando essa é a base de pastagens de alta qualidade é o fornecimento de energia metabolizável. Esse fator demonstra que, ao formular uma dieta utilizando azevém como fonte de volumoso, deve-se levar em consideração a composição bromatológica da planta e seu estágio fenológico para obter uma menor perda do nitrogênio fornecido pela planta ao animal. Para isso, o aumento de consumo de energia digestível, proveniente de alimentos concentrados energéticos, pode aumentar a retenção desse nutriente.

Em contrapartida, a escolha errônea desse concentrado pode acarretar problemas de digestão da fibra. Carboidratos altamente solúveis, por terem taxa de fermentação rápida, tendem a diminuir o pH ruminal; conseqüentemente, baixam a eficiência ruminal,

prejudicando a microflora. Em plantas muito jovens e tenras, a parede celular é significativamente menos espessa, tendo maior taxa de passagem pelo rúmen. Esse fator interfere no tempo de ruminação e na consequente diminuição de produção de saliva, assim como também diminui o tamponamento do ambiente ruminal. Apesar de o azevém no estágio vegetativo ser satisfatório para as exigências de vacas de leite, alguns cuidados devem ser tomados na formulação total da dieta.

Em bovinos de leite com dietas balanceadas, esse distúrbio não é muito comum, pois sua dieta, além de ser constituída de pastagem e do concentrado, contém um alimento mais fibroso, conceituando-se, assim, o termo “fibra efetiva”. Para maximizar a produção e a estabilidade do ambiente ruminal, animais ruminantes, principalmente bovinos de leite, precisam da presença desse componente em sua dieta (ALLEN, 1997).

Ocorrendo o balanço energético negativo (BEN) no terço inicial da lactação, a exigência nutricional vai variar conforme a raça do rebanho, a categoria e a idade, resultando na energia necessária para se produzir o leite. Para aumentar a quantidade de energia da dieta, esses ruminantes consomem uma quantidade de concentrado normalmente superior aos demais, principalmente para aumentar a flora ruminal e melhorar a degradação da fibra. Mas um dos problemas mais frequentes causados pela alta ingestão de alimentos concentrados é a acidose, pois a mastigação e a ruminação dessa categoria de alimentos são menores do que a de alimentos fibrosos, gerando uma menor produção de saliva (VAN SOEST, 1994). Para manter o pH em torno de 6,2 a 6,5 – nível ideal para a digestão da fibra e a síntese proteica –, na dieta empregam-se fibras longas, denominadas de fibras efetivas, que estimulam a ruminação. Segundo Dirksen (1981), essas fibras são de extrema importância para regular o pH, aumentando a secreção de saliva até três vezes mais.

Para bovinos de leite, a quantidade de fibra efetiva na ração deve ser igual ou superior a 20% da MS, empregando-se, ou não, fenos confeccionados com base em gramináceas ou leguminosas, em que as partículas fornecidas devem ter aproximadamente 4 cm. Tamanhos menores que esse apresentariam taxa de passagem ruminal maior, não obedecendo ao conceito de fibra efetiva e não estimulando a ruminação e a salivação. Partículas maiores também são desaconselhadas, pois que podem dificultar a ingestão.

Apesar desse fato, alguns autores indicam que bovinos de leite conseguem uma alta produção utilizando somente dietas à base de azevém. Ribeiro Filho et al. (2009) comprovaram que bovinos de leite submetidos a uma dieta com alta oferta dessa forrageira obtiveram uma produção de leite superior a 20 kg por dia, não prejudicando o peso desses animais no terço médio de lactação. Para cada 1 kg de matéria seca de azevém oferecido a

mais, a produção de leite aumentou 0,2 kg por vaca, por dia, tendo o aumento na produção sido de 0,8 kg de leite por quilograma de matéria orgânica digestível ingerida.

O estágio fisiológico do animal também deve ser associado à composição da dieta. Com base nos dados do National Research Council (NRC) (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1988), vacas no início da lactação têm uma demanda maior de FDN (28%) do que vacas no pico de produção, para as quais a exigência de FDN é de 25%. Dietas com teor de fibra permitem ao animal consumir uma quantidade maior de energia, permitindo, com isso, o atendimento de elevadas exigências nutricionais.

Passado o período crítico de produção de leite e de alta mobilização de nutrientes, o consumo de FDN volta a 28%, diminuindo a gordura do leite, já que as necessidades nutricionais desse animal são menores do que aquelas no auge da produção de leite. Vacas secas em gestação podem consumir 35% de FDN na dieta, podendo esse valor chegar, no máximo, a 38%. Em pastagens de azevém, esses valores são encontrados somente no estágio vegetativo. A composição química aproximada da pastagem de azevém em distintos estágios fenológicos pode ser observada na Tabela 1.

Os dados acima demonstram que é preciso ter cautela com a composição dessa graminéa com o avançar da sua idade, principalmente durante o florescimento. À medida que

Tabela 1. Composição bromatológica em diversos estágios fenológicos da pastagem de azevém anual, implementada no Estado do Rio Grande do Sul.

Parâmetros	Estágios		
	Vegetativo	Pré-florescimento	Florescimento
Matéria seca (%)	14,20	17,69	24,40
Proteína bruta (% de MS)	23,64	16,69	13,74
Cinzas (% de MS)	9,70	9,57	6,67
Fibra em detergente neutro (% de MS)	37,72	54,86	61,50
Fibra em detergente ácido (% de MS)	22,31	32,36	35,04
LDA (% de MS)	2,89	4,75	5,64
NIDN (% de MS)	23,38	25,28	26,01
NIDA (% de MS)	2,89	4,95	7,34

LDA = Lignina em detergente ácido; NIDN = Nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA = Nitrogênio insolúvel em detergente ácido.

Fonte: adaptado de Amaral et al. (2011).

o estágio fisiológico do azevém avança, suas características nutricionais, especialmente aquelas ligadas ao teor de FDN e à proteína, invertem-se.

No florescimento pleno, pelo aumento da lignina e o conseqüente espessamento da parede celular, a aderência das bactérias ruminais fica prejudicada, limitando o aproveitamento da proteína dessa pastagem. Sugere-se que, nesse momento, a área de azevém seja descartada ou destinada a outros propósitos, como a produção de feno de baixa qualidade.

Manter vacas em lactação em campo de azevém no final de seu estágio fenológico pode refletir-se diretamente na produção de leite, principalmente na de gordura, pois que, se a fermentação ruminal for afetada, isso poderá prejudicar a disponibilidade de precursores da síntese de gordura, lactose e proteína do leite.

Deve também ser levada em consideração a interação solo-planta-animal, pois que os sistemas de pastejo utilizados podem interferir diretamente na produção e na condição corporal do animal. O pastejo contínuo e o rotativo são amplamente utilizados na criação de bovinos de leite. Eles apresentam pontos favoráveis e desfavoráveis, e devem ser escolhidos conforme características do solo, da área e da forrageira, e também de acordo com o número de animais.

Sua escolha deve ser baseada na maximização da produção, por meio da forrageira utilizada, sem, no entanto, prejudicar sua produção. Segundo Oliveira e Faria (2006), antes de decidir pelo sistema a ser utilizado, o produtor precisará analisar a conveniência e o grau de dificuldade das operações e a viabilidade da manutenção da pastagem, a depender das condições locais.

Os principais cuidados a tomar são: a) quantificar todos os insumos que serão empregados no meio de produção, levando em conta o potencial produtivo da pastagem versus a lotação animal por hectare; b) a produção anual (inverno e verão) das forrageiras escolhidas; e c) a quantidade de alimento consumida para a produção de 1 kg por leite.

Embora o manejo contínuo possa responder por uma maior produção por animal com correto manejo do pasto, ambos os métodos de pastejo podem apresentar o mesmo desempenho produtivo do rebanho.

Sistemas de pastejo contínuo e rotacionado

O pastejo contínuo tem como principal característica a permanência dos animais no pasto durante todo o ciclo produtivo da pastagem, ou durante o ano, ou, ainda, durante

as estações, devendo ser utilizado de preferência quando a forrageira possuir porte baixo. A disponibilidade de forragem deve ser controlada para que não haja ocorrência de sub ou superpastejo, o que afetará o desempenho da planta e do ruminante.

O método de sistema contínuo exige menor mão de obra e proporciona maior seletividade do alimento pelo animal. O uso de cargas animais adequadas resulta no bom aproveitamento da pastagem e concorre para que haja menos desuniformidade da forragem, com áreas de alta ou baixa desfolha. A unidade animal sugerida para esse tipo de sistema é de 1,5 UA ha⁻¹, uma lotação considerada baixa em sistemas de larga escala de produção.

Por haver alta seleção, a forragem que foi produzida não é consumida integralmente e a pastagem é degradada, com a formação de sítios de pastejo e áreas de rejeição, em virtude de não haver períodos de descanso e recuperação. Quando a lotação animal é baixa, podem ser obtidos bons ganhos de produção por animal nesse sistema, até mesmo superiores aos do sistema de pastejo rotacionado.

Em estudo realizado por Cauduro et al. (2006), foi observado que, com uma carga animal baixa sob pastejo contínuo, o azevém anual apresenta quantidade de folhas e densidade de perfilhos superiores aos do pastejo rotativo.

O azevém, apesar da altura, se adapta bem ao pastejo contínuo, principalmente quando não consorciado a outra forrageira. Por ter uma boa persistência ao pisoteio e um alto valor nutritivo, responde às expectativas dos produtores. Porém, a qualidade nutricional pode ser prejudicada com a associação a outra forrageira. Nesse tipo de pastejo, as espécies utilizadas devem ter o mesmo nível de aceitação pelos animais; as menos aceitas tendem a dominar o dossel (MARASCHIN, 1994).

Deresz e Mozzer (1990) determinaram que, para maximizar a produção de leite em pastejo contínuo, a massa de forragem deve ser de 1.500 kg a 2.500 kg de MS por hectare. Essa disponibilidade em pastagens de azevém nesse sistema vai depender do objetivo do produtor, do manejo da forrageira, da carga animal e da raça leiteira.

Conforme relatado por Gibb e Treacher (1976), para o animal exercer sua máxima capacidade de ingestão, a oferta de forragem deve ser no mínimo três vezes maior do que sua capacidade de consumo, o que pode ser obtido no método contínuo.

Como já abordado, sob pastejo contínuo, o teor de matéria seca do campo pode ser afetado pela falta de descanso da vegetação, causada pela alta pressão de pastejo, o que afeta toda a sua estrutura, como altura, densidade e relação folha-colmo, resultando em aspectos negativos na produção de leite por vaca.

Diferentemente do sistema discutido, o pastejo rotacionado é realizado pela divisão do campo em piquetes, que são utilizados em sequência normalmente predeterminada, sustentando-se no tempo de descanso da forrageira, o que pode resultar em maior número de perfilhamentos e desenvolvimento de raízes.

Difante (2003) cita que a estrutura do pasto e a produção da massa de forragem estão diretamente relacionadas com a densidade de perfilhos. O perfilhamento é regulado, entre outros fatores, pela temperatura (levando em consideração a espécie forrageira), pela luz e pelo pastejo. Esse processo vegetativo pode ser prejudicado em pastagens muito densas em virtude da competição por luz e nutrição mineral. Um alto índice de área foliar, como pode ocorrer em campos com pastejo contínuo ou manejados incorretamente no sistema rotativo, pode gerar maior mortalidade de perfilhos.

Segundo Cavalcante (2001), perfilhos menores desaparecem logo, pelo sombreamento causado por um elevado índice de área foliar, fato esse que está relacionado com a escassez de carbono.

Levando em conta apenas o contexto de morfogênese e da produção forrageira, conclui-se que certas gramíneas, como o capim-elefante (*Pennisetum purpureum*), que apresenta alto índice de perfilhamento, adapta-se melhor a esse tipo de manejo. Mas, quando se trata de índices de produção de leite em sistemas baseados em pastagens, podem ser inseridos vários tipos de gramínea dentro do pastejo rotativo, adotando-se medidas para que o sistema atenda ao objetivo esperado, como adubação do solo e taxas de lotação altas e condizentes com a massa de forragem presente no momento.

No sistema rotacionado, utilizar a correta taxa de lotação é muito importante, principalmente para controlar a taxa de desfolha, que deve ser superior à do pastejo contínuo, cuja taxa é lenta. No pastejo rotacionado, a seletividade do animal no campo diminui, aumentando, assim, a disponibilidade de folhas e garantindo a correta densidade de cobertura do solo. Isso facilita a ruminação do animal, o que vai resultar em aumento da eficiência de utilização do alimento e, conseqüentemente, em maior produtividade, pois o animal gastará menos energia (BENEDETTI, 2002).

Comparando a taxa de lotação de cada um dos sistemas com a respectiva produtividade, Castle e Watkins (1979) concluíram que, quando a taxa de lotação é de baixa a moderada, o pastejo contínuo apresenta resultados melhores ou similares aos do rotativo, mas, quando a taxa é alta, o rotativo é que tem desempenho superior.

O número de piquetes a ser utilizado é variável e deve ser calculado depois de estimados os períodos de ocupação dos animais. Esse tempo de permanência pode ser influenciado pelo tipo de sistema empregado na propriedade (extensivo, semi-intensivo e intensivo), o que também influencia o número de piquetes. A adubação é outro fator a ser considerado, principalmente a nitrogenada. Nesses casos, o período de ocupação deve ser diminuído.

A lotação animal instantânea no método rotacionado pode ser superior à no método contínuo, sendo dependente da espécie forrageira, da fertilidade do solo, da espécie animal e do sistema de produção. Entretanto, exige mais mão de obra e necessita de uma infraestrutura mais elaborada, principalmente no que concerne ao número de cercas empregadas.

Para estimar a carga do rebanho a ser utilizada, o método mais empregado é a oferta de forragem com base na matéria seca total da espécie forrageira. Para sistemas extensivos até semi-intensivos, sugere-se que a carga seja de 7 kg a 12 kg de MS do alimento por quilo de peso vivo. Já para a produção intensiva, deve ser de 6 kg a 9 kg de MS do alimento por quilo de peso vivo.

No âmbito da bovinocultura de leite, o aumento da produção dos animais é diretamente influenciado pela espécie forrageira utilizada e seu perfilhamento. Os animais com alta produção podem ser manejados no sistema de piquetes, onde poderão consumir maior aporte de matéria seca, o que resultará em melhoria da condição nutricional do animal.

A utilização do azevém anual em sistemas de manejo rotacionado com bovinos de leite é pouco estudada no Brasil. Em estudo recente, Ribeiro Filho et al. (2009), avaliando o efeito de duas ofertas de azevém anual (de 25 kg e 40 kg de MS por vaca por dia) sobre a produção de leite e o consumo de forragem em pastejo rotativo com vacas da raça Holandesa em terço médio da lactação, constaram que, com alta oferta de forragem, as vacas podem ingerir mais de 16 kg de MS, do que resultará a produção de mais de 20 kg de leite por vaca por dia, reduzindo-se essa produção aproximadamente a 0,2 kg de leite a cada 1 kg de diminuição da matéria seca de azevém oferecida. Os autores também observaram que, pela rotação dos animais, como critério de manejo podem ser utilizados 50% da altura inicial, evitando-se diminuição na oferta e no consumo. Os dados encontrados nesse estudo, no que respeita à produção e à composição do leite, podem ser observados na Tabela 2.

Maraschin e Mott (1989), pesquisando a influência de três ofertas diferentes de azevém (11,4 kg, 15,9 kg e 20,4 kg de MS por vaca por dia), observaram pouca diferença na produção diária de leite por vaca (16,0 kg, 15,2 kg e 15,8 kg de leite por vaca por dia), mas evidenciaram diferença na produção de leite por hectare. Quanto maior foi a oferta para o animal, menor foi a produção de leite.ha⁻¹.

Tabela 2. Composição e produção de leite de vacas da raça Holandesa em pastejo rotativo, submetidas a duas ofertas de massa de forragem (25 kg e 40 kg MS por vaca por dia).

Produção e composição do leite	Massa de forragem	
	25 kg de MS por vaca por dia	40 kg de MS por vaca por dia
Produção de leite (kg por dia)	18,4	21,9
Teor de gordura (g por kg)	33,9	33,1
Teor de proteína (g por kg)	28,3	29,0
Produção de gordura (g por dia)	631,2	709,9
Produção de proteína (g por dia)	526,5	616,9

Fonte: adaptado de Ribeiro Filho et al. (2009).

O azevém adapta-se bem aos dois métodos de pastejo, comentados nos distintos sistemas de produção de leite. O que deve influenciar seu desempenho em cada um deles é a intensidade de pastejo empregada, principalmente quando há consorciação dessa gramínea com leguminosas, as quais representam hábito de crescimento diferente, maior palatabilidade e maior qualidade nutricional, o que pode influenciar na seletividade dos animais em pastejo.

Conсорciação do azevém

Pelas suas características, o azevém é, entre as gramíneas temperadas, uma das espécies mais utilizadas em consorciação com outras espécies, principalmente aveia (*Avena ssp.*) e trevos. Para haver adequado planejamento forrageiro, deve-se ter total conhecimento do potencial biológico das forrageiras a serem empregadas.

Roso et al. (1999) citam que a combinação de diferentes espécies forrageiras anuais de inverno tem como objetivo combinar os picos de produção da matéria seca atingidos em diferentes épocas, o que vai resultar em maiores produção e período de utilização da pastagem.

A utilização de leguminosas pode diminuir os custos de produção em comparação com os custos com pastagens somente à base de azevém, principalmente em relação à adubação. Por possuírem elevado aporte proteico e mineral (principalmente em relação a Ca e P), elas resultam em aumento da produção animal, por apresentarem menor variação na sua composição nutricional do que as gramíneas. Essas características promovem uma

melhor distribuição da pastagem ao longo do ano, melhorando, assim, a fertilidade do solo (BARCELLOS; VILELA, 1994).

Pode-se atribuir ao fator econômico um dos principais objetivos da consorciação de azevém com leguminosas, pois essa consorciação, além de melhorar a qualidade do solo, graças à fixação de N, característica dessas espécies, fornece adequada relação entre solo e planta.

Lesama (1997) mostra que o aporte de N no sistema solo-planta animal pode ser feito pelo uso de fertilizantes nitrogenados ou de leguminosas. Também segundo esse autor, há melhor qualidade da dieta, o que garante maiores ganhos por animal.

Trevo-vermelho (*Trifolium pratense*), trevo-vesiculoso (*Trifolium vesiculosum*) e trevo-branco (*Trifolium repens*), assim como cornichão (*Lotus corniculatus*), estão entre as leguminosas mais utilizadas em consórcio com o azevém anual no Rio Grande do Sul. Essas leguminosas têm alta aceitabilidade pelos animais e promovem altos ganhos produtivos no cultivo com gramíneas, em especial com azevém. Porém, um manejo errado da massa de forragem durante essa associação entre diferentes forrageiras pode desequilibrar a estrutura da pastagem, ocorrendo supremacia de uma sobre a outra, por elas apresentarem diferentes hábitos de crescimento. Por exemplo, o desbalanço na oferta da forragem consorciada pode resultar em consumo excessivo de leguminosas; isso tende a causar problemas metabólicos muito comuns, como o timpanismo ou o meteorismo. Algumas leguminosas apresentam, em sua composição, saponinas – que são glicosídeos pertencentes ao metabolismo secundário da planta, com função emulsificante (WINA et al., 2005) –, as quais estão relacionadas com esse distúrbio.

Em relação às gramíneas, as mais utilizadas nesse casamento com o azevém são aveia-branca (*Avena sativa*) e aveia-preta (*Avena strigosa*). A época de semeadura de ambas as espécies é a mesma, mas, por ter ciclo mais precoce, o pastejo da aveia inicia-se em maio (+45 dias após a semeadura) e pode se estender até agosto, enquanto, do azevém, o período hábil ao pastejo inicia-se em torno de 60 dias após a semeadura, permitindo pastejo até outubro. A vantagem da utilização das duas culturas é que, enquanto o azevém se estabelece, a aveia já está em ponto de pastejo. Ambas as forrageiras apresentam outras características semelhantes: resistência a pisoteio e resistência a doenças.

Estudando o valor nutricional de pastagens de azevém consorciadas, Skonieski et al. (2011) concluíram que o consórcio com aveia alterou a composição estrutural e o valor nutritivo da pastagem, aumentando o período de utilização dessa gramínea temperada, apesar do florescimento do azevém ter sido tardio, provavelmente em decorrência do crescimento

precoce da aveia. Os autores também observaram que, quando o azevém esteve consorciado com o trevo-branco, a pastagem apresentou maior teor de proteína bruta.

Conservação do azevém anual

Na região Sul, os sistemas de produção de leite baseiam-se, em sua grande maioria, em pastagens. Esse forrageamento raramente é realizado somente com forrageiras frescas, em virtude da grande exigência de nutrientes dos animais e da necessidade de manter constante o aporte de nutrientes ao longo de todo o período de lactação da vaca.

A inclusão de forragens conservadas, como silagens e feno, é uma opção largamente utilizada. Outro objetivo da conservação de alimentos para os animais é garantir que a produção não seja afetada pela oferta ou pelo valor nutritivo das espécies forrageiras em determinadas épocas do ano, ou por problemas climáticos que possam afetar a perpetuação de forrageiras ou a colheita de grãos.

Com o avanço do estágio fenológico das pastagens, a produção de matéria seca aumenta, havendo decréscimo no aporte nutricional. Van Soest (1994) relata que, com o aumento da idade da planta, ocorre alteração na parede celular, havendo um aumento no teor de celulose, hemicelulose e lignina, e uma diminuição no conteúdo celular.

Essa mudança da composição estrutural ao longo do ciclo vegetativo da planta, como também do ciclo climático durante o ano, como variações no solo, resulta na procura por mecanismos que permitam que a forrageira possa ser consumida em seu melhor estado nutritivo, em qualquer época do ano, como opção de alimento em tempos de escassez.

Silagem

A ensilagem é o método de conservação de forragem mais satisfatório em termos nutricionais. É baseada na conservação do alimento por meio de processos fermentativos da matéria orgânica, principalmente a fermentação láctica. Esse método de conservação causa a diminuição de pH, auxiliado pelo ambiente em anaerobiose. A associação do baixo pH com o ambiente anaeróbico é responsável pela estabilização da qualidade nutricional do material.

Devem ser observados, na escolha da espécie forrageira para a ensilagem, alguns fatores, como: valor nutricional e teor de umidade, produção de matéria verde, tamanho e

características do rebanho e tempo de consumo dos animais. Essas características também vão influenciar no dimensionamento e na escolha do silo a ser utilizado.

O estágio vegetativo é o ideal para o corte da planta a ser ensilada, por apresentar equilíbrio entre a qualidade nutricional e a produção de MS. O intervalo entre cortes deve ser obedecido para aperfeiçoar a produção e a qualidade das espécies forrageiras. Gomide e Zago (1980) sugerem que, para gramíneas temperadas, esse intervalo seja de 4 semanas.

Os cuidados com esse alimento conservado não devem ser restritos ao processo de ensilagem; devem ser estendidos à retirada do material do silo e ao tempo de exposição do material durante o consumo do animal, pois quanto maior o contato com o oxigênio, maior a deterioração do material, diminuindo sua palatabilidade e seu consumo.

Com o crescimento da bovinocultura de leite, a utilização de alimentos conservados na forma de silagem, como grãos e forrageiras, tornou-se indispensável. Nessas criações, a silagem é usada tanto como suplemento para sistemas em pasto, quanto como base da alimentação. Alguns produtores optam por utilizar esse tipo de alimentação em certos períodos, como o vazio forrageiro, em vez da implantação de pastagens, o que pode acarretar aumento de custos de produção.

As silagens tradicionalmente mais utilizadas para a produção de leite no Rio Grande do Sul são as silagens de milho e sorgo, as quais preenchem os requisitos necessários para a confecção de alimento conservado de alta qualidade e composição bromatológica favorável. Ambas, combinadas com a silagem de azevém, podem manter altos níveis de produção de leite (BERNARD et al., 2002).

Embora a produção de silagem de azevém anual venha estimulando um interesse crescente entre pesquisadores e produtores, no Brasil ainda não são encontrados estudos sobre silagem de azevém anual, tanto no que concerne à sua composição química, quanto no que respeita à alimentação de bovinos de leite. Isso se deve, provavelmente, ao fato de essa silagem ter maior custo de produção e baixo teor de MS no estágio vegetativo.

Em estudo realizado no Canadá, Kunelius e Boswall (2009) afirmaram que, em adubações nitrogenadas excessivas, o azevém anual pode acumular alta concentração de nitrato, característica esta que aqueles autores atribuem à silagem. Silagens com mais de 0,8% de nitrato em sua composição apresentam toxidez para o ruminante.

A alta umidade do azevém no estágio vegetativo, aliada às condições meteorológicas, pode interferir na qualidade da forragem, pois abaixa a fermentação anaeróbica em virtude do aumento do pH, diminuindo, em consequência, a palatabilidade e a digestibilidade

do material, principalmente se for fornecido em temperaturas elevadas. Para evitar essa situação, deve ser utilizada a técnica de pré-emurchecimento ou murcha em campo, o que vai induzir o aumento no teor da MS desse material, facilitando o processo fermentativo e reduzindo a incidência de fermentações secundárias.

Raymond et al. (1986) relatam que, com a murcha, é possível reduzir a concentração dos carboidratos responsáveis pela produção de ácido lático e estabilizar a fermentação. Após a murcha, o teor ideal de MS do material a ser ensilado deve ser de 35% a 40%. Ceifar o azevém e ensilá-lo sem obedecer ao tempo de murcha aumenta o escoamento de efluentes e a perda de nutrientes digestíveis (KUNG JUNIOR, 2002).

Quando não for possível fazer o pré-emurchecimento, ou se não for realizado com o cuidado necessário, a silagem poderá apresentar pH mais elevado, aumentando o teor de amônia e, conseqüentemente, a queda de aceitação pelo animal. Uma solução viável e de fácil aplicação é a utilização de inoculante bacteriano, que pode auxiliar a estabilizar o pH do material ensilado e evitar a proliferação de bactérias indesejadas.

A quantidade de umidade do azevém diminui com o avanço do estágio fenológico. Entretanto, esse aspecto não é favorável à silagem, uma vez que há redução no conteúdo celular e, conseqüentemente, nos teores de nutrientes solúveis, além de aumento no teor de MS, em virtude do acúmulo de parede celular. Isso proporciona maior volume de massa a ser ensilada; porém, dificulta a armazenagem por conta da resistência do material à compactação. Como consequência, pode haver aquecimento excessivo e ocorrência de mofo, que surge pela presença de oxigênio oriundo da má compactação.

Para ser considerada ideal para o consumo de ruminantes, a silagem deve ter em média de 33% a 35% de matéria seca (MS), mais de 65% de nutrientes digestíveis totais (NDT), no máximo 50% de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) abaixo de 35%. O valor de NDT é normalmente relacionado com a quantidade de fibra presente na silagem; um valor inferior ao recomendado pode ser resultado de mais fibra, o que ocasionará um maior preenchimento do rúmen e conseqüente diminuição da ingestão de alimentos, interferindo diretamente na energia líquida de lactação.

Castro et al. (2008), pesquisando o efeito do teor de MS da silagem de azevém sobre o desempenho produtivo de vacas da raça Holandesa, demonstraram que a murcha adicional do azevém em mais de 40% de MS aumentou a produção do leite, sem interferir em sua composição. Entretanto, os autores não sugerem a silagem com alto teor de MS, pois tende a diminuir o consumo de silagem pelas vacas dessa raça, o que implica maiores custos de produção, já que outros alimentos devem ser adicionados à dieta. Já Bernard

(2003) demonstrou que a silagem de azevém aliada à silagem de milho, além de aumentar a ingestão de MS pelo animal, também foi responsável pelo aumento da produção e da porcentagem de proteína no leite.

Como demonstrado, a silagem de azevém pode ser uma ótima opção alimentar para vacas em lactação, principalmente por ter uma alta produção de massa forrageira, de alto valor nutritivo, enfatizando o teor proteico. Mas, para evitar problemas posteriores ao ensilamento, como a presença de mofo e a alta concentração de amônia, o emurchecimento prévio deve ser obedecido.

Feno

O processo de fenação tem por objetivo suspender a atividade respiratória da planta, mantendo as características nutritivas de forrageiras por meio de um processo de desidratação, resultante do corte e da posterior secagem do material, sendo totalmente dependente das condições climáticas. O armazenamento deve ser feito em local adequado, protegido de umidade e invasores. Pode ser armazenado por longos períodos, sem risco de grandes perdas do seu valor nutritivo.

Para a fenação, a forragem deve ter de 70% a 80% de umidade no momento do corte (ROTZ, 1995). O material cortado deve ser bem espalhado no campo e, embora o processo de desidratação comece rápido, sofre interferências de fatores climáticos, como umidade relativa do ar e velocidade do vento. As características morfológicas provocam diferença na velocidade de perda de água. Assim, folhas geralmente perdem água mais rápido do que caules.

Da mesma forma como se dá no processo de ensilamento, a fenação do azevém pode ser dificultada pelo alto índice de umidade. Assim, mesmo considerando que a secagem da amostra tenha sido feita com êxito, após a fenação ainda podem ocorrer alguns problemas, como o aparecimento de mofo. Alguns cuidados devem ser tomados para garantir que o azevém apresente um nível adequado de umidade para ser armazenado. Aconselha-se manter um teor de umidade de 15% para fardos redondos e de 18% para fardos quadrados (HANCOCK, 2011).

O valor nutricional do feno é inferior ao da silagem, pois, no momento do corte, a forrageira fica exposta ao ar, interrompendo a respiração da planta, o que resulta diretamente na perda de carboidratos solúveis. Collins e Coblenz (2007) afirmam que a perda de compostos nitrogenados é menor do que a perda de carboidratos solúveis ocasionada

pelas chuvas e pela perda de folhas; e que a concentração de N amoniacal é maior durante a desidratação, o que diminui a concentração de nitrato, que é tóxico para ruminantes. Esses autores ainda relatam que as maiores perdas de MS durante o armazenamento do feno à base de forrageiras com alta umidade, como o azevém, devem ser associadas com a permanência da respiração celular e o aparecimento de fungos, bactérias e leveduras.

O feno de alfafa é o mais utilizado nos sistemas de produção de leite, sendo muitas vezes associado à silagem de milho. Os reflexos produtivos de ambos são conhecidos: aumentam tanto a produção quanto as características da composição do leite. Já os efeitos da utilização de feno de azevém para a produção de leite ainda são pouco conhecidos, principalmente pelo pouco emprego desse alimento.

Como o azevém anual é implantado como alternativa ao vazio forrageiro durante o outono e o inverno, acaba sendo consumido pelos animais no campo, algumas vezes na forma de silagem. As dificuldades na pré-secagem do azevém, aliadas às condições climáticas do Rio Grande do Sul, principalmente à alta precipitação pluvial durante a primavera, podem ocasionar pouco interesse do produtor em utilizar essa forma de conservação. Mas ele precisa se dar conta que, assim como a alfafa, o feno de azevém tem alto valor nutritivo, podendo fornecer o aporte nutricional necessário, e obedece aos conceitos de fibra efetiva, tanto durante o balanço energético negativo (BEN) quanto para outras fases de lactação.

Considerações finais

O azevém anual é muito versátil, sendo capaz de adaptar-se a muitos tipos de solo e sistemas de produção. É uma ótima opção a ser utilizada como base da dieta de bovinos de leite em virtude de seu aporte de nutrientes e da boa produção dessa forragem. Como se sabe, quanto mais alto for o teor de nutrientes fornecidos pela pastagem, menores serão os gastos com nutrientes oriundos de alimentos concentrados. Entretanto, alguns cuidados devem ser tomados antes de sua semeadura, como densidade e clima propício.

Para utilizá-lo como forragem conservada, em especial a silagem, devem ser respeitadas as características da planta. Tendo alto teor de umidade, deve ser aplicada a técnica de pré-emurchecimento.

Para a fenação, deve-se conciliar o estágio de maior produção de massa pela planta com o estágio de maior aporte de nutrientes. Esses fatores resultam em boa produção de feno e com qualidade razoável.

As técnicas de conservação de forragem são de altíssima importância para os sistemas de produção de leite, pois favorecem uma baixa ou quase nula oscilação na oferta e na qualidade do alimento fornecido aos animais, diminuindo problemas decorrentes da alteração da microbiota ruminal e preservando, conseqüentemente, a produtividade dos animais.

A fim de otimizar a utilização do nitrogênio em dietas à base de azevém, novas cultivares vêm sendo desenvolvidas, no propósito de aumentar significativamente os teores de carboidratos solúveis, principalmente a frutose. Como, no Brasil, ainda não foram desenvolvidos estudos sobre tais cultivares, seus benefícios não são conhecidos. Assim, estudos deverão ser realizados para avaliar a sua adaptabilidade às condições edafoclimáticas da região Sul do País, assim como seus benefícios e a capacidade de aceitação pelos ruminantes.

De forma geral, essa versátil gramínea temperada é uma ótima opção para a região Sul, tendo se tornado uma das principais fontes de volumoso na dieta de ruminantes. Bem manejado, o azevém contribui para a bovinocultura de leite por ser capaz de suprir a contento as exigências nutricionais do animal, resultando, assim, em ganho médio diário de produção de leite.

Referências

- ALLEN, M. S. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1447-1462, 1997.
- AMARAL, G. A.; KOZLOSKI, G. V.; SANTOS, A. B.; CASTAGNINO, D. S.; FLUCK, A. C.; FARENZENA, R.; ALVES, T. P.; MESQUITA, F. R. Metabolizable protein and energy supply in lambs fed annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) supplemented with sources of protein and energy. **Journal of Agricultural Science**, v. 149, n. 4, p. 519-527, 2011.
- ANTUNES, R. C.; RODRIGUES, N. M. Metabolismo dos carboidratos não estruturais. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p. 229-253.
- ARCURI, P. B.; MANTOVANI, H. C. Recentes avanços em microbiologia ruminal e intestinal (bio)tecnologias para a nutrição de ruminantes. In: SIMPÓSIO E PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 5., 2006, Viçosa. **Anais... Viçosa**: Ed. UFV, 2006. p. 273-312.
- BARCELLOS, A. O.; VILELA, L. Leguminosas forrageiras tropicais: estado da arte e perspectivas futuras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE FORRAGICULTURA, 31., 1994, Maringá. **Anais... Maringá**: Ed. UEM, 1994. p. 1-56.
- BENEDETTI, E. **Produção de leite a pasto**: bases práticas. Salvador: SEAGRI, 2002. 176 p.
- BERNARD, J. K. Feeding ryegrass silage in the Southeast US. In: ANNUAL FLORIDA DAIRY PRODUCTION CONFERENCE, 40., 2003, Gainesville. **Proceedings...** [Gainesville]: University of Florida, 2003. p. 45-51. Disponível em: <<http://dairy.ifas.ufl.edu/dpc/2003/Proceedings.pdf>>. Acesso em: 19 jun. 2013.

BERNARD, J. K.; WEST, J. W.; TRAMMELL, D. S. Effect of replacing corn silage with annual ryegrass silage on nutrient digestibility, intake, and milk yield of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 9, p. 2277-2282, 2002.

BLOUNT, A. R.; PRINE, G. M. **Annual ryegrass**. Tampa's: Agronomy Department-Florida Cooperative Extension Service-Institute of Food and Agricultural Sciences-University of Florida, 2012. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/ag104>>. Acesso em: 22 jul. 2013.

CAÑIZARES, G. I. L.; RODRIGUES, L.; CAÑIZARES, M. C. Metabolismo de carboidratos não-estruturais em ruminantes. **Archives of Veterinary Science**, v. 14, n. 1, p. 63-73, 2009.

CASTLE, M. E.; WATKINS, P. Grazing systems. In: MODERN milk production: its principles and applications for students and farmers. London: Faber & Faber, 1979. p. 53-71.

CASTRO, J. J.; MULLIS, N.; BERNARD, J. K.; WEST, J. W. **Effect of ryegrass silage dry matter content on the performance of lactating holstein cows**. Athens: University of Georgia, 2008. Disponível em: <<http://www.ads.uga.edu/documents/EffectofRyegrassSilageDryMatterContentonthePerformanceofLactatingHolsteinCows.pdf>>. Acesso em: 24 jun. 2013.

CAUDURO, G. F.; CARVALHO, P. C. F.; BARBOSA, C. M. P.; LUNARDI, R.; NABINGER, C.; GONÇALVES, E. N.; DEVINCENZI, T. Variáveis morfológicas e estruturais de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) manejado sob diferentes intensidades e métodos de pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1298-1307, 2006.

CAVALCANTE, M. A. B. **Compilação dos artigos**: 1. Ecofisiologia de pastagens: aspectos da dinâmica das populações de plantas forrageiras em relvados pastejados (Lemaire, 2001) e 2. A fisiologia do crescimento de gramíneas sob pastejo: fluxo de tecidos (Lemaire, 1997). Viçosa, 2001. Disponível em: <<http://www.forragicultura.com.br/vermat.asp?codmat=72>>. Acesso em: 11 jul. 2007.

COELHO FILHO, R. C.; QUADROS, F. L. F. Produção animal em misturas forrageiras de estação frias semeadas em uma pastagem natural. **Ciência Rural**, v. 25, n. 2, p. 289-293, 1995.

COLLINS, M.; COBLENTZ, W. K. Post-harvest physiology. In: BARNES, R. F.; NELSON, C. J.; MOORE, K. J.; COLLINS, M. (Ed.). **Forages: the science of grassland agriculture**. 6th ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2007. p. 583-599.

DE VISSER, H.; VALK, H.; KLOP, A.; MEULEN, J. van der; BAKKER, J. G.; HUNTINGTON, G. B. Nutrient fluxes in splanchnic tissue of dairy cows: influence of grass quality. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1666-1673, 1997.

DERESZ, F.; MOZZER, O. L. Produção de leite em pastagens de capim-elefante. In: SIMPÓSIO SOBRE CAPIM-ELEFANTE, 1990, Juiz de Fora. **Anais...** Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1990. p. 155-172.

DIFANTE, G. S. **Importância da morfogênese no manejo de gramíneas forrageiras**. Viçosa, 2003. Disponível em: <<http://www.forragicultura.com.br/vermat.asp?codmat=23>>. Acesso em: 10 out. 2007.

DIRKSEN, G. **Indigestiones en el bovino**. Konstanz: Schenetztor-Verlag, 1981. 73 p.

FARINATTI, L. H. E.; BRONDANI, I. L.; RESTLE, J.; CHIEZA, E. D.; ARBOITTE, M. Z.; KOEFENDER, I.; CATTELAN, J.; CEZIMBRA, J. M.; CHASSOT, R. C. Avaliação de diferentes cultivares de azevém no desempenho de bezerras. In: REUNIÃO DO GRUPO TÉCNICO EM FORRAGEIRAS DO CONE SUL – GRUPO CAMPOS, 21., 2006, Pelotas. **Desafios e oportunidades do bioma campos frente a expansão e intensificação agrícola**: anais. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006.

FLOSS, E. L. Manejo forrageiro de aveia (*Avena* SP) e azevém (*Lolium* sp.). In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 9., 1988, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1988. p. 231-268.

FONTANELI, P. R. S. Azevém anual. In: ENCONTRO DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA DO PLANALTO MÉDIO RIO-GRANDENSE, 1984, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 1984. p. 139-150.

FONTANELI, R. S. Azevém anual. In: FONTANELI, R. S.; SARTORI, J. F. **Informe técnico**: estabelecimento, utilização e manejo de plantas forrageiras. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1993. p. 139.

FULKERSON, W. J.; SLACK, K.; HENNESSY, D. W.; HOUGH, G. M. Nutrients in ryegrass (*Lolium* spp.), white clover (*Trifolium repens*) and kikuyu (*Pennisetum clandestinum*) pastures in relation to season and stage of regrowth in a subtropical environment. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 38, n. 3, p. 227-240, 1998.

GIBB, M. J.; TREACHER, T. T. The effect of herbage allowance on herbage intake and performance of lambs grazing perennial ryegrass and red clover swards. **Journal of Agriculture Science**, v. 86, p. 355-365, 1976.

GOMIDE, J. A.; ZAGO, C. P. Crescimento e recuperação do capim-colônião após corte. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 9, n. 2, p. 293-305, 1980.

HANCOCK, D. W. **Annual ryegrass**. Athens: University of Georgia, 2011. Disponível em: <www.caes.uga.edu/commodities/fieldcrops/forages/species/documents/AnnualRyegrass.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2013.

HOOVER, W. H.; STROKES, S. R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3630-3644, 1991.

KOLVER, E. S. Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, p. 291-300, 2003.

KOZŁOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3. ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 2012. 216 p.

KUNELIUS, T.; BOSWALL, P. **Producing annual ryegrasses for pasture, silage and seed**. [2009]. Agriculture and Forestry Farm Extension Services, Canada. Disponível em: <http://www.gov.pe.ca/photos/original/ag_ryegrass_bul.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2013.

KUNG JUNIOR, L. **A review on silage additives and enzymes**. [2002]. Disponível em: <http://ag.udel.edu/anfs/faculty/kung/articles/a_review_on_silage_additives_and.htm>. Acesso em: 20 jun. 2013.

LESAMA, M. F. **Produção animal em gramíneas de estação fria com fertilização nitrogenada ou associadas com leguminosa, com ou sem fertilização nitrogenada**. 1997. 127 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

LESAMA, M. F.; MOOJEN, E. L. Produção animal em gramíneas de estação fria com fertilização nitrogenada ou associadas com leguminosa, com ou sem fertilização nitrogenada. **Ciência Rural**, v. 29, n. 1, p. 123-128, 1999.

MAIA, F. C.; MAIA, M. S. **A dinâmica de sementes do solo**. Pelotas: Ed. Universitária PREC-UFPEL, 2008. 88 p.

MARASCHIN, G. E. Sistema de pastejo 1. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C.; FARIA, V. (Ed.). **Pastagens: fundamentos da exploração racional**. Piracicaba: FEALQ, 1994. p. 337-376.

MARASCHIN, G. E.; MOTT, G. O. Resposta de uma complexa mistura de pastagem tropical a diferentes sistemas de pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 221-227, 1989.

MCCORMICK, M. E.; REDFEARN, D. D.; WARD, J. D.; BLOUIN, D. C. Effect of protein source and soluble carbohydrate addition on rumen fermentation and lactation performance of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 7, p. 1686-1697, 2001.

MEDEIROS, L. M. **Produtividade, morfogênese e estimativa da temperatura base para genótipos diploides e tetraploides de azevém**. 2009. 77 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

MORAES, A. Culturas forrageiras de inverno. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FORRAGEIRAS E PASTAGENS, 1994, Campinas. **Proceedings...** Campinas: CNBA, 1994. p. 67-78.

MORAES, A.; NABINGER, C.; MARASCHIN, G. E. Pastagens nos ecossistemas de clima sub tropical: pesquisa para o desenvolvimento sustentável. In: SIMPÓSIO SOBRE PASTAGENS NOS ECOSISTEMAS BRASILEIROS, 1995, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF: SBZ, 1995. p. 147-200.

NABINGER, C.; MARASCHIN, G. E.; MORAES, A. Pasture related problems in beef cattle production in southern Brazil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL "GRASSLAND ECOPHYSIOLOGY AND GRAZING ECOLOGY", 1999, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Ed. UFRP, 1999. p. 23-47.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of Dairy Cattle-NRC**. Washington, DC: National Academy Press, 1988. 157 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of Dairy Cattle-NRC**. Washington, DC: National Academy Press, 2001. 381 p.

OLIVEIRA, I. P.; FARIA, A. G. Considerações sobre o manejo de bovino em sistema de pastejo. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 1, n. 1, p. 117-146, 2006.

PEDROSO, C. E. S.; MEDEIROS, R. B.; SILVA, M. A.; JORNADA, J. B. J.; SAIBRO, J. C.; TEIXEIRA, J. R. F. Comportamento de ovinos em gestação e lactação sob pastejo em diferentes estágios fenológicos de azevém anual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 5, p. 1340-1344, 2004.

PRODUÇÃO AGRÍCOLA MUNICIPAL: culturas temporárias e permanentes. Rio de Janeiro: IBGE, v. 38, p. 1-94, 2011. Disponível em: <http://servicodados.ibge.gov.br/Download/Download.ashx?http=1&u=biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2011_v38_br.pdf>. Acesso em: 26 jun. 2013.

QUADROS, B. P.; SILVA, A. C. F.; QUADROS, F. L. F.; Produção de forragem de cultivares de azevém (*Lolium multiflorum*) sob duas densidades de semeadura. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** [Brasília, DF]: SBZ, 2003. 1 CD-ROOM.

RAYMOND, F.; REDMAN, P.; WALTHAM, R. **Forage conservation and feeding**. London: Farm Press, 1986. 240 p.

RIBEIRO FILHO, H. M. N.; HEYDT, M. S.; BAADE, E. A. S.; THALER NETO, A. Consumo de forragem e produção de leite de vacas em pastagem de azevém-anual com duas ofertas de forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 10, p. 2038-2044, 2009.

ROSO, C.; RESTLE, J.; SOARES, A. B.; ALVES FILHO, D. C.; BRONDANI, I. L. Produção e qualidade de forragem da mistura de gramíneas anuais de estação fria sob pastejo contínuo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 3, p. 459-467, 1999.

ROTZ, C. A. Field curing of forages. In: MOORE, K. J.; KRAL, D. M.; VINEY, M. K. (Ed.). **Post-harvest physiology and preservation of forages**. Madison: American Society of Agronomy, 1995. p. 39-66.

RUSSEL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3551-3561, 1992.

SENTELHAS, P. C.; NOGUEIRA, S. S. S.; PEDRO JÚNIOR, M. J.; SANTOS, R. R. Temperatura-base e graus-dia para cultivares de girassol. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 2, n. 1, p. 43-49, 1994.

SKONIESKI, F. **Composição botânica, estrutural, valor nutricional e dinâmica do nitrogênio em pastagens de azevém consorciadas**. 2009. 77 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

SKONIESKI, F. R.; VIÉGAS, J.; BERNUDES, R. F.; NÖRNBERG, J. L.; ZIECH, M. F.; COSTA, O. A. D.; MEINERZ, G. R. Composição botânica e estrutural e valor nutricional de pastagens de azevém consorciadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 3, p. 550-556, 2011.

SUGIYAMA, S. Responses of shoot growth and survival to water stress gradient in diploid and tetraploid populations of *Lolium multiflorum* and *L. perenne*. **Grassland Science**, v. 52, n. 4, p. 155-160, 2006.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. New York: Cornell University Press, 1994. 476 p.

WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 8093-8105, 2005.

USO DE GORDURA LIVRE NA ALIMENTAÇÃO DE BOVINOS DE LEITE

Fábio Antunes Rizzo
Rudolf Brand Scheibler
Lívia Argoud Lourenço
Patrícia Pinto da Rosa
Víctor Ionatan Fioreze
Jorge Schafhäuser Júnior
José Laerte Nörnberg

Introdução

Com o uso da inseminação artificial e a universalização do sêmen de touros provados, principalmente de sêmen importado, e graças aos incentivos por parte de órgãos públicos e técnicos do setor nos últimos 30 anos, houve uma expressiva melhoria no que se refere à genética nos rebanhos leiteiros do País, os quais passaram, em sua maioria, a contar com animais de elevado potencial genético de produção de leite.

Esse avanço na produção individual de leite foi determinante para que a maioria das vacas de rebanho saudável e com elevado valor genético para a produção, no início da lactação, passasse por um longo período de balanço energético negativo (BEN), mesmo sendo ofertadas dietas de alta energia. Esse fato é tido como a expressão normal do mérito genético para a síntese de leite (COPPOCK; WILKS, 1991).

Vacas em BEN mobilizam suas reservas corporais (lipídicas e proteicas) para atender à demanda energética desse período, com consequentes mudanças no escore de condição corporal (ECC). Esse fato é responsável por baixar o desempenho produtivo e reprodutivo pós-parto e aumentar a incidência de transtornos metabólicos em vacas de leite e a suscetibilidade a doenças (RUEGG; MILTON, 1995; WILDMAN et al., 1982).

Para diminuir o efeito do balanço energético negativo, é imperativo aumentar o aporte de energia por intermédio da dieta, o que implica maior utilização de alimento

concentrado, na forma de grãos de cereais, com consequente alteração na relação volumoso/concentrado da dieta, diminuindo-se a participação de volumoso.

As tentativas de aumentar a densidade de energia por meio de ajustes na relação volumoso/concentrado para valores inferiores a 40/60 têm como consequência, muitas vezes, efeitos negativos sobre a fermentação ruminal e a digestão de nutrientes, principalmente da fração fibrosa, por alteração da microbiota ruminal e diminuição no percentual de gordura do leite, sem ganho real no consumo de energia líquida (COPPOCK; WILKS, 1991). Nesse contexto, a utilização de gorduras (lipídeos), como forma de aumentar a densidade energética da dieta, sem os riscos de acidose ruminal, mostra-se uma importante ferramenta nutricional.

Neste capítulo, serão discutidos os efeitos do uso de gordura livre sobre a dieta de vacas em lactação, destacando os seguintes tópicos: os efeitos da ingestão de matéria seca (MS), a hidrólise e a bio-hidrogenação ruminal, a fermentação ruminal e a produção de ácidos graxos voláteis (AVG), a produção de metano, os aspectos de produção e composição do leite, o perfil de ácidos graxos da gordura do leite e a diminuição da gordura do leite.

Uso de gordura na dieta de bovinos de leite

Ao longo de várias décadas, profissionais e pesquisadores demonstraram preocupação incessante em formular dietas que atendessem à elevada demanda energética no terço inicial da lactação de bovinos leiteiros, sem os efeitos colaterais negativos do excesso de carboidratos solúveis (principalmente amido), e procurando atender às exigências de fibra, compatíveis com a manutenção da saúde ruminal e o teor de gordura do leite.

Variadas fontes de gordura podem ser utilizadas, que, em termos nutricionais, podem ser classificadas em dois grandes grupos: 1) as disponíveis no rúmen, também chamadas de gorduras livres, as quais, apesar do incremento energético, podem causar transtornos fermentativos ao rúmen; e 2) as gorduras rúmen-inertes ou *bypass* (sobrepasantes), que podem provir de fontes naturalmente protegidas (sementes oleaginosas) ou como gorduras protegidas artificialmente, na forma de sais de cálcio de ácidos graxos (NÖRNBERG, 2003). O sebo animal também é considerado gordura livre, entretanto, sua utilização na dieta de bovinos está proibida no Brasil em virtude do risco de transmissão da encefalite espongiforme bovina (doença da vaca louca), conforme Instrução Normativa nº 15/2001 (BRASIL, 2001).

Os lipídeos são compostos orgânicos insolúveis em água, mas solúveis em solventes orgânicos (éter, clorofórmio, benzeno, entre outros), e desempenham importantes funções bioquímicas e fisiológicas nos tecidos animais e vegetais (CHURCH, 1993). São capazes de produzir um incremento de energia na dieta superior aos carboidratos e às proteínas, uma vez que 1 g de lipídeo produz 2,25 vezes mais energia do que 1 g de carboidrato ou proteína (DAVIS; BROWN, 1970). Isso se deve ao fato de os lipídeos possuírem maior número de átomos de hidrogênio em sua composição (mais reduzidos), que proporcionam maior produção de energia para as células, durante o processo de oxidação.

Além do incremento de energia na dieta, a suplementação com gordura apresenta outros benefícios potenciais, como aumento de absorção de nutrientes solúveis em lipídeos e redução na pulverulência das rações (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001), além de potencial para melhorar a eficiência de utilização da energia, em razão de os ácidos graxos pré-formados, de origem dietética, serem incorporados diretamente na gordura do leite, sem a perda de calor associada à síntese de ácidos graxos, poupando, assim, energia para outras funções produtivas da glândula mamária (SHAUFF et al., 1992).

Geralmente, a mistura de forragens e grãos de cereais propicia dietas com cerca de 3% a 4% de extrato etéreo (EE) com base na matéria seca (MS), sendo possível elevar o teor de EE na dieta de vacas em produção até 6% a 7%, sem denotar prejuízos à produção e à composição leite. Segundo o National Research Council (NRC) (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001), 3% a 4% do EE da dieta podem ser fornecidos de forma complementar, por meio da inclusão de gorduras.

Apesar dos importantes efeitos obtidos pela adição de gordura na dieta de bovinos de leite, o excesso de lipídeos – principalmente quando ricos em ácidos graxos insaturados – pode ocasionar alterações na ingestão de alimentos, na fermentação ruminal, na digestão de algumas frações do alimento pela microbiota ruminal, na produção de leite, bem como na produção de gordura láctea e em seu perfil de ácidos graxos.

Suplementação com gordura na dieta de bovinos não chega a ser novidade, já tendo sido bastante explorada sua utilização na alimentação de rebanhos de alto potencial genético para a produção de leite, principalmente na forma de gordura protegida (sais de cálcio de ácidos graxos). Mas, por esse insumo ser oneroso, muitas fazendas de leite deixaram de utilizar essa tecnologia. Várias pesquisas vêm demonstrando a eficácia da suplementação com fontes lipídicas para bovinos de leite, ressaltando: o incremento na produção animal, a melhoria na taxa de concepção das fêmeas, a redução no balanço energético negativo pós-parto e a melhoria da eficiência alimentar na produção (relação entre quilograma de alimento consumido e produção), entre outros benefícios.

Embora a função energética associada ao uso de gordura na dieta de vacas leiteiras não tenha sido abandonada pela pesquisa, nos últimos anos os estudos têm se concentrado na modificação do teor de gordura do leite e do perfil de ácidos graxos dessa gordura, por manipulação da dieta, principalmente pelo fato de a gordura ser o componente mais variável do leite, pois que tanto a quantidade quanto a composição podem ser afetadas por muitos fatores, como genética, estado fisiológico e meio ambiente (LOCK; SHINGFIELD, 2004; PALMQUIST et al., 1993).

Óleos vegetais como fonte de gordura na dieta de bovinos

Os óleos vegetais são compostos principalmente por glicerídeos de ácidos graxos, podendo conter baixa quantidade de fosfolipídeos, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres. São substâncias hidrofóbicas e lipofílicas, formadas principalmente de triacilgliceróis, que se apresentam em estado líquido e viscoso nas condições normais de temperatura e pressão, em virtude do baixo ponto de fusão. Estudos realizados com o uso de óleos vegetais por ruminantes, avaliando o consumo de MS e a digestibilidade dos nutrientes, têm apresentado resultados muitas vezes conflitantes, possivelmente pelas diferenças inerentes às espécies animais, às fontes e aos níveis de inclusão de óleo testados.

Os óleos vegetais vêm se destacando como alternativas viáveis na alimentação de bovinos, em grande parte pelo interesse despertado entre os pesquisadores em produzir alimentos de origem animal diferenciados. Segundo Costa et al. (2009), há uma tendência de que a suplementação com óleos se torne cada vez mais comum, o que vai implicar que a indústria produtora de óleos vegetais se torne mais eficaz e até mesmo venha a estabelecer um processamento específico de produção para a nutrição animal, e de baixo custo.

Os óleos vegetais mais utilizados atualmente, graças à sua disponibilidade e principalmente ao seu custo acessível, são os óleos de soja, arroz, linhaça, girassol, canola e milho, mais baratos do que as gorduras protegidas comerciais disponíveis no mercado.

Digestão de lipídeos pelos bovinos

A digestão de gorduras nos bovinos é feita no rúmen, que precede a absorção intestinal. Durante sua passagem pelo rúmen, as gorduras são transformadas de tal modo que a

quantidade e a composição da gordura que deixam o rúmen diferem da gordura ingerida (DOREAU; CHILLIARD, 1997).

Metabolismo ruminal das gorduras

De acordo com Palmquist et al. (1993), a quantidade de lipídeo dietético transformado diretamente em gordura do leite pode ser influenciada por três fatores: lipólise e bio-hidrogenação ruminal, absorção e relação reserva/excreção de lipídeos nos tecidos adiposos.

Os mais importantes constituintes dos lipídeos na nutrição animal são: ácidos graxos, glicerol, mono-, di- e triglicerídeos (ésteres de glicerol e ácidos graxos) e fosfolipídeos.

A composição de lipídeos das forrageiras é muito variável, incluindo lipídeos simples, fosfolipídeos, galactolipídeos e pigmentos. Os grãos de oleaginosas (soja, girassol, canola, linhaça) são ricos em lipídeos (20% a 40% da MS), com elevado conteúdo de triglicerídeos (99%). O conteúdo de lipídeos nos grãos de cereais varia de 2,1% (trigo) a 7,1% (aveia) (GAGLIOSTRO; CHILLIARD, 1991).

A composição em ácidos graxos de alguns alimentos de uso comum para bovinos de leite é demonstrada na Tabela 1.

Quanto ao seu valor nutricional, os lipídeos podem ser agrupados em lipídeos de reserva (principalmente triglicerídeos em sementes), lipídeos de membranas (galactolipídeos e fosfolipídeos) e em uma mistura heterogênea de outras estruturas moleculares solúveis em éter (ceras, carotenoides, clorofila, etc.).

Os lipídeos presentes nas plantas são representados, principalmente, por galactolipídeos e fosfolipídeos, enquanto a gordura animal e aquela presente nos grãos de cereais e oleaginosas são basicamente triglicerídeos (KOZLOSKI, 2012; PALMQUIST, 1996).

Kozloski (2012) relata que a maior parte dos ácidos graxos (AG) de origem vegetal é insaturada, geralmente mais de 70%. Nos cereais e na maioria das sementes oleaginosas, há predominância de ácido linoleico (C18:2n-6), enquanto, em forragens, o ácido mais comum é o α -linolênico (C18:3n-3). São exceções: o óleo de palma (alto teor de ácido palmítico – C16:0), o óleo de canola (alto teor de ácido oleico – C18:1n-9) e o óleo de linhaça (alto teor de ácido α -linolênico – C18:3n-3) (PALMQUIST; MATTOS, 2006).

Os ácidos graxos presentes na dieta não contribuem como fonte de energia para a microbiota ruminal. Além disso, a presença de ácidos graxos livres no ambiente ruminal,

principalmente AG insaturados, pode acarretar efeitos deletérios ao ambiente ruminal, como o recobrimento das partículas de alimento e de células microbianas, dificultando, com isso, a adesão dessas e, conseqüentemente, prejudicando a fermentação dos alimentos. Por conseguinte, a maior parte dos lipídeos que chegam ao rúmen é transformada por ação da microbiota, por meio de dois processos que se seguem: hidrólise e bio-hidrogenação, respectivamente.

Tabela 1. Composição em ácidos graxos (AG) de alguns alimentos.

Fonte	Ácidos graxos/Estrutura química				
	Valores de referência (%)				
	Palmítico C16:0	Estearico C18:0	Oleico C18:1	Linoleico C18:2	Linolênico C18:3
Óleos vegetais					
Arroz	15,0	2,0	45,0	35,5	1,0
Canola	4,8	1,6	53,8	22,1	11,1
Girassol	5,4	3,5	45,3	39,8	0,2
Linhaça	5,3	4,1	20,2	12,7	53,3
Milho	10,9	1,8	24,2	58,0	0,7
Soja	10,3	3,8	22,8	51,0	6,8
Grãos de cereais					
Cevada	27,6	1,5	20,5	43,3	4,3
Milho	16,3	2,6	30,9	47,8	2,3
Aveia	22,1	1,3	38,1	34,9	2,1
Trigo	20,0	1,3	17,5	55,8	4,5
Forragens					
Alfafa desidratada	25,3	28,5	3,8	6,5	18,4
Azevém-perene	4,3	11,9	1,0	2,2	14,6
Trevo-branco	10,7	6,5	0,5	6,6	18,5

Fonte: adaptado de National Research Council (2001), Palmquist (1988) e Stewart (2002).

Hidrólise

A hidrólise das ligações ésteres é o primeiro processo que ocorre quando a gordura da dieta chega ao rúmen. Os lipídeos são então hidrolisados pelas lipases, galactosidases e fosfolipases microbianas, liberando ácidos graxos livres, galactose e glicerol. O glicerol é

fermentado rapidamente, produzindo propionato (ácido graxo volátil – AGV) como produto final (JENKINS, 1993), assim como galactose (STAPLES et al., 2000).

A extensão da hidrólise é geralmente alta, atingindo cerca de 85% do ácidos graxos da ingesta, embora um bom número de fatores seja capaz de diminuir essa etapa inicial (BAUMAN et al., 2011; LOCK et al., 2006).

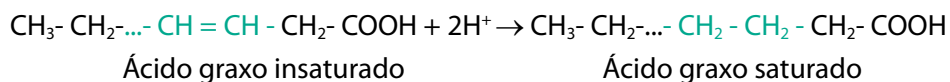
A hidrólise dos lipídeos pode ser diminuída quando o nível de gordura da dieta é aumentado ou quando alguns fatores baixam o pH ruminal, principalmente por dietas com alta inclusão de concentrado rico em amido (dietas acidogênicas), ou por ação de antibióticos ionóforos que inibem a atividade e o crescimento de determinados gêneros de bactérias ruminais (DOREAU; CHILLIARD, 1997; HARFOOT; HAZLEWOOD, 1997). Como, nos alimentos, os lipídeos encontram-se, em sua maioria, na forma esterificada como triglicerídeos e galactolipídios (ácidos graxos ligados a uma molécula glicídica), e as bactérias responsáveis pela bio-hidrogenação atuam exclusivamente sobre ácidos graxos livres, a lipólise é um pré-requisito para a bio-hidrogenação.

Bio-hidrogenação

A atuação dos microrganismos ruminais nos compartimentos fermentativos modifica a natureza lipídica da dieta, transformando os ácidos graxos insaturados em saturados, por meio do processo de bio-hidrogenação.

Considerando o efeito tóxico de ácidos graxos insaturados sobre os microrganismos ruminais, um mecanismo de defesa para a redução dessa toxidez é a provável razão para o desenvolvimento da capacidade de bio-hidrogenação pela microbiota ruminal (PALMQUIST; MATTOS, 2006).

A bio-hidrogenação visa diminuir as duplas ligações existentes na cadeia carbonada dos ácidos graxos insaturados pela adição de íons hidrogênio, como demonstrado a seguir:



Os ácidos graxos insaturados apresentam alta capacidade reativa com as membranas celulares bacterianas, processo que resulta normalmente em perda da natureza bifásica da

membrana celular bacteriana, levando à morte microbiana. Além disso, a bio-hidrogenação contribui para retirada dos íons H^+ do ambiente ruminal, evitando seu acúmulo; reduz também a produção de metano (CH_4) pelas bactérias metanogênicas, pois que consome íons H^+ , aumentando, com isso, a eficiência energética da dieta (COSTA, 2008).

Segundo Chalupa et al. (1986), os lipídeos insaturados estimulam as bactérias ruminais produtoras de propionato, causando decréscimo na proporção acetato/propionato e na produção de metano, agindo, assim, de maneira similar aos ionóforos (aditivo alimentar utilizado nas rações para modificar a flora ruminal).

Os microrganismos mais suscetíveis aos efeitos do acúmulo de ácidos graxos poli-insaturados são bactérias Gram+, metanogênicas e protozoários (MACHMÜLLER; KREUZER, 1999).

Os ácidos graxos insaturados encontrados na gordura vegetal e a maioria das gorduras animais apresentam configuração isomérica cis (STAPLES et al., 2000). No entanto, além da adição de íons hidrogênio, durante a bio-hidrogenação, pela ação de isomerases, algumas duplas ligações dos ácidos graxos de origem vegetal da forma cis são convertidas à forma trans. A Figura 1 ilustra a diferença entre essas conformações estequiométricas.

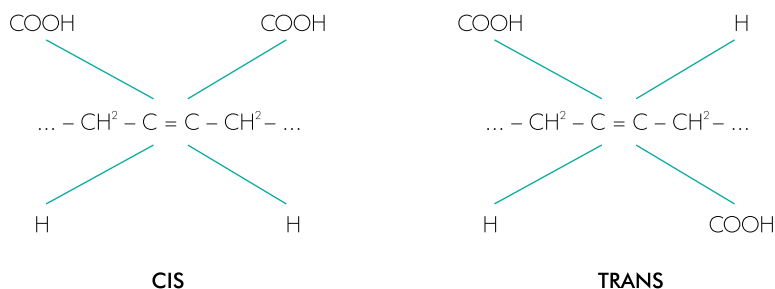
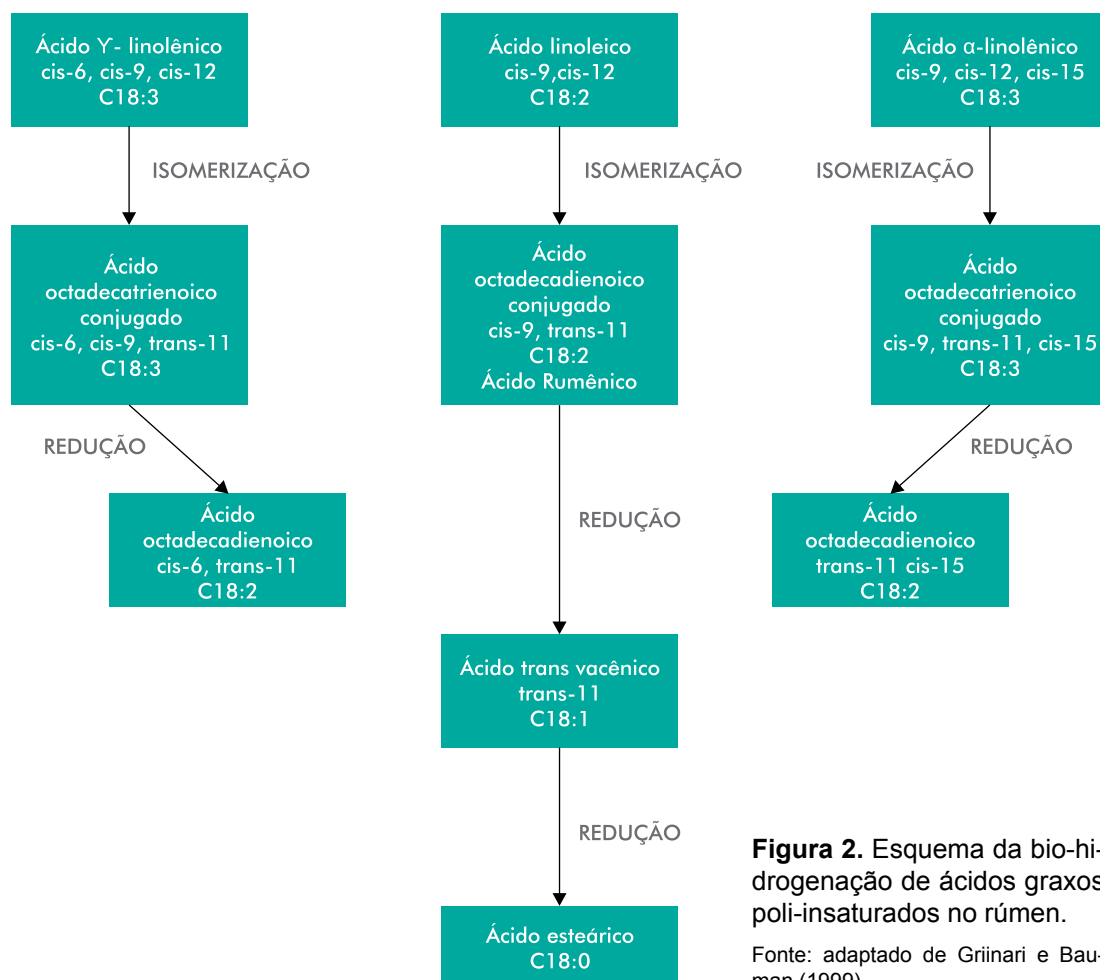


Figura 1. Ilustração de ácido graxo na configuração cis e trans.

Ao longo do processo de bio-hidrogenação, isomerases e redutases convertem os ácidos linoleico (18:2) e linolênico (18:3) a esteárico (18:0), com formação de diversos intermediários (KOZLOSKI, 2012). Entre esses, destacam-se os compostos denominados ácido linoleico conjugado (CLA), que, segundo (DHIMAN et al., 2000), são isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico que contêm duplas ligações conjugadas. Tais ligações geralmente se encontram nas posições 9 e 11 ou 10 e 12, com configuração cis ou trans. Na Figura 2, é demonstrada a bio-hidrogenação dos ácidos linoleico e linolênico na sequência de eventos que a constituem (isomerização e reduções).



A bio-hidrogenação é realizada por dois grupos distintos de bactérias. O primeiro é responsável pela bio-hidrogenação do ácido linoleico (C18:2) e do ácido linolênico (C18:3) a ácido transvacênico (trans-11 C18:1); já as bactérias do segundo grupo são capazes de bio-hidrogenar uma grande extensão de cis e trans-C18:1 a ácido esteárico (C18:0) (DEMEYER; DOREAU, 1999).

Em algumas situações dietéticas, a bio-hidrogenação ruminal dos ácidos graxos da dieta é incompleta, resultando em passagem de diversos isômeros posicionais de ácido linoleico e linolênico para o intestino delgado, onde serão absorvidos, e sendo transportados até a glândula mamária e incorporados na gordura do leite ou ao tecido adiposo corporal, alterando seu perfil de ácidos graxos.

Essas situações incluem a grande oferta de concentrado na dieta, com consequente redução do pH ruminal, em que as taxas de lipólise e bio-hidrogenação serão menores, o que resulta num maior escape de ácidos graxos insaturados e de isômeros posicionais de ácido linoleico e linolênico do rúmen-retículo, chegando intactos ao abomaso e ao intestino delgado.

Da mesma forma, a velocidade de passagem da digesta pelos pré-estômagos também é capaz de afetar a taxa de bio-hidrogenação dos ácidos graxos insaturados e, consequentemente, aumentar a chegada de produtos intermediários da bio-hidrogenação no intestino delgado. Coppock e Wilks (1991) afirmam que o consumo de 4% ou mais de matéria seca em relação ao peso vivo – em virtude da maior taxa de passagem da digesta e, portanto, do menor tempo de permanência no rúmen – possibilita que os ácidos graxos da dieta e os produtos intermediários da bio-hidrogenação desses cheguem mais rapidamente e intactos ao intestino delgado. O mesmo ocorre em dietas em que são utilizados alimentos volumosos de alta qualidade, mas com baixa efetividade da fração fibrosa (alimentos muito picados), diminuindo, com isso, a atividade de ruminação e aumentando a taxa de passagem. A extensão da lipólise depende também da quantidade de gordura adicionada à dieta e da natureza lipídica dessa gordura, sendo que óleos vegetais, como os de linhaça e girassol, são quase que completamente hidrolisados (em torno de 90%), enquanto o óleo de peixe, por exemplo, tende a ser menos hidrolisado (em torno de 50%) (CHURCH, 1993).

Embora o ácido esteárico (C18:0) seja o principal produto final da bio-hidrogenação ruminal de ácidos graxos insaturados, existem certas condições que afetam a bio-hidrogenação. Em dietas suplementadas com óleo de peixe (SHINGFIELD et al., 2003; WACHIRA et al. 2002), observa-se inibição do último passo da bio-hidrogenação, levando ao acúmulo de ácidos graxos trans-C18:1. Situações em que se reduz o pH ruminal, como no caso de dietas ricas em concentrado ou dietas com inclusão de ionóforos, também podem levar à inibição do último passo da bio-hidrogenação (VAN NEVEL; DEMEYER, 1995).

Como mostrado na Figura 1, o resultado final da bio-hidrogenação dos ácidos linoleico e linolênico (insaturados) é a formação de ácido esteárico (saturado). Durante esse processo, formam-se, como produtos intermediários, ácidos graxos conjugados, principalmente cis-9, trans-11 C18:2 ácido linoleico conjugado (CLA), também denominado ácido rumênico, bem como ácidos graxos monoinsaturados com a dupla ligação, com configuração trans, principalmente o ácido vacênico trans-11 C18:1.

Modificações na dieta tradicional de bovinos, principalmente pela adição de fontes lipídicas ricas em ácidos graxos insaturados (óleos vegetais, por exemplo), são capazes de

aumentar a proporção desses ácidos no perfil de ácidos graxos da carne e do leite, agregando a esses alimentos substâncias de reconhecido valor nutracêutico, como o ácido linoleico conjugado (CLA). Além disso, diversas pesquisas demonstram a eficácia de alguns ácidos graxos do grupo trans em diminuir a produção de gordura do leite (BAUMAN; GRIINARI, 2001; BAUMAN et al., 2011; BAUMGARD et al., 2001; PIPEROVA et al., 2000).

Assim, vários trabalhos têm sido realizados para estudar a quantidade e o tipo de gordura a serem adicionados à dieta de bovinos, assim como suas aceitabilidade e digestibilidade, com a finalidade de elevar os conteúdos de CLA e medir os efeitos de ácidos trans na gordura do leite.

Efeito da adição de gordura na dieta sobre a composição da gordura do leite

Fontes lipídicas, como sabões cálcicos de ácidos graxos (gordura protegida comercial), e fontes ricas em ácidos graxos saturados são parcialmente inertes no rúmen, apresentando pouco ou nenhum efeito sobre a população microbiana ruminal e a digestão dos alimentos pela microbiota. Em contrapartida, a adição de óleo vegetal ou de peixe, na forma de gordura livre na dieta de vacas em lactação, afeta negativamente a produção de gordura do leite, sendo o efeito mais acentuado quando da utilização de óleo de peixe (MARÍN et al., 2010).

A produção de gordura do leite é especialmente sensível à nutrição, o que faz que a manipulação da dieta seja uma ferramenta prática para alterar suas composição e produção (CHILLIARD et al., 2000; LOCK; BAUMAN, 2004). Dependendo do nível de suplementação com lipídeos e do grau de insaturação da fonte lipídica utilizada, esses podem determinar a redução no teor de gordura do leite, pelos distúrbios que podem causar à fermentação ruminal (BAUMAN; GRIINARI, 2001).

A gordura é o principal componente energético do leite e também o componente com maior coeficiente de variação, sendo responsável por muitas das propriedades físicas, pelas características organolépticas e de qualidade e fabricação de produtos lácteos, além de representar o ingrediente do leite de maior custo energético para sua síntese (BAUMAN; GRIINARI, 2001; BAUMAN et al., 2011). Nesse aspecto, a nutrição animal é fator predominante, que afeta a gordura do leite e representa uma ferramenta prática para alterar a composição de ácidos graxos e o rendimento de gordura. (BAUMAN et al., 2006). Doreau e Chilliard (1992) comentam que o efeito das fontes lipídicas incluídas na dieta sobre o teor

de gordura do leite depende do impacto dessas sobre a digestão ruminal, a qual, por sua vez, se relaciona com a proteção da fonte lipídica contra os microrganismos ruminais, o grau de insaturação e o processamento.

A utilização de óleos insaturados é considerada uma das causas da síndrome da depressão de gordura do leite (*milk fat depression* – MFD), quando fornecida para vacas leiteiras em lactação. Essa síndrome é extensamente descrita e revisada na literatura (BAUMAN; GRIINARI, 2001; BAUMAN et al., 2011; BAUNGARD et al., 2000; STAPLES, 2006), tendo sido demonstrado recentemente que o acúmulo de ácidos graxos intermediários da bio-hidrogenação, principalmente ácidos graxos trans-10, afeta a síntese de gordura do leite na célula da glândula mamária (BAUMAN et al., 2011).

Os ácidos graxos (AG) do leite de bovinos apresentam, em sua composição típica, de 70% a 80% de ácidos graxos saturados, e de 20% a 30% de insaturados (JENKINS; LUNDY, 2001). Alguns desses AG saturados, entre os quais os ácidos láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0), são apontados como precursores do colesterol sanguíneo de baixa densidade (LDL), responsável por doenças cardiovasculares (CHILLIARD et al., 2001; PARODI, 1999).

Recomendações de restrição ao consumo humano de alimentos ricos em gorduras saturadas pelas sociedades médicas já existem há várias décadas, principalmente por sua associação a doenças cardíacas. A possibilidade de manipular o teor de gordura do leite e seu perfil de ácidos graxos, por meio de suplementação da dieta de bovinos com fontes de gordura, é tema de alto interesse na pesquisa científica. Segundo Demeyer e Doreau (1999), convém aumentar a participação de ácidos graxos de cadeia longa, mono- e poli-insaturados, na composição da gordura do leite, pois esses AG possibilitam a redução da incidência de doenças coronarianas, com o aumento do colesterol de alta densidade, o HDL.

A diminuição do teor de gordura do leite pode ser feita pela redução do teor de fibra da dieta, principalmente por redução da fração fisicamente efetiva, e aumento do fornecimento de componentes rapidamente fermentáveis (carboidratos não fibrosos – CNF) no concentrado; entretanto, essa alteração na relação volumoso/concentrado pode acarretar prejuízos à saúde animal, gerando distúrbios, como acidose.

A utilização de lipídeos na dieta, de forma suplementar, principalmente fontes de gordura insaturadas, como óleos vegetais e óleo de peixe, é capaz de promover o mesmo decréscimo no teor de gordura do leite, sem, contudo, comprometer a saúde do animal, além de produzir, de acordo com o perfil de ácidos graxos da gordura utilizada, modificações no perfil de ácidos graxos do leite (HAYASHI, 2003; STEGEMAN et al., 1992).

Quando as vacas são alimentadas com gordura, a eficiência energética da síntese do leite é aumentada (CANT et al., 1993). Isso pode ser explicado pelo aumento da eficiência produtiva de vacas leiteiras suplementadas por uma combinação de efeitos calóricos e não calóricos. Efeitos calóricos são atribuíveis ao maior conteúdo de energia e à maior eficiência energética dos lipídeos em comparação com carboidratos e proteínas, conforme descrito no início deste capítulo.

Os efeitos não calóricos podem ser atribuídos ao fato de a suplementação lipídica de vacas leiteiras, principalmente na forma de gorduras livres, alterar a relação acetato/propionato no rúmen, diminuindo a produção de acetato em relação ao propionato, sendo o acetato um dos precursores da “síntese de novo” de ácidos graxos pela glândula mamária. O propionato, por sua vez, é o principal precursor da glicose em ruminantes via gliconeogênese hepática. Assim sendo, a suplementação de ácidos graxos insaturados na dieta proporciona economia energética na síntese do leite, por diminuição da síntese de gordura láctea e pela incorporação direta de lipídeos da dieta na gordura do leite (SANTOS, 2002), e melhora da disponibilidade de glicose para outras funções fisiológicas (produção de leite, por exemplo), além de poder alterar o perfil de ácidos graxos do leite.

Para compreender como a nutrição influencia a composição de gordura de leite, é importante saber como se dá a síntese de gordura do leite. Segundo Grummer (1991), os triglicerídeos compreendem mais de 97% da gordura do leite, sendo os ácidos graxos seu constituinte primário. Esses ácidos graxos são derivados de duas fontes principais: o acetato e o β -hidroxibutirato provenientes da fermentação ruminal de carboidratos, principalmente de carboidratos fibrosos, e de ácidos graxos de cadeia longa presentes na dieta, que são diretamente transferidos do sangue circulante para a glândula mamária, após a absorção intestinal.

A formação dos ácidos graxos do leite a partir de acetato e β -hidroxibutirato pela glândula mamária é chamada “síntese de novo”. Essa síntese de novo é catalisada por duas enzimas: a acetil CoA carboxilase (ACC) e o ácido graxo sintetase (AGS). Essa é a via que dá origem aos ácidos graxos de cadeia curta e média do leite, com cadeias de 4 a 14 átomos de carbono (C4:0 a C14:0), e de aproximadamente metade do ácido palmítico (C16:0) presente na gordura do leite. A outra metade do ácido palmítico e os demais ácidos graxos de cadeia longa são derivados de lipídeos circulantes no sangue, provenientes da absorção intestinal (GRUMMER, 1991).

Durante a bio-hidrogenação, a conversão de CLA (cis-9, trans-11 C18:2) em ácido vacênico (trans-11 C18:1) é mais rápida do que a hidrogenação deste último até ácido

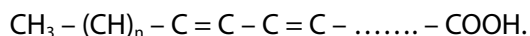
esteárico (GRIINARI et al., 1997; HARFOOT; HAZELWOOD, 1997), justificando, assim, a tendência de acúmulo de ácido transvacênico nos produtos finais. A conversão de ácido vacênico (trans-11 C18:1) em ácido esteárico (C18:0) parece envolver um grupo diferente de microrganismos e ocorre a uma taxa mais lenta (GRIINARI et al., 1997).

Além disso, o fornecimento de rações com elevada inclusão de fontes lipídicas ricas em ácidos graxos insaturados promove a inibição da etapa final do processo de bio-hidrogenação, talvez por ultrapassar a capacidade limite das bactérias em bio-hidrogenar os ácidos graxos totalmente, aumentando significativamente a concentração de ácido vacênico (trans-11 C18:1) (PALMQUIST; MATTOS, 2006). Esse ácido graxo é capaz de servir como substrato para a atuação da enzima Δ^9 -dessaturase (redutase) nos tecidos animais, resultando na síntese endógena de CLA.

Perfil de ácidos graxos e ácido linoleico conjugado

Atualmente, considera-se como alimentação saudável para humanos aquela que propicie a ingestão de ácidos graxos poli-insaturados (Pufa), ácido linolênico e ácido linoleico conjugado (CLA), tendo em vista que a ingestão de alimentos ricos em ácidos graxos poli-insaturados (ômega 6 e ômega 3) tem sido associada com a redução do risco de doenças cardiovasculares (LORGERIL; SALEN, 2002; NÖRNBERG, 2003).

O termo ácido linoleico conjugado (CLA) é utilizado para denominar isômeros específicos do ácido linoleico (C18:2) que apresentam duas duplas ligações adjacentes uma a outra, como no seguinte exemplo:



Ácido linoleico conjugado (CLA) é, portanto, a denominação empregada para um grupo heterogêneo de isômeros posicionais e geométricos de ácidos graxos insaturados, que são encontrados predominantemente no leite e em derivados lácteos, em carnes e demais produtos de origem animal, na exploração pecuária de ruminantes (BENJAMIN; SPENER, 2009).

O ácido rumênico (cis-9, trans-11 CLA) representa de 75% a 90% do total de CLA na gordura do leite, e sua presença está diretamente relacionada com a bio-hidrogenação de ácidos graxos poli-insaturados no rúmen e com a atuação de enzimas nos tecidos animais.

Como demonstrado na Figura 1, cis-9, trans-11 CLA (ácido rumênico) é formado no rúmen como primeiro intermediário da bio-hidrogenação do ácido linoleico, pela ação da enzima ácido linoleicoisomerase, proveniente da bactéria ruminal *Butyrivibrio fibrisolvens*, que isomeriza o ácido linoleico preferencialmente para as formas cis-9 e trans-11.

O ácido linolênico (alfa e beta) atravessa um processo de bio-hidrogenação semelhante ao do ácido linoleico, e também é capaz de produzir ácido vacênico trans-11 C18:1 e ácido esteárico C18:0, mas não parece dar origem ao ácido linoleico conjugado, como um intermediário do processo.

Outra via de formação de CLA nos ruminantes ocorre pela dessaturação do ácido graxo transvacênico (trans-11 C18:1), por enzima presente na glândula mamária e no tecido adiposo, chamada Δ^9 -dessaturase (CORL et al., 1999). Segundo alguns autores, à luz de pesquisas mais recentes, essa é a via responsável pela maior parte da síntese de CLA em ruminantes (CORL et al., 1999; GRIINARI et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2004), e não somente a bio-hidrogenação ruminal.

Embora o ácido cis-9, trans-11 CLA seja o isômero predominante no leite bovino, outros isômeros podem ser formados com ligações duplas nas posições 8/10, 10/12 ou 11/13. Cada uma dessas ligações duplas pode ter uma configuração cis ou trans, dando origem a uma gama de possíveis isômeros de CLA (SONG; KENNELLY, 2003).

Ao ácido linoleico conjugado (CLA) têm sido atribuídos vários efeitos positivos para a saúde humana, como: anticarcinogênico, antiaterogênico, aumento da resposta imune, redução dos depósitos lipídicos corporais e, ainda, efeito antidiabético (BAUMAN et al., 2006; PARIZA, 1999; TANAKA, 2005).

A possibilidade de aumento da presença do CLA no leite bovino por manipulação da dieta e sua associação com a saúde humana ampliam as possibilidades de a pesquisa científica aumentar a concentração de CLA por manipulação da dieta, demonstrando a viabilidade de produzir lácteos naturalmente enriquecidos com CLA.

A manutenção de uma alimentação saudável e de qualidade por parte dos consumidores, aliada à possibilidade de consumo de alimentos com reconhecidas propriedades nutracêuticas, vem aumentando nas últimas décadas. Assim sendo, a diminuição do teor de gordura do leite pela adição de ácidos graxos poli-insaturados na dieta de vacas leiteiras, associada ao incremento das concentrações de CLA no leite, poderá atender a um novo mercado de oportunidades para o leite e derivados, tais como manteiga, requeijão e queijos, melhorando, assim, a imagem que o consumidor faz dos produtos lácteos.

Chouinard et al. (1999b) e Kelly et al. (1998) indicaram que o CLA foi derivado principalmente da suplementação de ácido linoleico (cis-9, cis-12 C18:2) na dieta. No entanto, durante a bio-hidrogenação de ácido linolênico, há igual formação de ácido vacênico, podendo este último dar origem ao CLA no tecido adiposo e na glândula mamária, por dessaturação, feita pela enzima Δ^9 -dessaturase.

Dhiman et al. (2000), utilizando dietas com óleo de soja (rico em C18:2) ou óleo de linhaça (rico em C18:3), concluíram que a suplementação da dieta de vacas em lactação com essas fontes lipídicas aumentou o teor de CLA do leite. A alimentação com óleo livre diminuiu o teor de gordura total do leite, mas o elevado aumento no teor de CLA do leite de vacas alimentadas com óleos resultou num aumento da produção diária de CLA por vaca. Ainda nesse estudo, a inclusão do óleo de soja em 2% da matéria seca da dieta resultou num aumento de 237% no teor de CLA do leite, em comparação com o grupo-controle (sem adição de óleo).

Santos (2002), utilizando fontes de gordura na dieta na forma de grãos de soja moído ou óleo de soja, para obter 7% de extrato etéreo (EE) na matéria seca total (MST), comparando os resultados com um grupo-controle (com 3% de EE na dieta e sem adição de fonte de lipídeos na dieta), também observou aumento de CLA na gordura do leite. Esses resultados, portanto, demonstram que a adição de óleo não protegido à dieta aumenta o teor de CLA, conforme observado por McGuire et al. (1996) e Griinari et al. (1996).

Santos (2002) ainda observou que as fontes de lipídeos utilizadas nas dietas experimentais diminuíram o total de ácidos graxos saturados do leite, principalmente no grupo alimentado com óleo de soja, e tenderam a aumentar o total de ácidos graxos insaturados.

A diminuição do teor de ácidos graxos saturados de cadeia curta na gordura do leite, principalmente em dietas contendo óleo livre, pode ser explicada pelo menor suprimento de ácidos acético e butírico, que alteraram a relação acetato:propionato ruminal, com diminuição da produção desses ácidos graxos voláteis por ação microbiana ruminal. Tanto o ácido acético quanto o ácido butírico são utilizados na síntese de novos ácidos graxos de cadeia curta do leite na glândula mamária (JENKINS, 1993). A redução do teor de ácidos graxos saturados de cadeia curta ocorre também em virtude do aumento do fornecimento de lipídeos ricos em ácidos graxos insaturados na dieta, em que parte desses escapa do processo de bio-hidrogenação ruminal, sendo absorvidos no intestino delgado e incorporados diretamente ao leite, poupando, assim, etapas metabólicas.

Em experimento conduzido por Huang et al. (2008), utilizando dietas com diferentes fontes de lipídeos e variadas combinações entre as fontes na alimentação de vacas leiteiras

(óleo de soja; CLA livre; óleo de soja + CLA; sais cálcicos de CLA; óleo de soja + sais cálcicos de CLA; CLA + óleo de soja), observou-se que dietas com óleo de soja, CLA livre ou mistura de ambos, bem como de sais cálcicos de CLA, produziram uma redução significativa no teor de ácidos graxos de cadeia curta e média (C4:0-C14:0), bem como de C16:0 na gordura do leite, em comparação com a dieta-controle. A extensão da redução foi maior para aquelas dietas que continham a maior quantidade de gordura (óleo de soja e óleo de soja + CLA). A diminuição de concentrações de C4:0, C14:0 e C16:0 no leite, causada pelo CLA ou pela suplementação de óleo de soja, são consistentes com relatos anteriores da literatura (CHOUINARD et al., 1999a; DHIMAN et al., 2000; PERFIELD et al., 2002). Huang et al. (2008) concluíram que a suplementação com CLA livre ou sais cálcicos de CLA aumentou a concentração de CLA na gordura do leite, sendo que a dieta com 5% de óleo de soja ou 4% de óleo de soja + 1% de CLA produziu maior teor de CLA no leite e aumento da produção diária de CLA no leite.

Com base em seus resultados, Huang et al. (2008) concluíram também que pode ser economicamente mais vantajoso utilizar óleo de soja na alimentação de vacas para aumentar o teor de CLA e o rendimento do leite, do que lhes fornecer um suplemento alimentar com CLA.

Palmquist e Griinari (2006), em experimento utilizando uma dieta basal com óleo de girassol e substituição desse, em proporções fixas, por óleo de peixe (0; 33; 66 e 100% de substituição), observaram que os ácidos graxos do óleo de girassol (rico em ácido linoleico), ou os seus metabolitos, inibem mais fortemente a síntese de novo de ácidos graxos na glândula mamária do que os ácidos graxos de óleo de peixe.

Efeito da suplementação de gordura sobre o surgimento da síndrome de depressão da gordura do leite

O aparecimento da síndrome de depressão da gordura do leite é perceptível em vacas alimentadas com dietas altamente fermentadas ou dietas que contenham óleo vegetal ou óleo de peixe como fonte de suplementação lipídica (BAUMAN et al., 2011).

Grandes variações do teor de gordura do leite são comumente observadas na mesma espécie animal, sendo a magnitude dessa variação muito superior à dos demais componentes do leite (lactose, proteína e outros nutrientes presentes em menor quantidade).

Por exemplo, é comum verificar, num mesmo rebanho de vacas leiteiras, teores de gordura variando de 2,0% a 5,0% (BAUMAN; GRIINARI, 2003).

A depressão da gordura do leite (DGL) foi relatada pela primeira vez em 1885, quando Boussingault observou a redução da produção de gordura do leite quando beterrabas foram introduzidas na alimentação de vacas leiteiras, fato referido por Van Soest (1994).

Griinari et al. (2000) justificam o aparecimento dessa síndrome como resultado da interação entre fatores ligados ao processo digestivo do bovino e o metabolismo tecidual.

Diversos fatores ligados à alimentação podem levar à diminuição do teor e da síntese de gordura do leite.

Dietas ricas em carboidratos de rápida fermentação ruminal, ou dietas pobres em fibra (relação volumoso/concentrado inferior a 40:60), ou na qual a fonte de fibra da dieta não é suficiente para manter e estimular a ruminação, promovem queda de pH do rúmen a valores inferiores a 6.

Abaixo desse valor de pH, ocorrem alterações severas na microbiota ruminal, como o desaparecimento de espécies celulolíticas e protozoários, diminuindo, assim, a degradação da fração fibrosa do alimento pela microbiota e, conseqüentemente, diminuindo a produção dos ácidos graxos voláteis acético e butírico, ambos responsáveis pela síntese de novo de ácidos graxos na glândula mamária.

Em dietas com grande inclusão de concentrado, a adição de tamponantes minimiza as alterações da fermentação ruminal e pode restaurar, a níveis normais, a produção de gordura do leite (KENNELLY et al., 1999). Além disso, a diminuição do pH ruminal afeta negativamente a bio-hidrogenação ruminal de ácidos graxos poli-insaturados, aumentando a concentração de intermediários da bio-hidrogenação, levando, assim, a uma maior absorção intestinal desses ácidos graxos pelo ruminante.

A descoberta de alterações na produção de gordura do leite em animais suplementados com gordura, feita por Davis e Brown (1970), correlacionando a presença de ácidos graxos trans-C18:1 com a diminuição da produção de gordura do leite, foi a chave para dar início às pesquisas sobre DGL.

Posteriormente, Bauman e Griinari (2001) propuseram que a indução dietética da DGL era devida à inibição da síntese de lipídeos na glândula mamária, por ação de ácidos graxos específicos, produzidos durante a bio-hidrogenação ruminal de ácidos graxos poli-insaturados.

Em recente estudo, Bauman et al. (2011) descreve que avanços no conhecimento da bio-hidrogenação ao longo da última década permitiram determinar que a ocorrência de DGL envolve uma inter-relação entre o processo de fermentação ruminal da dieta e a síntese mamária de gordura do leite. Esse mesmo autor cita que a DGL, induzida pela dieta, é frequentemente encontrada na produção leiteira moderna, e sua ocorrência exige duas condições: 1) alteração no ambiente do rúmen, com a mudança da microbiota ruminal comumente relacionada à alteração de pH no rúmen; 2) presença de ácidos graxos poli-insaturados na dieta.

Com o objetivo de comprovar os efeitos de ácidos graxos formados pela incompleta bio-hidrogenação ruminal, Baungard et al. (2000), utilizando a infusão abomasal em bovinos de leite de isômeros relativamente puros, observaram que a infusão abomasal de trans-10, cis-12 CLA resultou na diminuição imediata da síntese de gordura do leite, enquanto o isômero cis-9, trans-11 CLA (ácido rumênico) não demonstrou ter efeito na indução da DGL.

Atualmente, o isômero trans-10, cis-12 CLA é considerado o principal isômero responsável pela DGL – com efeito, trabalhos científicos demonstram efeitos de dose-resposta na diminuição do teor de gordura do leite. Outros isômeros, formados durante a bio-hidrogenação ruminal de ácidos graxos poli-insaturados, estão sendo estudados a fim de determinar seus efeitos sobre a DGL, e futuramente poderão ser incluídos como corresponsáveis pelo efeito do trans-10, cis-12 CLA sobre o aparecimento da síndrome de DGL.

Efeitos da gordura livre

Sobre a ingestão de matéria seca

A suplementação com gordura em dietas para vacas leiteiras tem como um dos principais objetivos aumentar a ingestão de energia em situações nas quais a capacidade de consumo do animal é reduzida, principalmente no início da lactação. Em princípio, o balanço energético negativo (BEN) pode ser amenizado, permitindo que o animal manifeste plenamente seu potencial genético. Porém, na prática, nem sempre isso é possível, visto que a gordura suplementar produz outros efeitos sobre o metabolismo animal e sobre a fermentação ruminal, que podem levar o animal a ingerir menor quantidade de energia do que se ingerisse uma dieta sem gordura complementar. Nesse caso, a produção de leite não vai ser incrementada (SCHAFHÄUSER JÚNIOR, 2005).

A inclusão de níveis muito elevados de óleo nas rações, ou seja, acima de 7% de EE na MS, pode apresentar efeitos negativos e inibitórios na fermentação ruminal (KOZLOSKI, 2012), comprometendo o consumo (PALMQUIST; MATTOS, 2006) e a digestibilidade de alguns nutrientes, principalmente da fração fibrosa (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001; VARGAS et al., 2002), e provocando mudanças da população celulolítica (COSTA, 2008).

Acredita-se que a depressão de apetite, como efeito da gordura sobre a fermentação ruminal, a motilidade intestinal, a aceitabilidade da dieta com suplemento (grau de palatabilidade), a secreção de hormônios intestinais, como a colecistocinina (CCK), a taxa glicêmica sanguínea e a capacidade limitada de os ruminantes oxidarem os ácidos graxos sejam as principais razões da inibição do consumo de alimentos (ALLEN, 2000). Esse efeito de redução do CMS por meio da suplementação lipídica pode ser também atribuído à redução da fermentação ruminal e à digestibilidade da fibra que algumas fontes de gordura produzem, que, por sua vez, contribuiriam para o tempo de permanência do alimento no rúmen-retículo (CHOI et al., 2000; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001).

O aporte de ácidos graxos poli-insaturados (óleos vegetais e óleo de peixe) tem efeito direto sobre a fermentação ruminal, provocando modificação na ingestão, pela modificação do padrão de fermentação ruminal, com mudanças da população celulolítica e diminuição da digestibilidade da fibra (COSTA, 2008).

Alterações na fermentação ruminal e no consumo de alimentos parecem estar relacionadas também com as características do volumoso empregado na dieta. Dietas contendo alta concentração de lipídeos, principalmente na forma de gordura vegetal e sebo, em que a única fonte de volumoso empregada foi a silagem de milho, produziram maior depressão no consumo de matéria seca do que dietas em que 25% a 50% da silagem de milho foi substituída por feno de alfafa (SMITH et al., 1993). A alfafa, principalmente na forma de feno, parece adsorver parte da gordura livre presente no rúmen, diminuindo o efeito dessa em nível ruminal.

Quando é aumentada a densidade energética da dieta das vacas leiteiras com a utilização de gorduras, é esperado um maior consumo de energia, desde que o consumo de matéria seca não diminua (COPPOCK; WILKS, 1991).

Em trabalho realizado por Costa (2008), o consumo de matéria seca foi menor para as dietas suplementadas com fontes lipídicas, em comparação com a dieta-controle, concordando com outros pesquisadores (MALAFAIA et al., 1996; PALMSQUIT; JENKINS, 1980; SCHAFFHÄUSER JÚNIOR, 2005; VARGAS et al., 2002), independentemente da natureza da

fonte lipídica. Os principais efeitos da adição de óleo sobre o consumo estão associados a alterações da fermentação ruminal (PALMQUIST, 1984).

Em estudo feito por Kelly et al. (1998), utilizando três dietas isoproteicas, isofibróticas e isoenergéticas, todas com 8,5% de EE na MS total, variando apenas a fonte lipídica adicionada (óleo de amendoim, óleo de girassol e óleo de linhaça), não foram encontradas diferenças de consumo de matéria seca ($21,1 \pm 0,3$ kg por dia) e de produção de leite (média de $34,2 \pm 1,3$ kg por dia) entre os tratamentos.

Ueda et al. (2003) não observaram diferenças na ingestão de MS em animais que receberam 3% de óleo de linhaça na MS da ração, em comparação com os que não receberam essa suplementação. Já Eifert et al. (2006) observaram a redução significativa de ingestão de MS (13,8%) com a inclusão de 3,93% de óleo de soja na dieta de vacas em lactação, alcançando 6,19% de extrato etéreo na MS.

Sobre a produção e a composição do leite

A suplementação lipídica nem sempre leva a uma maior produção de leite. Há situações em que o consumo de matéria seca total é reduzido pela adição de gordura livre, e o aumento da ingestão de energia por fonte lipídica não se mostra compensatório (LÓPEZ, 2001; NÖRNBERG, 2003).

A redução da síntese de gordura do leite, que ocorre em alguns casos pela suplementação lipídica, libera mais energia para a síntese de outros componentes do leite (NÖRNBERG et al., 2004), entre eles a lactose, estando essa diretamente relacionada com o volume de leite produzido (litros por dia).

Grummer (2004) relata que a resposta da produção de leite em vacas em início de lactação aumentou 0,30 kg por dia por incremento unitário de gordura suplementada, enquanto a resposta em produção de leite de vacas no meio da lactação não foi significativa.

A resposta positiva de vacas em lactação precoce pode ser parcialmente explicada pelo balanço energético negativo, com uma maior transferência de ácidos graxos da dieta, do sangue para a glândula mamária. O aumento da incorporação de ácidos graxos da dieta para o leite provavelmente vai aumentar a disponibilidade de glicose para a síntese de lactose e a produção de leite (GRUMMER, 2004).

Schafhäuser Júnior (2005), trabalhando com vacas leiteiras e diferentes dietas de 3,5%, 5,0%, 6,5% e 8% de extrato etéreo, usando gordura livre em substituição aos carboidratos

da dieta, utilizando farelo de arroz integral e óleo de arroz em suas formulações, observou que a produção de leite se manteve nos quatro tratamentos, não obtendo efeito da gordura sobre essa variável. Entretanto, a adição de gordura à dieta de vacas em lactação poderá aumentar a produção de leite quando a energia for o fator limitante na dieta, desde que atendida a demanda de outros nutrientes do animal.

As alterações na concentração de proteína do leite, por meio de manipulações dietéticas, ocorrem numa escala bem menor do que para a gordura. A produção de proteína do leite decorre do suprimento de aminoácidos originários de fonte endógena, microbiana e proteínas dietéticas não degradadas (BROCKMAN, 2005; FIRKINS et al., 2006; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001).

Segundo Palmquist e Jenkins (1980), a adição elevada de lipídeos na dieta diminui a produção e o teor de proteína do leite. As gorduras de origem vegetal na forma livre na dieta diminuem a capacidade de fermentação ruminal por recobrimento de partículas do alimento e células bacterianas, além de seus efeitos tóxicos à microbiota ruminal, diminuindo, assim, a multiplicação microbiana e, conseqüentemente, o aporte de aminoácidos de origem microbiana para o intestino (COPPOCK; WILKS, 1991; SMITH et al., 1993; VAN SOEST, 1994).

Quando se utiliza suplementação lipídica, deve-se ter especial atenção para o aporte de proteína metabolizável da dieta, pois o uso de gordura livre pode acarretar a diminuição da concentração de proteína do leite, normalmente em 0,1 a 0,2 unidade percentual, podendo ser prevenida pelo aumento da proteína metabolizável na dieta, evitando, assim, a depressão no teor de proteína do leite (LOCK; GARNSWORTHY, 2002). Essa redução da concentração de proteína do leite ocorre, provavelmente, em virtude de um menor aporte de aminoácidos para a glândula mamária (EMERY, 1978; WU; HUBER, 1994).

Stern et al. (1994), revisando os fatores ligados à síntese de proteína no leite, sugerem que a adição de gordura na dieta afeta o fluxo de proteína microbiana no rúmen, por alterar a quantidade de carboidratos na dieta, a fermentação dos carboidratos e, possivelmente, a quantidade de N incorporado na proteína microbiana, por unidade de carboidrato fermentado. É bom lembrar que a degradação ruminal da proteína dietética é um dos fatores que mais influenciam o suprimento de aminoácidos para vacas leiteiras, e que pode comprometer os teores de proteína no leite.

Costa (2008) observou redução na proteína do leite, utilizando dietas contendo grão de soja tratado quimicamente, em virtude da baixa disponibilidade de aminoácidos que chegam à glândula mamária para a síntese da proteína do leite. Segundo Palmquist e Weiss (1994), a explicação para esse resultado é que os microrganismos do rúmen não

são capazes de utilizar lipídeos como fonte energética para seu crescimento, o que afeta a síntese microbiana e, conseqüentemente, o fornecimento dos aminoácidos para a síntese proteica do leite.

A lactose, principal componente osmótico do leite, geralmente não sofre alterações drásticas com o aumento da suplementação de gordura na dieta. A lactose sofre pouca influência da alimentação; por isso, sua concentração no leite é bastante constante, sendo considerada um marca-passo da síntese do leite, por ser, junto com o potássio, o seu principal componente osmótico (MÜHLBACH et al., 2000).

Vargas et al. (2002), trabalhando com vacas em lactação, utilizando gordura de soja, em níveis de 3,0% a 7,0 % de extrato etéreo, na forma de grão ou óleo, não encontraram efeito da adição de gordura dietética sobre a lactose do leite. Resultados semelhantes foram obtidos por Schafhäuser Júnior (2005), que não verificou influência da suplementação com gordura (farelo integral e óleo de arroz), em níveis crescentes, sobre os teores de lactose, assim como sobre a produção diária de lactose.

Utilizando vacas da raça Jersey, López (2001) observou que a suplementação de gordura na dieta (na forma de gordura protegida), grãos de soja triturados e sebo aumentou a produção de leite corrigida e melhorou a eficiência alimentar, não tendo, entretanto, efeitos sobre as concentrações de gordura, proteína, lactose e ureia do leite.

Sobre a produção de metano

Fermentação ruminal é um conjunto de atividades físicas e microbiológicas que transformam os constituintes da dieta em produtos considerados úteis aos animais. A produção desse gás no rúmen representa perda considerável de energia, além de ser considerado um importante gás de efeito estufa, pois, como não é metabolizado pelo animal nem pelos microrganismos, é expelido para o ambiente, pela eructação.

O metano está diretamente relacionado com a eficiência de fermentação ruminal, pois sua produção representa dispêndio de carbono e/ou hidrogênio, e conseqüente perda de energia, resultando em menor desempenho animal (VALADARES FILHO; PINA, 2006).

O uso de óleo nas rações pode proporcionar efeitos desejáveis, como inibição da produção de metano e amônia no rúmen, e aumento da eficiência de síntese microbiana (MACHMÜLLER; KREUZER, 1999). Segundo Chalupa et al. (1986), os lipídeos insaturados estimulam as bactérias ruminais produtoras de propionato, causando decréscimo na razão

acetato/propionato e na produção de metano, agindo de maneira similar aos ionóforos (aditivo alimentar utilizado nas rações para modificar a flora ruminal).

Em revisão feita por Cieślak et al. (2006), foi descrito decréscimo na produção de metano *in vitro* com o uso de óleo de linhaça e constatado que o nível de emissão pelos ruminantes é diretamente proporcional à bio-hidrogenação dos ácidos graxos, o que indica interação entre os processos no rúmen.

Martin et al. (2008) encontraram significativa redução na produção de metano em vacas alimentadas com ração contendo 5% de óleo de linhaça, confirmando o efeito ambiental positivo do uso desse ingrediente. A inibição da metanogênese ruminal parece estar positivamente relacionada com a disponibilidade dos ácidos graxos no rúmen; com efeito, nesse estudo, em que foram testadas diferentes formas de apresentação de linhaça na ração, esse óleo foi o mais eficaz em reduzir a síntese de metano.

Sobre a reprodução bovina

As funções reprodutivas, como a ciclicidade estral e o início da gestação, são funções de baixa prioridade em uma escala de partição dos nutrientes, e somente serão ativadas quando as demandas de manutenção, crescimento e reserva de nutrientes forem supridas. Assim, em bovinos de leite, a nutrição energética constitui um dos principais fatores que afetam positivamente a eficiência reprodutiva das fêmeas ruminantes, sendo uma estratégia de manejo nutricional que muito pode contribuir para o aumento da eficiência de tecnologias voltadas para a reprodução (DIAS et al., 2009).

O balanço energético nutricional está relacionado com a regularidade dos ciclos ovulatórios, e os mecanismos determinantes parecem estar associados a sinais metabólicos e hormônios reguladores, principalmente a insulina e o fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I). Quando as vacas estão em BEN, as concentrações sanguíneas de ácidos graxos não esterificados (AGNE) aumentam em decorrência da mobilização de gordura corporal, enquanto as de IGF-I, glicose e insulina ficam baixas. Essa alteração dos níveis sanguíneos desses metabólitos e hormônios está geralmente associada ao comprometimento da função ovariana e da fertilidade.

A função ovariana é regulada por GnRH, FSH e LH, que promovem o crescimento folicular e a síntese de esteroides (progesterona, estrogênio e testosterona). Por meio da suplementação lipídica, é possível elevar a síntese hormonal, inclusive a esteroidogênese folicular e luteal, e as prostaglandinas, por meio da inibição de enzimas que atuam na

conversão do ácido araquidônico, além de conseguir potencializar as ações de fatores de crescimento, especialmente o fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), e o fornecimento de nutrientes para todos os eventos da foliculogênese ovariana (DIAS et al., 2009). Sturmey et al. (2009) assinalam a importância da inclusão de lipídeos na dieta como modulador do crescimento folicular e do microambiente oócito/embrião.

Quando falta energia na dieta, a frequência de pulsos do hormônio luteinizante (LH) é reduzida, comprometendo a maturação do folículo e a ovulação. Além disso, a desnutrição inibe o comportamento estral, pela redução da responsividade do sistema nervoso central ao estradiol, porque reduz o teor de receptor α de estrogênio no cérebro (HILEMAN et al., 1999).

No que se refere ao recrutamento e à diferenciação de células primordiais do ovário, a fim de gerar um folículo ovariano com capacidade ovulatória, a qualidade do ovócito produzido durante períodos de déficit energético, como no período de BEN, é também inferior, em virtude da menor disponibilidade de nutriente e hormônios (principalmente LH) necessários à maturação e à diferenciação folicular. Menor viabilidade embrionária desses oócitos, assim como corpo lúteo menos competente em produzir e manter níveis plasmáticos de progesterona, pode estar associada à deficiência energética na dieta.

De acordo com Snijders et al. (2000), vacas que perdem de forma intensa a condição corporal no início da lactação e aquelas com altas concentrações hepáticas de triacilglicerol, que são indicativos de mobilização excessiva de gordura (KRUIP et al., 2001), produzem oócitos de qualidade inferior, observáveis na redução do desenvolvimento *in vitro*. Altas concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNEs), presentes em casos de subnutrição, reduzem a proliferação *in vitro* de células da granulosa, retardando a maturação do oócito e, dessa forma, prejudicando a produção de blastocistos (JORRITSMA et al., 2004).

Ácidos graxos insaturados são componentes essenciais de todas as membranas celulares, e a proporção de diferentes ácidos graxos insaturados nos tecidos do trato reprodutivo reflete seu consumo na dieta (WATHES et al., 2007). A composição de ácidos graxos na dieta tem um papel crucial na determinação do efeito na reprodução, pois eles podem ter um papel-chave na modulação do desenvolvimento folicular, na secreção de PGs e na esteroidogênese (ZACHUT et al., 2008).

A alimentação de vacas com fontes de gordura ricas em ácidos graxos insaturados n-6 (ácido linoleico), como óleos de girassol, soja, milho e arroz, durante o final da gestação e início da lactação aumenta o crescimento folicular, a secreção de prostaglandina uterina, a taxa de prenhez e a qualidade dos embriões. Já a suplementação com ácidos graxos

insaturados n-3 (ácido linolênico), como o óleo de linhaça, em vacas, durante a lactação, suprime a produção de prostaglandinas uterinas, diminuindo as perdas embrionárias por reabsorção e auxiliando a manter a prenhez (SANTOS et al., 2008).

Em um estudo realizado por Petit e Twagiramungu (2006), em vacas suplementadas com gorduras, houve aumento na taxa de concepção, na ciclicidade e na concentração de progesterona, e diminuição da mortalidade embrionária.

Considerações finais

A suplementação de vacas leiteiras com gorduras poli-insaturadas, principalmente na forma de óleos vegetais, demonstra ser uma importante ferramenta nutricional quando se pretende aumentar a concentração de ácidos graxos monoinsaturados e ácido linoleico conjugado (CLA). Ademais, poderá ser, brevemente, uma prática nutricional adotada com a finalidade de produzir leite e produtos lácteos com propriedades nutracêuticas, abrindo, assim, um novo e rentável mercado, tanto para produtores quanto para indústrias brasileiras, como já vem acontecendo em alguns países europeus.

A inclusão de altos níveis de gordura suplementar (de 6% a 8% de extrato etéreo na matéria seca total da dieta) é eficaz em diminuir os efeitos do balanço energético negativo no início da lactação, com efeitos diretos e indiretos, como:

- Elevado valor calórico em relação aos carboidratos e proteínas da dieta.
- Diminuição expressiva da síntese de novo de gordura do leite na glândula mamária, principalmente dos ácidos graxos saturados de cadeia curta e média, com expressiva diminuição do gasto energético e da utilização de glicose pela glândula mamária.
- Agregação direta à gordura do leite, de ácidos graxos pré-formados no trato digestivo, de cadeia longa, mono- e poli-insaturados, poupando rotas metabólicas para a síntese de gordura.
- Maior disponibilidade de glicose para outras funções fisiológicas, mais dependentes da glicose, como síntese de lactose.
- Melhora da função reprodutiva, pelo potencialização da esteroidogênese.
- Redução da produção e da emissão de metano, tornando o processo de fermentação ruminal mais eficiente quanto à utilização de hidrogênio e carbono.

A utilização da suplementação lipídica deve estar associada a uma correta formulação da dieta, de tal forma que possa suprir as quantidades necessárias de carboidratos não fibrosos, proteína metabolizável, minerais e fibras, mantendo uma relação volumoso:concentrado ajustada, com especial atenção ao nível de efetividade da fibra do volumoso utilizado.

Referências

- ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1598-1624, 2000.
- BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 23, n. 1, p. 203-227, 2003.
- BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v. 70, n. 1, p. 15-29, 2001.
- BAUMAN, D. E.; HARVATINE, K. J.; LOCK, A. L. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**, v. 31, p. 299-319, 2011.
- BAUMAN, D. E.; MATHER, I. H.; WALL, R. J.; LOCK, A. L. Major advances associated with the biosynthesis of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1235-1243, 2006.
- BAUMGARD, L. H.; CORL, B. A.; DWYER, D. A.; SAEBO, A.; BAUMAN, D. E. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 278, n. 1, p. R179-R184, 2000.
- BAUMGARD, L. H.; SANGSTER, J. K.; BAUMAN, D.E. Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA). **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 6, p. 1764-1769, 2001.
- BENJAMIN, S.; SPENER, F. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. **Nutrition & Metabolism**, v. 6, n. 1, p. 36, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 15, de 17 de julho de 2001. Proíbe a importação de ruminantes, embriões e produtos derivados destas espécies, quando procedentes e/ou originários de países que registraram casos autóctones da encefalopatia espongiforme bovina e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 138, 18 jul. 2001. Seção 1.
- BROCKMAN, R. P. Glucose and short-chain fatty acid metabolism. In: DIJKSTRA, J.; FORBES, J. M.; FRANCE, J. (Ed.). **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. 2nd ed. Oxfordshire: CAB International, 2005. p. 291-310.
- CANT, J. P.; DEPETERS, E. J.; BALDWIN, R. L. Mammary amino acid utilization in dairy cows fed fat and its relationship to milk protein depression. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 3, p. 762-774, 1993.
- CHALUPA, W.; VECCHIARELLI, B.; ELSER, A. E.; KRONFELD, D. S.; SKLAN, D.; PALMQUIST, D. L. Ruminal fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 5, p. 1293-1301, 1986.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; MANSBRIDGE, R. M.; DOREAU, M. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. **Annales de Zootechnie**, v. 49, n. 3, p. 181-205, 2000.
- CHILLIARD, Y.; FERLAY, A.; DOREAU, M. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. **Livestock Production Science**, v. 70, n. 1, p. 31-48, 2001.

- CHOI, B. R.; PALMQUIST, D. L.; ALLEN, M. S. Cholecystokinin mediates depression of feed intake in dairy cattle fed high fat diets. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 19, n. 3, p. 159-175, 2000.
- CHOUINARD, P. Y.; CORNEAU, L.; BARBANO, D. M.; METZGER, L. E.; BAUMAN, D. E. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. **The Journal of Nutrition**, v. 129, n. 8, p. 1579-1584, 1999a.
- CHOUINARD, P. Y.; CORNEAU, L.; SAEBO, A.; BAUMAN, D. E. Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acids in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 12, p. 2737-2745, 1999b.
- CHURCH, D. C. **El Rumiante: fisiología digestiva y nutrición**. 3. ed. Zaragoza: Acribia, 1993.
- CIEŚLAK, A.; SOLIVA, C. R.; POTKAŃSKI, A.; SZUMACHER-STRABEL, M.; SCHEEDER, M. R. L.; MACHMÜLLER, A. Effect of plant oils on methane emission and biohydrogenation in vitro. **International Congress Series**, v. 1293, p. 180-183, July 2006.
- COPPOCK, C. E.; WILKS, D. L. Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion, milk yield, and composition. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 9, p. 3826-3837, 1991.
- CORL, B. A.; LACY, S. H.; BAUMGARD, L. H.; DWYER, D. A.; GRINARI, J. M.; PHILLIPS, S.; BAUMAN, D. E. Examination of the importance of Δ^9 - desaturase and endogenous synthesis of conjugated linoleic acid in lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 118, 1999.
- COSTA, M. G. **Rações com diferentes fontes de gordura para vacas em lactação**. 2008. 119 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- COSTA, R. G.; QUEIROGA, R. C. R. E.; PEREIRA, R. A. G. Influência do alimento na produção e qualidade do leite de cabra. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 307-321, 2009.
- DAVIS, C. L.; BROWN, R. E. Low-fat milk syndrome. In: PHILLIPSON, A. T. (Ed.). **Physiology of digestion and metabolism in the ruminant**. Newcastle-upon-Tyne: Oriel Press, 1970. p. 545-565.
- DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, n. 3, p. 593-607, 1999.
- DHIMAN, T. R.; SATTER, L. D.; PARIZA, M. W.; GALLI, M. P.; ALBRIGHT, K.; TOLOSA, M. X. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 5, p. 1016-1027, 2000.
- DIAS, J. C.; MARTINS, J. A. M.; EMERICK, L. L.; SOUZA, F. A.; ANDRADE, V. J. Efeitos da suplementação lipídica no aumento da eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, n. 2, p. 95-104, 2009.
- DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. **British Journal of Nutrition**, v. 78, n. 1, p. S15-S35, 1997.
- DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Influence d'une supplémentation de la ration en lipides sur la qualité du lait chez la vache. **INRA Productions animales**, v. 5, n. 2, p. 103-111, 1992.
- EIFERT, E. C.; LANA, R. P.; LANNA, D. P. D.; LEOPOLDINO, W. M.; ARCURI, P. B.; LEÃO, M. I.; COTA, M. R.; VALADARES FILHO, S. D. C. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e monensina no início da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 1, p. 231-240, 2006.
- EMERY, R. S. Feeding for increased milk protein. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 6, p. 825-828, 1978.
- FIRKINS, J. L.; HRISTOV, A. N.; HALL, M. B.; VARGA, G. A.; ST-PIERRE, N. R. Integration of ruminal metabolism in Dairy Cattle 1, 2. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. E31-E51, 2006. Supplement.
- GAGLIOSTRO, G.; CHILLIARD, Y. Duodenal rapeseed oil infusion in early and mid-lactation cows: 2. Voluntary intake, milk production, and composition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 2, p. 499-509, 1991.

- GRIINARI, J. M.; BAUMAN, D. E. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: YURAWECZ, M. P.; MOSSOBA, M. M.; KRAMER, J. K. G.; PARIZA, M. W.; NELSON, G. (Ed.). **Advances in conjugated linoleic acid research**. Champaign: AOCS Press, 1999. v. 1, p. 180-200.
- GRIINARI, J. M.; CHOUINARD, P. Y.; BAUMAN, D. E. Trans fatty acid hypothesis of milk fat depression revised. **Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers**, p. 208-216, 1997.
- GRIINARI, J. M.; CORL, B. A.; LANCY, S. H.; CHOUINARD, P. Y.; NURMELA, K. V. V.; BAUMAN, D. E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by $\Delta 9$ - desaturase. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2285-2291, 2000.
- GRIINARI, J. M.; DWYER, D. A.; MCGUIRE, M. A.; BAUMAN, D. E. Partially hydrogenated fatty acid and milk fat depression. **Journal of Dairy Science**, v. 79, suppl. 1, p. 177, 1996.
- GRUMMER, R. R. Effect of feed on the composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 9, p. 3244-3257, 1991.
- GRUMMER, R. R. Gordura da dieta: fonte energética e/ou regulador metabólico. In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 8., 2004, Uberlândia. **Anais... Uberlândia: Conapec Jr.: Unesp-Botucatu**, 2004. p. 83-108.
- HARFOOT, C. G.; HAZLEWOOD, G. P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. [S.l.]: Springer, 1997. p. 382-426.
- HAYASHI, A. A. **Efeito da suplementação com ácido linoléico conjugado (CLA) na composição do leite, no perfil de ácidos graxos e na atividade de enzimas lipogênicas em ratas lactantes**. 2003. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- HILEMAN, S. M.; LUBBERS, L. S.; JANSEN, H. T.; LEHMAN, M. N. Changes in hypothalamic estrogen receptor-containing cell numbers in response to feed restriction in the female lamb. **Neuroendocrinology**, v. 69, n. 6, p. 430-437, 1999.
- HUANG, Y.; SCHOONMAKER, J. P.; BRADFORD, B. J.; BEITZ, D. C. Response of milk fatty acid composition to dietary supplementation of soy oil, conjugated linoleic acid, or both. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 1, p. 260-270, 2008.
- JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 12, p. 3851-3863, 1993.
- JENKINS, T. C.; LUNDY, F. **Feeding various fat sources to lactating dairy cows and their effects on milk quality**. 2001. Disponível em: <<http://www.das.psu.edu/dcn/workshop/dcn2001/pdf/jenkinspaper.pdf>>. Acesso em: 5 jun. 2012.
- JORRITSMA, R.; CESAR, M. L.; HERMANS, J. T.; KRUITWAGEN, C. L. J. J.; VOS, P. L. A. M.; KRUIP, T. A. M. Effects of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cells and developmental potential of oocytes in vitro. **Animal Reproduction Science**, v. 81, n. 3/4, p. 225-235, 2004.
- KELLY, M. L.; BERRY, J. R.; DWYER, D. A.; GRIINARI, J. M.; CHOUINARD, P. Y.; AMBURGH, M. E. van; BAUMAN, D. E. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. **The Journal of Nutrition**, v. 128, n. 5, p. 881-885, 1998.
- KENNELLY, J. J.; ROBINSON, B.; KHORASANI, G. R. Influence of carbohydrate source and buffer on rumen fermentation characteristics, milk yield, and milk composition in early-lactation Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 11, p. 2486-2496, 1999.
- KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3. ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 2012. 140 p.
- KRUIP, T. A. M.; WENSING, T.; VOS, P. L. A. M. Characteristics of abnormal puerperium in dairy cattle and the rationale for common treatments. In: DISKIN, M. G. (Ed.). **Fertility in the high producing dairy cow**. Edinburgh: British Society of Animal Science, 2001. v. 2. p. 63-79. (Occasional Publication, n. 26).
- LOCK, A. L.; BAUMAN, D. E. Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. **Lipids**, v. 39, n. 12, p. 1197-1206, 2004.

LOCK, A. L.; GARNSWORTHY, P. C. Independent effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows' milk. **Animal Science**, v. 74, p. 163-176, 2002.

LOCK, A. L.; HARVATINE, K. J.; DRACKLEY, J. K.; BAUMAN, D. E. Concepts in fat and fatty acid digestion in ruminants. **Proceedings Intermountain Nutritional Conference**, p. 85-100, 2006.

LOCK, A. L.; SHINGFIELD, K. J. Optimising milk composition. In: KEBREAB, E.; MILLS, J.; BEEVER, D. E. (Ed.). **Dairying: using science to meet consumers' needs**. Conference Proceedings, University of Reading, UK, September 2002. Loughborough: Nottingham University Press, 2004. p. 107-188.

LÓPEZ, S. E. **Suplementação com diferentes fontes de gordura para vacas jersey de alta produção na fase inicial de lactação**. 2001. 242 f. Tese (Doutorado em Zootecnia - Produção Animal) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

LORGERIL, M. de; SALEN, P. Fish and N-3 fatty acids for the prevention and treatment of coronary heart disease: nutrition is not pharmacology. **The American Journal of Medicine**, v. 112, n. 4, p. 316-319, 2002.

MACHMÜLLER, A.; KREUZER, M. Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 79, n. 1, p. 65-72, 1999.

MALAFAIA, P. A. M.; VALADARES FILHO, S. de C.; SILVA, J. F. C. da; LEÃO, M. I.; PEREIRA, J. C.; VIEIRA, R. A. M.; MATOS, F. N. Sebo bovino em rações para vacas em lactação: 1. Consumo dos nutrientes, produção e composição do leite. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 25, n. 1, p. 153-163, 1996.

MARÍN, A. L. M.; HERNÁNDEZ, M. P.; ALBA, L. P.; CASTRO, G. G.; SÍGLER, A. I. G. Efecto de la grasa de la dieta sobre la grasa láctea de los rumiantes: una revisión. **Interciencia**, v. 35, n. 10, p. 723-729, 2010.

MARTIN, C.; ROUEL, J.; JOUANY, J. P.; DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 10, p. 2642-2650, 2008.

MCGUIRE, M. A.; MCGUIRE, M. K.; GUY, M. A.; SANCHEZ, W. K.; SHULTZ, T. D.; HARRISON, L. Y.; GRIINARI, J. M. Effect of dietary lipid concentration on content of conjugated linoleic acid (CLA) in milk from dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 74, suppl. 1, p. 266, 1996.

MÜHLBACH, P. R. F.; OSPINA, H.; PRATES, E. R.; BARCELLOS, J. O. J. Aspectos nutricionais que interferem na qualidade do leite. In: ENCONTRO ANUAL DA UFRGS SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 2., 2000, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS-Departamento de Zootecnia, 2000. p. 73-102.

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

NÖRNBERG, J. L. **Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas Jersey na fase inicial de lactação**. 2003. 174 f. Tese (Doutorado em Zootecnia - Produção Animal) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

NÖRNBERG, J. L.; STUMPF JUNIOR, W.; LÓPEZ, J.; COSTA, P. B. Valor do farelo de arroz integral como fonte de gordura na dieta de vacas Jersey na fase inicial da lactação: digestibilidade aparente de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 2412-2421, 2004.

OLIVEIRA, S. G.; SIMAS, J. M. C.; SANTOS, F. A. P.; IMAIZUMI, H. Suplementação com diferentes fontes de gordura em dietas com alta e baixa inclusão de concentrado para vacas em lactação. **ARS Veterinária**, v. 20, n. 2, p. 160-168, 2004.

PALMQUIST, D. L. The feeding value of fats. **Feed Science**, v. 12, p. 293-311, 1988.

PALMQUIST, D. L. Use of fats in diets for lactating dairy cows. In: WISEMAN, J. (Coord.). **Fats in animal nutrition**. London: Butterworths, 1984. p. 357-381.

PALMQUIST, D. L. Utilización de lípidos en dietas de rumiantes. In: CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FEDNA, 12, 1996, Madrid. **Anales...** [S.l.]: Fedna, 1996. p. 39-57.

- 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.
- PALMQUIST, D. L.; GRIINARI, J. M. Milk fatty acid composition in response to reciprocal combinations of sunflower and fish oils in the diet. **Animal Feed Science and Technology**, v. 131, n. 3, p. 358-369, 2006.
- PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 1, p. 1-14, 1980.
- PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, S. G.; PIRES, A. V. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 287-310.
- PALMQUIST, D. L.; WEISS, W. P. Blood and hydrolyzed feather meals as sources of undegradable protein in high fat diets for cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 6, p. 1630-1643, 1994.
- PARIZA, M. W. The biological activities of conjugated linoleic acid. In: YURAWENCZ, M. P.; MOSSOBA, M. M.; KRAMER, J. K. G.; PARIZA, M. W.; NELSON, G. J. **Advances in conjugated linoleic acid research**. Champaign: AOCS Press, 1999. v. 1, p. 12-20.
- PARODI, P. W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 6, p. 1339-1349, 1999.
- PERFIELD, J. W.; BERNAL-SANTOS, G.; OVERTON, T. R.; BAUMAN, D. E. Effects of dietary supplementation of rumen-protected conjugated linoleic acid in dairy cows during established lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 10, p. 2609-2617, 2002.
- PETIT, H. V.; TWAGIRAMUNGU, H. Conception rate and reproductive function of dairy cows fed different fat sources. **Theriogenology**, v. 66, p. 1316-1324, 2006.
- PIPEROVA, L. S.; TETER, B. B.; BRUCKENTAL, I.; SAMPUGNA, J.; MILLS, S. E.; YURAWECZ, M. P.; ERDMAN, R. A. Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 10, p. 2568-2574, 2000.
- RUEGG, P. L.; MILTON, R. L. Body condition scores of Holstein cows on Prince Edward Island, Canada: relationships with yield, reproductive performance, and disease. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 3, p. 552-564, 1995.
- SANTOS, J. E. P. Feeding for milk composition. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON BOVINE MEDICINE, 6., 2002, Santiago de Compostela. **Proceedings...** Santiago de Compostela: Spanish Association of Specialists in Bovine Medicine, 2002. p. 163-172.
- SANTOS, J. E. P.; BILBY, T. R.; THATCHER, W. W.; STAPLES, C. R.; SILVESTRE, F. T. Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, p. 23-30, 2008.
- SCHAFHÄUSER JÚNIOR, J. **Níveis crescentes de gordura de arroz para vacas leiteiras de alta produção no início da lactação**. 2005. 140 f. Tese (Doutorado em Zootecnia - Produção Animal) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- SCHAUFF, D. J.; CLARK, J. H. Effects of feeding diets containing calcium salts of long-chain fatty acids to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 11, p. 2990-3002, 1992.
- SHINGFIELD, K. J.; AHVENJARVI, S.; TOIVONEN, V.; AROLA, A.; NURMELA, K. V. V.; HUHTANEN, P.; GRIINARI, J. M. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. **Animal Science**, v. 77, n. 1, p. 165-179, 2003.
- SMITH, W. A.; HARRIS JUNIOR, B.; VAN HORN, V. V.; WILCOX, J. C. Effects of forage type on production of dairy cows supplemented with whole cottonseed, tallow, and yeast. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 1, p. 205-215, 1993.
- SNIJEDERS, S. E. M.; DILLON, P.; O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M. P. Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. **Theriogenology**, v. 53, n. 4, p. 981-989, 2000.

- SONG, M. K.; KENNELLY, J. J. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into ruminant's products. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 16, n. 2, p. 306-314, 2003.
- STAPLES, C. R. Milk fat depression in dairy cows-Influence of supplemental fats. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 2006. Gainesville. [Proceedings...]. Disponível em: <dairy.ifas.ufl.edu/rns/2006/Staples.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2013.
- STAPLES, C. R.; WILTBANK, M. C.; GRUMMER, R. R.; GUENTHER, J.; SARTORI, R.; DIAZ, F. J.; THATCHER, W. W. Effect of long chain fatty acids on lactation performance and reproductive tissues of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, suppl. 1, p. 278, 2000.
- STEGEMAN, G. A.; CASPER, D. P.; SCHINGOETHE, D. J.; BAER, R. J. Lactational responses of dairy cows fed unsaturated dietary fat and receiving bovine somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 7, p. 1936-1945, 1992.
- STERN, L. S.; MATKOVIC, V.; WEISBRODE, S. E.; APSELOFF, G.; SHEPARD, D. R.; MAYS, D. C.; GERBER, N. The effects of gallium nitrate on osteopenia induced by ovariectomy and a low-calcium diet in rats. **Bone and Mineral**, v. 25, n. 1, p. 59-69, 1994.
- STEWART, C. Authenticity of edible oils and fats: the legal position. In: JEE, M. (Ed.). **Oils and fats authentication**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2002. p. 181-205. E-book.
- STURMEY, R. G.; REIS, A.; LEESE, H. J.; MCEVOY, T. G. Role of fatty acids in energy provision during oocyte maturation and early embryo development. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, suppl. 3, p. 50-58, 2009.
- TANAKA, K. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. **Animal Science Journal**, v. 76, n. 4, p. 291-303, 2005.
- UEDA, K.; FERLAY, A.; CHABROT, J.; LOOR, J. J.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage: concentrate ratios. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 12, p. 3999-4007, 2003.
- VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, S. G.; PIRES, A. V. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 151-179.
- VAN NEVEL, C.; DEMEYER, D. Feed additives and other interventions for decreasing methane emissions. In: WALLACE, R. J.; CHESSON, A. (Ed.). **Biotechnology in animal feeds and animal feeding**. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 1995. p. 329-329.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.
- VARGAS, L. H.; LANA, R. P.; JHAM, G. N.; SANTOS, F. L.; QUEIROZ, A. C.; MANCIO, A. B. Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 522-529, 2002.
- WACHIRA, A. M.; SINCLAIR, L. A.; WILKINSON, R. G.; ENSER, M.; WOOD, J. D.; FISHER, A. V. Effects of dietary fat source and breed on the carcass composition, n-3 polyunsaturated fatty acid and conjugated linoleic acid content of sheep meat and adipose tissue. **British Journal of Nutrition**, v. 88, p. 697-709, 2002.
- WATHES, D. C.; ABAYASEKARA, D. R. E.; AITKEN, R. J. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. **Biology of Reproduction**, v. 77, n. 2, p. 190-201, 2007.
- WILDMAN, E. E.; JONES, G. M.; WAGNER, P. E.; BOMAN, R. L.; TROUTT, H. F.; LESCH, T. N. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 3, p. 495-501, 1982.
- WU, Z.; HUBER, J. T. Relationship between dietary fat supplementation and milk protein concentration in lactating cows: a review. **Livestock Production Science**, v. 39, n. 2, p. 141-155, 1994.
- ZACHUT, M.; ARIELI, A.; LEHRER, H.; ARGOV, N.; MOALLEM, U. Dietary unsaturated fatty acids influence preovulatory follicle characteristics in dairy cows. **Reproduction**, v. 135, n. 5, p. 683-692, 2008.

USO DE GORDURA PROTEGIDA OU NATURALMENTE PROTEGIDA NA DIETA DE BOVINOS LEITEIROS

Ana Paula Binato de Souza
Fábio Antunes Rizzo
Rudolf Brand Scheibler
Jorge Schafhäuser Junior
José Laerte Nörnberg
Diego Prado de Vargas

Introdução

Graças à evolução genética dos rebanhos leiteiros e às modernas técnicas de manejo desenvolvidas ao longo de muitos anos, a produção dos animais tem aumentado significativamente (COPPOCK; WILKS, 1991). Em muitas circunstâncias, porém, o alto potencial de produção leiteira dos animais não é totalmente expresso, ou, quando é, compromete certas atividades, como a reprodução, principalmente em virtude das limitações da capacidade do animal de ingerir a quantidade necessária de energia para atender a uma elevada demanda (ELLIOTT et al., 1993; VAZQUEZ-AÑON et al., 1997).

O uso de alimentos com alta densidade energética pode auxiliar a suprir essa forte demanda, característica de animais de elevado mérito genético. Nesse sentido, o uso de gorduras representa uma importante ferramenta nutricional, desde que sejam levados em consideração alguns aspectos negativos, relacionados à presença de gordura livre no rúmen, como redução do consumo voluntário e da digestibilidade da dieta.

Este capítulo discute alguns aspectos da suplementação lipídica, considerando fontes de gordura com diferentes graus de solubilidade no rúmen, assim como sua possível influência sobre o desempenho animal.

Uso de gordura na dieta de bovinos leiteiros

Segundo Coppock e Wilks (1991), a principal limitação, tratando-se de animais de elevado mérito genético, é a diferença entre a demanda de nutrientes para a produção de leite e a capacidade ingestiva do animal, o que torna necessária a utilização das reservas corporais. Com exceção daqueles que fornecem energia, os nutrientes com menor demanda podem ser supridos pelas reservas corporais sem limitarem a produção, sendo o balanço energético negativo (BEN) o principal ponto abordado pelos nutricionistas.

Nas duas últimas décadas, as gorduras têm sido utilizadas na alimentação animal, visando elevar a densidade energética das dietas (GRUMMER, 1995) e modificar o perfil da gordura do leite (GRILINARI et al., 2004; ONETTI; GRUMMER, 2004). A utilização de fontes de gordura na dieta de vacas leiteiras é uma alternativa interessante para a alimentação de vacas de alta produção, principalmente no início da lactação (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001).

As vantagens da suplementação lipídica estão principalmente no fato de a gordura possuir cerca de 2,25 vezes mais energia por unidade de massa do que os carboidratos, além do que, segundo Coppock e Wilks (1991), os ácidos graxos de cadeia longa (C16 a C22) são utilizados com maior eficiência pelo animal. Isso se dá porque a transferência direta de ácidos graxos da dieta para os tecidos e/ou produtos animais pode ocorrer com menor perda energética, promovendo economia de alguns passos metabólicos da conversão. Em relação aos carboidratos, por exemplo, na etapa da sua conversão para ácidos graxos voláteis (AGV) e na etapa desses para ácidos graxos de cadeia mais longa, perde-se energia nas reações químicas (GRUMMER, 1995). Segundo Doreau et al. (1991), a produção de ATP a partir dos ácidos graxos de cadeia longa é cerca de 10% mais eficiente do que a partir do acetato de origem ruminal.

O consumo de energia é a principal limitação para a produção de leite, sendo determinado pela concentração energética da dieta e pelo nível de consumo. No início da lactação, vacas leiteiras de alta produção não são capazes de consumir energia suficiente para atender à demanda e potencial de produção de leite. Dessa forma, as vacas de alta produção mobilizam reservas corporais, particularmente os depósitos de gordura, resultando em perda de peso e de condição corporal (GAGLIOSTRO; CHILLIARD, 1992; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1989).

Além de ser uma fonte energética de alta qualidade, a suplementação de vacas leiteiras com gorduras pode ter outras vantagens, como: a) aumento parcial da eficiência da produção de leite pela incorporação direta da gordura da dieta na gordura do leite;

b) substituição de carboidratos rapidamente fermentáveis visando à otimização de consumo de forragem e à fermentação ruminal; c) aumento da flexibilidade para o preparo da ração; d) modulação do perfil de ácidos graxos da gordura do leite ou de tecidos; e e) aumento da absorção de nutrientes solúveis (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001; PALMQUIST; MATTOS, 2006). Assim, a substituição de cereais por gordura é um meio de incrementar a densidade energética sem comprometer o conteúdo em fibra (PALMQUIST, 1984).

Os tipos de lipídeos empregados nas dietas podem influenciar a fermentação e a digestibilidade ruminal da fibra, interferindo na atividade das bactérias celulolíticas e metanogênicas. Os lipídeos saturados prejudicam menos a flora microbiana do que as gorduras mais insaturadas. A utilização de lipídeos insaturados interfere no metabolismo ruminal, mas seu efeito hipocolesterolêmico o torna desejável na composição do leite de gado em benefício da saúde humana (CHALUPA et al., 1984; PALMQUIST; JENKINS, 1980; VAN SOEST, 1994).

Para vacas em lactação, o uso de gorduras pode promover respostas variáveis na produção e na composição do leite, sendo que a resposta a esse tipo de suplementação depende de vários fatores, como: da dieta basal fornecida (especialmente o volumoso), do estágio de lactação, do balanço energético, da composição e da quantidade da fonte de gordura utilizada (ONETTI; GRUMMER, 2004).

O interesse no uso de gordura nas rações de vacas leiteiras pode ser justificado por duas razões: a) efeitos positivos sobre a produção de leite, sobre a manutenção da saúde e sobre o aumento da produtividade no sistema; b) mudanças na composição do leite, pois pesquisas têm demonstrado que ácidos graxos em produtos advindos de ruminantes têm apresentado especificidade e potenciais efeitos nutracêuticos (BAUMAN et al., 2006).

Gordura protegida em sais de cálcio de ácidos graxos

O elevado desafio metabólico a que são expostos os bovinos leiteiros de alta produção os expõe a um quadro chamado “balanço energético negativo” (BEN). O BEN ocorre principalmente na fase inicial da lactação, sendo caracterizado pela reduzida capacidade de ingestão e pela elevada demanda de nutrientes pelo animal, estando associado à perda de peso e da condição corporal, para atender à demanda energética da produção de leite. Isso

predispõe a ocorrência de uma série de distúrbios, como alterações de comportamento e da eficiência reprodutiva dos animais, elementos essenciais para a sua produção leiteira.

Para minimizar os efeitos do BEN, pode-se recorrer a uma dieta que contenha fontes lipídicas. As gorduras, como já visto, possuem um alto conteúdo energético, em virtude de os ácidos graxos pré-formados de origem dietética serem incorporados diretamente na gordura do leite, poupando energia para outras funções produtivas da glândula mamária (SCHAUFF et al., 1992a, 1992b).

Com a intenção de melhorar o aporte energético de vacas em início da lactação, sem extrapolar os limites de fornecimento de gordura livre no rúmen, Palmquist e Mattos (1978) desenvolveram os sais de cálcio de ácidos graxos. Essa fonte de gordura quimicamente tratada é solúvel apenas em pH baixo e, por isso, inerte no ambiente ruminal.

A gordura protegida consiste em uma fonte de ácidos graxos insaturados, em geral produzidos a partir de gorduras de origem vegetal, que, ao serem ingeridas pelo ruminante, não são utilizadas pelos microrganismos do rúmen, nem interferem na degradação de outros componentes da dieta. Elas são solubilizadas e digeridas a partir do abomaso e absorvidas no intestino delgado, o que leva a um maior aproveitamento pelo animal, além de diminuir o efeito negativo da gordura sobre o ambiente ruminal e, conseqüentemente, sobre a degradabilidade da fibra (MULLER et al., 2005).

Os primeiros sais cálcicos ricos em ácidos graxos poli-insaturados produzidos no mundo eram associações de ácidos graxos de palma com diferentes fontes de ácidos graxos (soja, óleo de peixe, etc.). No Brasil, como não havia disponibilidade de ácido graxo de palma, e era inviável a importação (do óleo ou da gordura protegida de palma), a indústria desenvolveu produtos que contivessem 100% de ácidos graxos do óleo de soja, poli-insaturados, mas com alto teor de ácidos graxos essenciais (MOURA; FILGUEIRAS NETO, 2012).

Quando os ácidos graxos não estão protegidos no ambiente ruminal, ocorre a bio-hidrogenação, sendo que a maioria dos ácidos graxos que atingem o duodeno se torna saturado não esterificado (NÖRNBERG, 2003). Sendo assim, a bio-hidrogenação promove a modificação da composição química dos ácidos graxos que compunham o lipídeo presente na dieta dos ruminantes, modificando, principalmente, a proporção entre ácidos graxos saturados e insaturados.

Os sais, ou sabões de cálcio, são obtidos a partir de ácidos graxos de cadeia longa, que ficam livres num processo de cisão dos triglicerídeos de óleos vegetais. Esses ácidos graxos reagem com sais de cálcio, unidos na forma de um sal do tipo R-COO-Ca,

popularmente conhecido como “sabão de cálcio”. Os sabões de cálcio, por serem altamente estáveis em água e temperatura, somente são digeridos no organismo animal em meio ácido. No rúmen, o meio é ligeiramente ácido (pH = 6,2), o que faz que ele permaneça parcialmente inalterado. Ao chegar ao abomaso, o meio torna-se extremamente ácido (pH entre 2 e 3) ocorrendo o desdobramento do sabão de cálcio, com a liberação para o intestino dos ácidos graxos e íons de cálcio, que são absorvidos. Para que esse processo ocorra, a gordura protegida, ou *by-pass*, como também é denominada, deve estar protegida pela saponificação. Quanto menor for o teor de ácidos graxos livres (não saponificados), maior será a proteção.

Os sabões de cálcio podem apresentar outra vantagem, pois são constituídos de ácidos graxos essenciais, ou seja, de ácidos dos quais o organismo necessita, mas não tem a capacidade de sintetizar. Os sabões de cálcio passam direto para o abomaso, diminuindo a liberação de ácidos graxos no rúmen, e, por não sofrerem bio-hidrogenação ruminal, ocorre aumento do aporte de ácidos graxos insaturados para a absorção intestinal. Para tanto, a ligação entre o cálcio e os ácidos graxos não deve ser rompida. Existem no mercado sais de cálcio de ácidos graxos formados a partir de óleo de palma, colza e soja, sendo que os dois últimos são mais insaturados, mais dissociados e mais suscetíveis à bio-hidrogenação parcial no rúmen (FREITAS JÚNIOR, 2008).

Com os sais cálcicos de ácidos graxos, a dissociação acontece no abomaso em virtude do seu baixo pH, o que resulta em maior quantidade de ácidos graxos insaturados a atingir o duodeno para a absorção. Porém, Van Soest (1994) alerta que, com o uso da gordura protegida, o ruminante absorve maior quantidade de lipídeos, o que aumenta a produção animal; entretanto, com uma maior absorção de ácidos graxos insaturados de cadeia longa, a composição da gordura do leite fica modificada.

O termo “gordura ruminalmente inerte” refere-se à redução do efeito negativo que certos lipídeos exercem sobre o metabolismo de protozoários e bactérias no rúmen (SMITH, 1990), onde o grau de proteção dos lipídeos deve ser suficiente para minimizar possíveis efeitos sobre a atividade ruminal (ASHES et al., 1997).

Respostas à palatabilidade e à composição da gordura

A gordura protegida é composta por ácidos graxos essenciais: o linolênico e o linoleico. Esses ácidos apresentam cadeia carbônica longa, sendo o linoleico formado por

18 carbonos com duas ligações duplas (18:2), enquanto o linolênico é formado por 18 carbonos com três ligações duplas (18:3) (THEURER et al., 2002).

As concentrações dos ácidos linoleico e linolênico na gordura protegida são de aproximadamente 42% e 3%, respectivamente.

Os sabões de cálcio ou gordura protegida apresentam aproximadamente 6,52 Mcal kg⁻¹ de energia, o que corresponde a um valor três vezes maior do que a energia do milho, fato que explica por que a utilização desse insumo é feita em níveis baixos e de forma estratégica (FRANCO, 2007).

Considerando os inúmeros benefícios da suplementação de gordura para vacas em lactação, alguns fatores devem ser considerados para que se tenha sucesso com a suplementação de gordura. Entre esses fatores, é preciso destacar o período de adaptação e a aceitabilidade da fonte de gordura, fatores determinantes para uma resposta adequada de desempenho dos animais. Allen (2000), em ampla revisão de literatura, avaliou estudos que observaram o consumo de matéria seca (MS) de diferentes fontes de gordura comumente utilizadas nas rações de vacas leiteiras. Esse autor observou que, de 24 experimentos que utilizaram os sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma como fonte de gordura, 11 demonstraram redução do consumo de matéria seca. Esses resultados podem ser atribuídos à questão da aceitabilidade dessa fonte de gordura, que apresenta baixa palatabilidade, levando, dessa forma, ao baixo consumo.

Andersen et al. (2008) e Cerri et al. (2009) avaliaram vacas da raça Holandesa que receberam suplemento comercial de ácidos graxos de óleo de palma e óleo de soja, com dietas de 8,0% e 5,5%, respectivamente, de EE na matéria seca total para as rações com fonte de gordura. Esses autores não observaram redução significativa do consumo de matéria seca das dietas.

A inclusão de sais de cálcio de ácidos graxos em rações de vacas leiteiras pode ser considerada uma boa alternativa como fonte de gordura, na tentativa de suprir a demanda energética de vacas leiteiras no início de lactação. Entretanto, é preciso considerar um período de adaptação e a aceitabilidade dessa fonte de gordura por parte dos animais (D'ANGELO, 2009).

As fontes lipídicas ruminalmente inertes, como sais de cálcio de ácidos graxos, têm sido uma alternativa para dietas de vacas de alta produção. Seu uso pode se tornar rotineiro em muitos sistemas de produção. Porém, em razão do aumento do custo dos insumos e da redução das margens de lucro da atividade leiteira, têm sido estudadas outras fontes

lipídicas viáveis do ponto de vista econômico, que amenizem o balanço energético negativo da fase inicial da lactação e que possuam pouco impacto sobre o metabolismo do rúmen (NÖRNBERG, 2003).

No trabalho conduzido por Vilela et al. (2002), o fornecimento de uma fonte comercial de gordura protegida (sabões de cálcio de ácidos graxos), no terço inicial da lactação, proporcionou um aumento significativo na produção de leite por vaca e de produção de leite por hectare, porém, não se mostrou viável economicamente, já que o custo da energia extra fornecida aos animais superou o valor a ser recebido pelo incremento produtivo gerado pela suplementação com esse insumo.

Fonte de gorduras naturalmente protegidas

Para Mühlbach et al. (2000), vacas leiteiras com produção acima de 10.000 kg por lactação demandam suplementação com alimentos mais energéticos, e os níveis normais de 3% a 4% de gordura bruta das dietas poderiam ser elevados até cerca de 8% com o uso de gorduras vegetais e/ou animais e de produtos especiais, como as gorduras ruminalmente inertes.

A utilização dessas fontes de gordura livre na dieta de ruminantes pode ser limitada, visto que há uma tendência de diminuição da digestibilidade de alguns nutrientes como a fibra. Isso estimula a produção de mais pesquisas no intuito de identificar gorduras que não alterem a fermentação ruminal, chegando, assim, às gorduras protegidas (NÖRNBERG et al., 2006).

As fontes de gordura que podem ser utilizadas na alimentação de vacas leiteiras são inúmeras, sendo possível classificá-las nutricionalmente em dois grupos: as disponíveis no rúmen e as gorduras ruminalmente inertes, podendo estas últimas ser fontes naturais ou protegidas artificialmente.

As gorduras naturalmente protegidas são fontes lipídicas fornecidas aos ruminantes sem recorrer a qualquer tratamento químico, térmico ou outros. Grãos oleaginosos, como os caroços de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), linhaça (*Linum usitatissimum* L.), girassol (*Helianthus annuus* L.), canola (*Brassica napus* L.) e soja (*Glycine max* L.), são os principais representantes dessa fonte lipídica, quando fornecidos na sua forma inteira. A gordura presente nesses grãos pode ser considerada rúmen inerte, que tem pouco ou nenhum efeito negativo sobre a digestibilidade dos outros componentes da dieta (ALLEN, 2000; PALMQUIST; MATTOS, 2006).

A proteção presente nesses grãos pode ser conferida à barreira física da casca, geralmente de origem fibrosa, que limita a atuação da microbiota ruminal, e à dissolução rápida da gordura no bolo alimentar. Além disso, o fornecimento dos grãos inteiros protege, tornando o conteúdo lipídico indisponível à ação imediata e direta da microbiota ruminal, bem como reduz a área superficial de ação dos microrganismos.

Outro fator que proporciona proteção consiste no fato de a gordura presente no grão estar envolta em uma matriz proteica, que diminui o efeito da hidrólise e da bio-hidrogenação, levando a um possível aumento da absorção intestinal dos ácidos graxos poli-insaturados e à incorporação desses ácidos à gordura do leite.

O ambiente ruminal é responsável por algumas transformações nos lipídeos da dieta: alteração da sua composição e do perfil dos ácidos graxos que chegam ao intestino delgado. Essas alterações decorrem, principalmente, dos processos de hidrólise e da bio-hidrogenação que acontecem no rúmen, o que vai alterar o perfil dos ácidos graxos posteriormente presentes na gordura do leite (OLIVEIRA et al., 2004).

Muitos dos grãos das oleaginosas fornecidas aos animais, os quais são quebrados pela mastigação e pela ruminação, não passam intactos pelo ambiente ruminal. A quebra expõe a gordura à degradação e à hidrólise, podendo ocorrer a bio-hidrogenação incompleta. Pode, portanto, aumentar a concentração de ácido linoleico conjugado (CLA) no leite. Recentes estudos enfatizam os efeitos benéficos do CLA, destacando suas propriedades nutracêuticas, como anticarcinogênico e redutor da aterosclerose.

As sementes de oleaginosas são bastante utilizadas graças às altas taxas de concentração energética e lipídica, e à lenta taxa de liberação do óleo. São, por isso, consideradas fontes naturalmente protegidas de gorduras, pois, embora as gorduras insaturadas possam produzir distúrbios no ambiente ruminal, o óleo contido em sementes, como de soja, algodão, linhaça, girassol e canola, por ser liberado lentamente, pode ser suplementado sem causar os mesmos distúrbios dos seus equivalentes na forma livre (COPPOCK; WILKS, 1991; MÜHLBACH et al., 2000). Essas fontes podem ser utilizadas sem causar diminuição do teor de gordura do leite, pois que sua gordura é liberada lentamente no ambiente ruminal.

Uma das maneiras de alterar a composição da gordura do leite é suplementar as dietas com fontes de lipídeos insaturados. As principais fontes de lipídeos insaturados são grãos de oleaginosas e seus óleos, bem como óleos de origem marinha. Os grãos de oleaginosas, quando fornecidos inteiros na dieta, transitam rapidamente pelo ambiente ruminal e oferecem dificuldade à ação das bactérias sobre as gorduras inseridas no grão.

Consequentemente, há o aumento da gordura e da participação de ácidos graxos presentes nos grãos na gordura do leite. (GLASSER et al., 2008c).

Considerando os inúmeros benefícios da suplementação de gordura para vacas em lactação, alguns fatores devem ser considerados para que se tenha sucesso com a suplementação de gordura. O período de adaptação é o principal fator. De acordo com Grummer et al. (1990) e Staples et al. (2001), a adaptação e a aceitabilidade das fontes de gordura durante o período de suplementação são fatores determinantes para se obterem respostas positivas no desempenho dos animais, pois, quando se avaliam diferentes fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras, respostas diferentes são esperadas e estão muito relacionadas ao tipo e ao nível de inclusão do suplemento na ração. Segundo Grummer et al. (1990), a redução da aceitabilidade das fontes de gordura pode explicar, em parte, a redução do consumo de matéria seca e a baixa produção de leite. Segundo esses mesmos autores, as diferenças na aceitabilidade de diferentes fontes de gordura podem ser minimizadas misturando-se os suplementos lipídicos aos outros ingredientes da dieta.

Caroço de algodão

O caroço de algodão é um coproduto da agroindústria resultante da retirada do algodão. É usado como alimento para ruminantes, apresentando alto valor nutritivo, aporte de fibra efetiva e boa qualidade de proteína e energia (TEIXEIRA; BORGES, 2005). O caroço de algodão inteiro tem 90,64% de matéria seca (MS), sendo 46,04% de fibra em detergente neutro (FDN), 18,90% de extrato etéreo (EE) e 22,62% de proteína bruta (PB) (Tabela 1). As sementes recém-separadas são cobertas por grande quantidade de línter, camada fina de pelos curtos aderidos ao tegumento das sementes, composto basicamente por celulose que apresenta alta taxa de degradação (PALMQUIST, 1995). A presença do línter do caroço de algodão diminui a taxa de passagem das dietas, alterando o enchimento ruminal e estimulando a ruminação (LIMA, 2003), o que contribui para o aumento da digestibilidade.

A semente (caroço de algodão), em sua forma íntegra, pode ser utilizada diretamente na alimentação de bovinos. Ela é especialmente recomendável para vacas leiteiras de alta produção, justamente porque fornece fibra efetiva (de alta qualidade, presente no línter) e energia, além de proteína. Para um melhor aproveitamento da gordura pelo animal, o caroço de algodão deve ser fornecido inteiro, sem triturar, permitindo que o óleo do caroço seja liberado lentamente, graças à sua encapsulação, pela casca e pelo línter. Assim, os efeitos prejudiciais à digestão ruminal serão minimizados.

Tabela 1. Composição bromatológica das principais fontes oleaginosas utilizadas no Brasil.

Composição (%)	Grãos de oleaginosas				
	Caroço de algodão	Canola	Girassol	Soja	Linhaça
Matéria seca	90,64	93,26	92,45	91,18	94,39
Matéria orgânica	96,32	85,52	97,44	94,17	96,71
Proteína bruta	22,62	24,11	22,50	39,01	24,61
Fibra em detergente neutro	46,04	16,38	53,65	17,52	17,64
Fibra em detergente ácido	35,85	12,26	16,73	13,18	11,75
Matéria mineral	4,66	4,48	2,66	5,01	3,29
Extrato etéreo	18,90	43,11	45,46	19,89	39,06

Fonte: National Research Council (2001) e Valadares Filho et al. (2006).

O ácido graxo que está em maior proporção no caroço de algodão é o linoleico (Tabela 2). Depois de serem digeridos no intestino, os ácidos graxos provenientes do caroço de algodão podem ser incorporados diretamente à gordura do leite, melhorando sua composição em ácidos graxos insaturados, considerados melhores para a saúde do consumidor. Quando o caroço corresponde a 15% a 20% da dieta, o teor de gordura do leite chega a aumentar, embora o teor de proteína diminua.

Tabela 2. Composição de ácidos graxos (AG) dos grãos de oleaginosos.

Composição dos ácidos graxos (g por 100 g MS)	Grãos de oleaginosas				
	Caroço de algodão	Canola	Soja	Girassol	Linhaça
Ácidos graxos	18,6	38,0	18,0	34,7	31,4
Ácido mirístico (C14:0)	0,8	-	0,2	0,1	-
Ácido palmítico (C16:0)	25,3	4,3	10,7	5,5	5,2
Ácido esteárico (C18:0)	2,8	1,7	3,9	3,6	3,4
Ácido oleico (C18:1)	17,1	59,1	22,8	21,7	18,5
Ácido linoleico (C18:2)	53,2	22,8	50,8	68,5	16,1
Ácido linolênico (C18:3)	0,1	8,2	6,8	0,1	56,8
Ácido araquídico (C20:0)	0,1	0,5	0,2	0,1	-

Fonte: Palmquist (1988).

O caroço de algodão, assim como a maioria dos grãos oleaginosos, possui componentes antinutricionais, que podem apresentar efeitos adversos ao desempenho animal, quando fornecido em altos níveis. Os problemas provocados pelo uso de caroço ou do farelo de algodão são atribuídos ao gossipol e aos ácidos graxos ciclopropenoides. O gossipol é um alcaloide polifenólico, que pode determinar quadros de intoxicação em animais, com sinais clínicos de dispneia e diminuição da taxa de crescimento (SANTOS, 1997). Os ácidos graxos ciclopropenoides são encontrados no óleo contido nas sementes, óleo esse que causa a diminuição da fertilidade do touro e da vaca (LANA, 2000).

Canola

A canola é uma variedade geneticamente modificada da colza (*Brassica napus* L.), com redução dos compostos antinutricionais, principalmente os ácidos tânico, erúxico e os glucosinolatos. A canola é considerada um alimento proteico, com 24,11% de proteína bruta na matéria seca (MS), mas também possui altos teores de óleo, de 43,11% na MS, conforme referenciado na Tabela 1.

O alto teor de proteína (24,11% da MS) no grão de canola faz dessa oleaginosa uma ótima fonte nutricional para ruminantes; entretanto, o grão possui uma cápsula rígida, que tem degradação lenta no rúmen.

A presença de tanino (ácido tânico), na canola e na colza, pode reduzir a degradação ruminal e aumentar a excreção de matéria seca. Santos et al. (2004), estudando grãos de canola, ressaltaram que o tanino condensado promoveu efetiva proteção da MS e da PB dos grãos de canola e consequente redução da degradação ruminal.

Soja

A soja destaca-se entre os alimentos proteicos de origem vegetal como fonte alternativa de proteína e energia, sendo considerada a semente de oleaginosa mais rica e disponível no mundo, podendo ser usada na alimentação dos ruminantes na sua forma original (crua) ou processada (CORRÊA, 2007). A composição da soja é caracterizada pelo elevado teor de proteína (40% da MS) e conteúdo lipídico (18% da MS). O ácido graxo predominante na fração lipídica é o linoleico, o que é conveniente, uma vez que, dependendo das transformações ruminiais da dieta, sua presença pode ser transferida para o leite.

Entre as vantagens de uso do grão de soja como fonte de gordura pode ser citada a lenta liberação de lipídeos no rúmen, o que impede uma possível perda de digestibilidade de fibra, pelo efeito negativo que gorduras insaturadas prontamente disponíveis no rúmen podem causar nas bactérias fibrolíticas (COPPOCK; WILKS, 1991; PALMQUIST, 1991). Isso ocorre com os grãos de soja porque os lipídeos estão inseridos no germe; portanto, há necessidade da degradação da parede celular para que a hidrólise ocorra.

Segundo Bateman e Clark (2000), a utilização de grão de soja nas rações de vacas leiteiras pode proporcionar mais aumento na produção de leite do que o acréscimo de quantidades semelhantes de farelo de soja na ração. O grão de soja integral ainda destaca-se pela sua disponibilidade regional, pelo elevado teor de ácidos graxos insaturados e pela fácil aceitação pelos animais (PALMQUIST; MATTOS, 2006). Entretanto, o grão de soja apresenta componentes antinutricionais, entre eles a sojina, presente na proteína da soja (RYAN, 1973). A sojina influencia a palatabilidade da soja, o que pode interferir no consumo da dieta quando a sojina for incluída em grandes quantidades. A sojina é classificada como termolábil, sendo inativada por tratamento do grão pelo calor, uma vez que, quando ativa, pode provocar redução de crescimento e hipertrofia de pâncreas.

Girassol

O girassol é cada vez mais procurado, principalmente por produtores que buscam alternativas ao milho no período da safrinha (PINTO; FONTANA, 2001), apresentando-se como opção de rotação e sucessão de culturas nas regiões produtoras de grãos. Sua rusticidade e adaptabilidade a diferentes condições de clima e solos, aliados a suas características bromatológicas, o tornam uma boa alternativa para reforçar a dieta do rebanho.

O grão de girassol apresenta teor elevado de lignina, fibra em detergente ácido (FDA) (16,73% da MS) e também grande quantidade de extrato etéreo (EE) (45,41% da MS). O alto conteúdo de lignina e de fibra, constituintes da casca do grão, pode acarretar a diminuição da taxa de degradação do grão, principalmente quando fornecido sem processamento.

O grão de girassol apresenta uma matriz proteica (casca) rígida, que envolve o grão; dessa forma, o fornecimento do grão inteiro apresenta-se como uma forma de proteção contra a bio-hidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados pelas bactérias ruminais. Quando os grãos estão quebrados ou moídos, seus nutrientes podem ser rapidamente degradados no rúmen, e os ácidos graxos poli-insaturados são mais facilmente bio-hidrogenados.

Em virtude da alta quantidade de proteína solúvel presente no grão de girassol, o fornecimento de grãos inteiros pode ser uma boa opção, principalmente se o objetivo for promover uma degradação mais lenta desse componente nutritivo no interior do rúmen e aumentar a disponibilidade de proteína verdadeira no intestino.

A utilização de grãos de girassol e de outras oleaginosas na alimentação animal vem sendo bastante estudada. O uso de grãos de girassol ou de seu óleo na alimentação de ruminantes se justifica pelo fato de que os produtos oriundos desses animais (leite ou carne) apresentam elevação nos teores de ômega 6 e CLA, componentes esses extremamente benéficos à saúde humana.

O girassol apresenta altos níveis de ácido clorogênico, um composto que inibe a atividade das enzimas digestivas. McGuffey e Schingoethe (1982) avaliaram o potencial do uso da semente de girassol em vacas leiteiras de alta produção e propuseram uma recomendação prática de limitação de semente de girassol de 10% da matéria seca da ração, ou 20% a 25% do concentrado, recomendações essas que não afetaram adversamente a produção de leite.

Linhaça

O óleo de linhaça é rico em ácido graxo ômega 3 (53% do total de ácidos graxos) (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001), apresenta 32% de gordura, com 60% dos ácidos graxos considerados poli-insaturados, e ainda é rico em ligninas, que são fortes antioxidantes. Sabe-se que dietas ricas em ácidos graxos ômega 3 e antioxidantes têm efeitos benéficos sobre a saúde humana.

A linhaça é um importante suplemento lipídico para gado leiteiro graças à sua elevada concentração de ácido linolênico, um ácido graxo essencial, que não é sintetizado por mamíferos. A gordura nele presente está associada à matriz proteico-fibrosa do grão (PETIT, 2002) e, quando ácidos graxos estão associados às estruturas celulares dos alimentos, eles não ficam disponíveis, dificultando a digestibilidade do EE e da PB (BAUCHART, 1993). A linhaça fornecida na forma de grão estaria protegida da bio-hidrogenação ruminal da sua gordura, podendo ser inserida na dieta de vacas leiteiras com o objetivo de aumentar o ácido graxo no leite (CAVALIERI, 2003).

Em geral, a linhaça inteira, não tratada, é prontamente aceita por vacas leiteiras, em inclusão de até 15% de matéria seca total da dieta, não interferindo no consumo nem na produção de vacas leiteiras (MARTIN et al., 2008; PETIT, 2002; SECCHIARI et al., 2003).

A linhaça possui, em sua semente, um componente antinutricional na sua composição, que são os glicosídeos cianogênicos. A hidrólise desse componente produz ácido cianídrico, que possui efeitos tóxicos sobre os animais (FENG et al., 2003). De acordo com Conn (1979), as doses letais do ácido cianídrico em bovinos são de 2,0 mg kg⁻¹ de peso vivo. A alimentação com 10% de linhaça na dieta de vacas leiteiras e com concentração média de 0,16 g de ácido cianídrico, por quilo de semente (BREMER, 1983), não apresenta efeito tóxico, pois as concentrações de ácido cianídrico estão abaixo dos níveis letais.

Efeitos da suplementação com gordura naturalmente protegida

Consumo

Os mecanismos por meio dos quais a suplementação lipídica pode causar redução do consumo de matéria seca ainda não estão totalmente esclarecidos, mas devem estar relacionados aos efeitos da gordura sobre a fermentação ruminal, a motilidade intestinal, a aceitação da dieta pelo animal, a liberação de hormônios intestinais e a oxidação hepática das gorduras ingeridas (ALLEN, 2000), sendo que alguns desses efeitos independem do fato de a gordura fornecida ser ruminalmente inerte ou não.

Segundo Allen (2000), uma resposta esperada à suplementação lipídica é um maior tempo de retenção da digesta no rúmen, o que é causado por fatores que levam à redução da taxa de degradação da fibra e, portanto, à redução da passagem, o que, por consequência, aumenta o efeito de preenchimento do rúmen. Tal situação encontra bastante respaldo na literatura (VAN SOEST, 1994) e está associada com a suplementação de gordura livre. Nesse caso, as gorduras ruminalmente inertes podem ter menor efeito depressor de consumo. Além disso, efeitos da gordura sobre o metabolismo intermediário também são descritos como fatores que deprimem o consumo (CHOI et al., 2000; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001).

A redução da digestibilidade da fibra, segundo Schauff e Clark (1992) e Van Soest (1994), estaria relacionada à incapacidade das bactérias ruminais de aderirem às partículas de alimento, condição essencial para a digestão microbiana do alimento por intermédio das enzimas extracelulares.

A ação de certos hormônios, como a colecistoquinina (CCK), segundo Choi et al. (2000), que é secretada em maior quantidade em resposta à suplementação lipídica e está relacionada à secreção de insulina e polipeptídeo pancreático (PP), tem influência sobre o consumo. Choi e Palmquist (1996) encontraram correlação negativa entre a liberação de CCK e insulina, e correlação positiva entre CCK e PP em vacas leiteiras. Esses autores concluíram que a CCK é um potente inibidor do apetite e que a presença de gordura no trato gastrointestinal é um fator estimulante à sua secreção. Esse hormônio poderia exercer dois tipos de ação: o primeiro, diretamente sobre o centro nervoso do apetite, e o segundo, sobre a motilidade do trato gastrointestinal, o que aumentaria o efeito de distensão (DRACKLEY et al., 1992; REIDELBERGER, 1994). Conforme Drackley et al. (1992), a CCK agiria inibindo o esvaziamento gástrico, o que desencadearia outros fatores de inibição de consumo.

Kennelly (1996) sugeriu que a adição de gordura na alimentação de ruminantes, na forma de sementes inteiras de oleaginosas, tem efeitos menos prejudiciais na ingestão de matéria seca do que se a oferta da mesma quantidade fosse feita na forma de óleo livre, porque, em forma de semente, a liberação do óleo é mais lenta. Assim, o consumo de matéria seca não diminuiria.

Segundo Allen (2000), a oxidação hepática das gorduras pode gerar sinais de saciedade. A suplementação lipídica aumenta a concentração sanguínea de ácidos graxos não esterificados, aumentando, assim, o seu aporte ao fígado, e, em consequência, sua oxidação em vacas lactantes (CHOI et al., 2000). Ainda segundo esses autores, os efeitos hipofágicos da oxidação hepática de ácidos graxos estariam relacionados à geração de equivalentes redutores ou mesmo de ATP.

De acordo com Martin et al. (2008), a alimentação com semente de linhaça inteira não tem efeito negativo sobre o consumo de matéria seca e a produção de leite, em virtude de uma lenta liberação de ácidos graxos no líquido ruminal. No geral, grão de linhaça inteiro tem boa aceitabilidade por vacas leiteiras, podendo ser fornecido até 15% da MS total ingerida, sem efeito no consumo de MS para vacas no terço médio da lactação (SECCHIARI et al., 2003), assim como no início da lactação (PETIT, 2002).

Redução (MARTIN et al., 2008), aumento (GONTHIER et al., 2004) ou nenhum efeito (DOREAU et al., 2009) da suplementação de linhaça sobre a digestibilidade de nutrientes por vacas leiteiras têm sido relatados. Martin et al. (2008) concluíram que a quantidade de lipídeos adicionada e a forma como é fornecida (óleo ou semente) são os principais fatores determinantes para o efeito negativo dos ácidos graxos de linhaça sobre a digestibilidade.

Costa (2009), trabalhando com fontes de gordura para ovinos, utilizando dieta à base de palma forrageira, observou que a dieta composta com o caroço de algodão proporcionou tempo de ruminação maior em relação à composta com a casca de soja. Isso acontece em razão da presença do línter do caroço de algodão, que diminui a taxa de passagem, alterando o enchimento ruminal e estimulando a mastigação, o que contribui para o aumento da digestibilidade.

Clark e Armentano (1993), avaliando a efetividade da fibra do caroço de algodão e de grãos secos de cereais em dietas de vacas em lactação, verificaram maior atividade de mastigação do que com grãos de cereais. Esses autores concluíram que o caroço de algodão pode servir como suplemento de fibra efetiva para dietas baseadas em silagem pré-seca de alfafa com baixa relação volumoso:concentrado. Segundo Villela et al. (1996), a inclusão de até 30% de caroço de algodão em rações concentradas não afeta os consumos de MS, MO, PB, FDN e NDT, bem como verificaram não haver influência sobre a eficiência na síntese de proteína microbiana, nem sobre os coeficientes de digestibilidade de MS, MO, PB e EE.

Neves et al. (2007), trabalhando com grãos de canola, observaram redução na digestibilidade da MS e MO para os tratamentos contendo lignossulfonato em comparação com os tratamentos sem lignossulfonato. Por sua vez, Khorasani et al. (1992), avaliando o efeito da utilização de grão de canola tratada com calor a seco, não obtiveram diferenças significativas nos coeficientes de digestibilidade de MS, MO, PB, FDN e FDA; contudo, encontraram redução na digestibilidade do EE na dieta que continha maior concentração de grãos protegidos.

Schauff et al. (1992b), avaliando a inclusão de grão de soja cru na dieta de vacas lactantes, na proporção de 15% a 20% na matéria seca total, verificaram que, em quantidades menores que 12% da matéria seca da dieta de soja crua fornecida, não foram observados efeitos negativos sobre a fermentação ruminal.

Freitas Júnior (2008) comparou fontes de gordura de óleo de soja refinado, grão de soja in natura e sais de cálcio de ácidos graxos com uma dieta controle sem adição de gordura. O autor observou que não houve diferença das fontes sobre a produção de leite corrigida. Entretanto, os animais que receberam a ração contendo grão de soja como fonte de gordura apresentaram menor produção de leite em comparação com as demais rações utilizadas. Possivelmente, esse resultado pode ser atribuído ao menor consumo de energia digestível e ao menor consumo de energia líquida de lactação para os animais que consumiram essa ração, pois as rações foram formuladas para ter a mesma densidade energética e não houve diferença no consumo de matéria de seca entre a ração contendo grão de

soja e as demais rações experimentais. Mansfield e Stern (1994) também não observaram alteração na ingestão de MS e MO em vacas alimentadas com dietas contendo grãos de soja tratados ou não com lignossulfonato.

De maneira geral, a adição de gordura na forma protegida na dieta de ruminantes não tem apresentado efeitos negativos sobre o consumo dos nutrientes quando comparada à adição dos mesmos valores na forma de óleo (não protegida), indicando que proteger a gordura é uma boa alternativa e traz benefícios à nutrição dos ruminantes (KENNELLY, 1996).

Produção e composição de leite

Gordura do leite

A gordura do leite é formada a partir dos ácidos acético e butírico, originados na fermentação ruminal, e de ácidos graxos com mais de 16 carbonos, absorvidos no intestino ou mobilizados das reservas corporais. As alterações do teor de gordura do leite podem informar sobre a fermentação do rúmen, as condições de saúde da vaca e o funcionamento do manejo alimentar (MÜHLBACH et al., 2000).

No processo de síntese da gordura do leite, a glândula mamária dispõe de vários precursores, como: a) ácidos graxos de lipomobilização; b) ácidos graxos incorporados diretamente na dieta; c) ácidos graxos voláteis, formados no rúmen; d) corpos cetônicos; e e) ácidos graxos de síntese bacteriana. Por conta dessa ampla diversidade, têm sido descritos mais de 400 ácidos graxos, presentes no leite (PALMQUIST, 1991).

Quase a totalidade dos ácidos graxos de C4:0 a C14:0 e cerca da metade de C16:0 do leite derivam da síntese “de novo” na glândula mamária, sendo o restante captado dos lipídeos sanguíneos. Outra importante propriedade da glândula mamária, como também do intestino delgado, é converter ácidos graxos saturados em monoinsaturados, contribuindo provavelmente para assegurar a fluidez normal ao leite (GRUMMER; CARROLL, 1991).

As gorduras, quando suplementadas para vacas em lactação, provocam modificações na composição do leite, em maior ou menor grau (PALMQUIST; JENKINS, 1980). O efeito sobre a composição e a porcentagem de gordura do leite é variável, dependendo da fonte e do nível empregado.

Segundo Onetti e Grummer (2004), o nível de suplementação, o perfil da gordura fornecida e a interação com ingredientes da dieta basal estão entre os fatores que influenciam

os resultados do uso de gorduras na alimentação de vacas leiteiras. Segundo esses autores, a identificação das possíveis interações é fundamental para prever a resposta animal à inclusão de gordura nas dietas.

As gorduras saturadas produzem melhores resultados do que as insaturadas com relação à produção de gordura do leite, principalmente quando são incluídas em altos níveis na dieta, por interferirem menos no metabolismo ruminal (CHALUPA et al., 1984). No entanto, a utilização de produtos de origem animal, como o sebo, principal fonte saturada, está proibida na nutrição de ruminantes.

A suplementação com gorduras protegidas pode resultar no aumento do teor de gordura do leite, uma vez que se eleva o aporte à glândula mamária de ácidos graxos de cadeia longa, desde que não produzam alterações sobre o ambiente ruminal (PALMQUIST; JENKINS, 1980). As fontes naturais de gordura livre podem, dependendo principalmente do grau de saturação e do nível de suplementação, determinar a redução do teor de gordura do leite, pelos distúrbios que podem causar à fermentação ruminal (BAUMAN; GRIINARI, 2001).

Geralmente, óleos protegidos contra a bio-hidrogenação ruminal aumentam a produção de gordura do leite (ASHES et al., 1992), enquanto o óleo de linhaça livre diminui a concentração de gordura do leite, graças à menor ingestão de matéria seca e à menor digestibilidade da fibra (MARTIN et al., 2008). No entanto, a proteção ineficaz de linhaça inteira contra a bio-hidrogenação (PETIT, 2002) ou o baixo nível de gordura adicionada (TYMCHUK et al., 1998) resultaria em nenhum efeito sobre a produção de gordura do leite. Em geral, a redução da concentração de gordura do leite parece ser devida à presença de ácidos graxos altamente insaturados, que afetam a fermentação do rúmen.

Kennelly (1996) revisou o efeito da inclusão de semente oleaginosa na dieta de vacas leiteiras em relação à composição de gordura no leite. Ele observou que as transformações físicas de oleaginosas aumentaram a digestibilidade total de lipídeos das sementes oleaginosas e melhoraram o efeito sobre a composição de ácidos graxos do leite em comparação com a semente intacta.

A redução da ingestão de matéria seca, que pode ocorrer como efeito da suplementação lipídica, pode ou não ser acompanhada da redução da ingestão de energia, dependendo de fatores ligados ao tipo de gordura, a suas características físicas e químicas (ALLEN, 2000) ou à sua digestibilidade, a depender da quantidade suplementada.

Petit, em 2004, observou um aumento de 29% da produção de leite com dietas fornecendo 9,7% de linhaça inteira na MS, em comparação com dieta sem adição de gordura,

fornecida a vacas leiteiras após o parto. Da mesma forma, vacas leiteiras na fase inicial da lactação alimentadas com dietas de 10% de linhaça e aquelas alimentadas com 10% de semente de girassol apresentaram uma produção de leite semelhante (AMBROSE et al., 2006).

Trabalhando com níveis crescentes de inclusão de grãos de canola na dieta de vacas leiteiras, Khorasani e Kennelly (1998) não constataram efeito do aumento da inclusão de canola sobre o consumo de matéria seca, do mesmo modo que sobre a produção de leite, o que se traduziu em resultados semelhantes no que concerne à eficiência alimentar.

Mais recentemente, Glasser et al. (2008b) realizaram uma meta-análise de dados publicados sobre a suplementação de vacas leiteiras com lipídeos de sementes oleaginosas. Eles concluíram que o teor de ácidos graxos C18 totais na gordura do leite aumentou de forma quadrática em todos os suplementos de acordo com o nível lipídico, e que a proteção física do suplemento melhorou muito o conteúdo ácido linoleico e alfa ácido linolênico na gordura do leite.

Além disso, um maior porcentual de C18:1 trans na gordura do leite tem sido relatado quando é utilizada a linhaça na alimentação de vacas leiteiras, em comparação com vacas alimentadas com soja quebrada (DHIMAN et al., 2000).

Glasser et al. (2008a) e Petit et al. (2009) observaram que o perfil de ácidos graxos no leite foi ligeiramente melhorado, disponibilizando-se linhaça como fonte de gordura, com concentrações mais elevadas de ácidos graxos (por exemplo, ômega 3), que sabidamente trazem benefício à saúde humana. Esses resultados sugerem que a alimentação de linhaça inteira pode resultar em mudanças na composição de ácidos graxos do leite, trazendo benefícios para os consumidores.

Da mesma forma, estudos mostram que a composição de ácidos graxos do leite de vaca se altera em resposta à inclusão de linhaça na dieta, causando uma redução na concentração de ácidos graxos de cadeia curta (C4 a C12), bem como de C16 (ácido palmítico), enquanto a concentração de ácidos graxos monoinsaturados e de cadeia longa tem aumentado (GLASSER et al., 2008a).

Proteína

O uso de fontes de gordura nas rações de vacas leiteiras pode também promover a redução do teor de proteína do leite. Em alguns casos, a redução do teor de proteína do leite pode ocorrer por vários motivos: a) pelo simples efeito de diluição, decorrente do aumento da produção de leite quando são fornecidas rações com adição de gordura

(GARNSWORTHY, 2002); b) por variações nas concentrações das frações proteicas no leite, como a concentração de caseína; e c) por variações nas concentrações de alguns hormônios, que podem promover mudanças fisiológicas que afetam a síntese de proteína do leite (WU; HUBER, 1994).

Wu e Hurber (1994), revisando dados de 49 experimentos, envolvendo 83 comparações entre rações com e sem adição de gordura em vacas leiteiras, observaram que, na maioria dos casos, o teor de proteína foi reduzido pela adição de fontes de gordura nas rações. Esses autores concluíram que a redução do teor de proteína verificada nos estudos avaliados pode ser explicada em parte pelo aumento da produção de leite, sendo o grau de depressão dependente da fonte de gordura utilizada e da resposta à suplementação.

Petit et al. (2004) avaliaram o fornecimento da linhaça em grãos inteiros (9,7% de inclusão com 6,6% de EE) na alimentação de vacas em lactação e não observaram efeito sobre o consumo e a digestibilidade, e reportaram significativo aumento na produção de leite em relação ao tratamento controle (3,6% de EE).

Grãos de linhaça inteiros e sais de cálcio de ácidos graxos foram estudados por Cavalieri et al. (2005). Os autores relataram que a produção de leite dos animais que receberam grãos de linhaça foi menor do que a daqueles que receberam gordura protegida de sais de cálcio. Porém, as porcentagens de gordura, proteína e sólidos totais foram maiores no tratamento com grãos de linhaça. Dessa forma, a produção de leite corrigida para 4% de gordura foi igual para os tratamentos. Os autores relataram, ainda, que o fornecimento de grãos de linhaça aumentou o ácido graxo α -linolênico (C18:3) e a gordura protegida de sais de cálcio aumentou CLA, ambos importantes para a saúde humana.

Freitas Júnior (2008) não observou efeito das fontes de gordura nas rações sobre a produção de leite corrigida e nos teores de proteína, lactose, extrato seco total e desengordurado e na contagem de células somáticas. Entretanto, os animais que receberam a ração contendo grão de soja como fonte de gordura apresentaram menor produção de leite quando comparadas às demais rações utilizadas. Em virtude da menor produção de leite e da manutenção do teor de proteína, os animais que receberam a ração com grão de soja apresentaram menor produção de proteína em comparação com as outras rações experimentais. Duarte et al. (2005) e Vargas et al. (2002) verificaram resultados semelhantes a esse estudo quando utilizaram grão de soja como fonte de gordura para avaliar a produção e a composição do leite.

A menor produção de leite dos animais submetidos à ração com grão de soja pode estar relacionada ao menor aproveitamento dos nutrientes, à redução da digestibilidade

da matéria orgânica e ao menor NDT observado para a ração para a produção de leite e de seus componentes para as vacas submetidas a essa ração. Smith et al. (1978) enfatizam que a depressão do teor de proteína do leite observada em alguns estudos com o uso de gordura possivelmente pode ser explicada pela redução do aproveitamento de glicose, consequência da redução da concentração de propionato ruminal, causando baixa concentração de insulina no plasma e menor disponibilidade de glicose.

Emissão de metano

A produção de metano (H_2) pelos ruminantes é parte do processo digestivo que ocorre no rúmen. Para que a degradação dos nutrientes da dieta ocorra normalmente, levando à formação de ácidos graxos voláteis (AGV), é necessário que a pressão de H_2 mantenha-se reduzida, permitindo a reoxidação do dinucleotídeo de adenina nicotinamida (NADH), processo que ocorre por meio da metanogênese. Dessa forma, a manipulação do H_2 no rúmen pode ser uma alternativa para controlar a emissão de metano (JOBLIN, 1999).

A efetividade da adição de lipídeos para reduzir emissões de metano depende de vários fatores, incluindo o nível de suplementação, a fonte de lipídeo utilizada, a forma de disponibilização (óleo refinado ou sementes de oleaginosas, por exemplo) e o tipo de dieta (BEAUCHEMIN et al., 2008).

Embora reduções de metano maiores que 40% sejam possíveis com elevados níveis de adição de lipídeos (JORDAN et al., 2006b; MACHMÜLLER; KREUZER, 1999), na prática, reduções entre 10% e 25% são as mais prováveis (BEAUCHEMIN et al., 2008). Para que sejam obtidos esses valores elevados de inclusão de lipídeos, os grãos de oleaginosas apresentam-se como uma alternativa viável, visto que não apresentam efeito depressor no consumo de matéria seca, nem alteram a microflora ruminal.

Nesse sentido, o processo da bio-hidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados resulta em captura de H_2 . Sua influência sobre a metanogênese é baixa, já que a completa hidrogenação de 1 mol de ácido linolênico previne a formação de apenas 0,75 mol de CH_4 (MARTIN et al., 2009). A utilização de hidrogênio metabólico no processo de bio-hidrogenação de ácidos graxos insaturados é pequena (1%) se comparada àquelas inerentes à redução do CO_2 (48%), à síntese de AGVs (33%) e à síntese de células bacterianas (12%) (CZERKAWSKI, 1986).

De acordo com Grainger et al. (2008), estimativas de inclusão extra de 2% de gordura, por meio da utilização de tortas ou farelos de oleaginosas, na dieta de bovinos

de leite da Austrália levaria a uma redução de 12% da emissão de metano, o que, em termos econômicos, em um comércio de abatimento de CO₂, valeria aproximadamente AU\$ 30,5 milhões para a indústria leiteira.

Já Beauchemin et al. (2008), revisando 17 estudos com bovinos e ovinos, estabeleceram relação entre o nível de lipídeo adicionado (% do CMS) e a emissão de metano (g kg⁻¹ de MS consumida) para diferentes fontes dietéticas de gorduras e óleos. Foi relatada redução de 5,6% na produção de metano para cada 1% de adição de lipídeo. Os autores encontraram considerável variação entre as fontes de lipídeos no efeito sobre a metanogênese. Observaram queda acentuada na produção de metano (g kg⁻¹ de MS consumida) em alguns estudos com óleo de coco (63,8% de redução com adição de 7% de gordura) (MACHMÜLLER; KREUZER, 1999) e com ácido mirístico (58,3% de redução com 5% de adição de lipídeo) (MACHMÜLLER et al., 2003).

Suplementos ricos em ácidos graxos poli-insaturados, como ácido linoleico das sementes de girassol e ácido linolênico da linhaça, também têm efeito negativo sobre a produção de metano. Martin et al. (2008) observaram redução na emissão de metano de 52% pela suplementação com 5,8% de óleo de linhaça, enquanto Jordan et al. (2006a) relataram redução de 37% pela adição de 6,0% de óleo de soja. O efeito dos ácidos graxos poli-insaturados sobre a metanogênese ocorre, em parte, em virtude da redução da digestibilidade da fibra e do consumo de matéria seca. Quedas drásticas na produção de metano, por meio da utilização da suplementação dietética de lipídeos, ocorrem apenas quando a digestão da fibra é inibida (JOHNSON; JOHNSON, 1995).

O efeito tóxico de ácidos graxos de cadeia longa ocorre por meio da ação sobre a membrana celular, particularmente de bactérias Gram-positivas. O ácido linoleico é tóxico para bactérias celulolíticas (*F. succinogenes*, *R. albus* a *R. flavefaciens*), por afetar a integridade celular, e para fungos *Neocallimastix frontalis* cultivados in vitro (MAIA et al., 2007). Tais mudanças na população microbiana ruminal favorecem a formação de propionato, aumentando a captação de H₂ nesse processo.

Martin et al. (2009) também sumarizaram dados de estudos in vivo (67 dietas suplementadas com lipídeos, oriundas de 28 publicações), avaliando os efeitos de diferentes fontes de lipídeos sobre a emissão de metano entérico em bovinos e ovinos. O resultado obtido foi a redução média de 3,8% na emissão de metano (g kg⁻¹ de MS ingerida) para cada 1% de gordura adicionada na dieta (% do CMS).

Grainger et al. (2010) avaliaram os efeitos da suplementação de dietas de vacas leiteiras com caroço de algodão, por 12 semanas, sobre a metanogênese. Observaram redução

persistente na emissão de metano (3,5 g de CH₄ por quilo de MS ingerida, em média) ao longo de 12 semanas, com a adição de caroço de algodão (2,61 kg de MS por vaca por dia). A redução observada na produção de metano (g kg⁻¹ de MS ingerida), de 5,1% na primeira semana, aumentou para 14,5% na 12ª semana.

Diante do exposto, é evidente que os efeitos dos ácidos graxos sobre a metanogênese ruminal são amplamente dependentes da sua natureza. Suplementos lipídicos ricos em ácidos graxos de cadeia média (12 a 14 átomos de carbono), tais como óleos de coco, de palmáceas ou de canola (rico em ácido láurico), ou ácido mirístico purificado, são particularmente mais depressivos sobre a emissão de metano, principalmente em dietas ricas em concentrado e com baixos níveis de Ca (MACHMÜLLER et al., 2003). De acordo com Dohme et al. (2001), os ácidos láurico (C12:0) e mirístico (C14:0), fornecidos sozinhos, apresentam efeitos similares, mas a combinação desses dois ácidos graxos provoca efeito sinérgico, levando à queda acentuada da emissão de metano (SOLIVA et al., 2004). A utilização comercial dessa estratégia para a mitigação do metano tem alto custo em países de clima temperado, mas mostra-se viável no Brasil, graças à maior disponibilidade desses produtos no mercado.

A utilização da suplementação lipídica como estratégia de mitigação do metano entérico deve considerar os efeitos sobre o metabolismo e o desempenho do animal, para que a escolha da fonte de óleo/gordura e o nível de adição na dieta sejam estabelecidos de forma apropriada. Os efeitos negativos do uso de lipídeos para ruminantes são menos expressivos em dietas com baixo teor de fibra. Portanto, a suplementação com lipídeo deve ser mais cautelosa em sistemas de produção em pastagem. Além disso, são necessários mais estudos in vivo para avaliar o uso de óleo/gordura em dietas de ruminantes, considerando os efeitos em longo prazo, e não apenas sua ação em períodos experimentais curtos.

Efeito da suplementação de gordura sobre a função reprodutiva da fêmea bovina

Gorduras na dieta podem influenciar positivamente a reprodução das fêmeas por alterações no folículo ovariano e na função do corpo lúteo, por melhorar o status energético e pelo aumento dos precursores das sínteses dos hormônios reprodutivos, como os esteroides e as prostaglandinas (MATTOS et al., 2000, 2002; STAPLES et al., 1998).

Além disso, a adição de gordura a dietas de vacas no pré- e no pós-parto tem a função de aumentar o conteúdo energético dessas, reduzindo, assim, o período e a intensidade do BEN.

A adição de gordura na dieta é capaz de influenciar a função luteal, de três maneiras: a) pela ação direta na produção de P4; b) pela alteração na produção de eicosanoides dentro do tecido luteal; e c) e/ou pela interação com o sistema controlador da luteólise e reconhecimento materno fetal da gestação (PETIT, 2003).

Diversos tipos de fonte de gordura foram utilizados na alimentação de vacas, entre eles, os óleos vegetais, ricos em ácidos graxos poli-insaturados, e a gordura animal, rica em gordura saturada. Acredita-se que o efeito positivo da gordura sobre a função reprodutiva seja decorrente principalmente dos ácidos graxos poli-insaturados (AMBROSE; KASTELIC, 2003; PETIT, 2003).

A utilização de grãos de oleaginosas, bem como de seus óleos, por serem ricos nos ácidos graxos oleico C18:1, linoleico C18:2 e linolênico C18:3, pode interferir indiretamente na disponibilidade de insulina. À medida que o organismo eleva a utilização desses lipídeos, promove uma redução no emprego de glicose, elevando os níveis circulantes desse carboidrato. Como consequência do efeito poupador de glicose, a concentração de insulina circulante também tende a elevar-se. Esse peptídeo, além de ser postulado como o principal hormônio modulador do metabolismo de carboidratos, também tem efeitos reprodutivos, demonstrados no ovário, como a participação na biossíntese de progesterona, o estímulo à proliferação celular e a atuação da enzima aromatase (envolvida na produção de esteroides) (MEIYU et al., 2011).

Em alguns trabalhos, foi evidenciado que vacas alimentadas com sais de cálcio de ácidos graxos (CaLCFA) tiveram melhores índices de fertilidade do que vacas alimentadas com outras gorduras ou outras fontes de energia (STAPLES et al., 1998). Em outro estudo (MCNAMARA et al., 2003), mostrou-se que suplementos alimentares com gordura aumentaram a taxa de concepção ao primeiro serviço, mas não afetaram significativamente a taxa de prenhez ao final da estação de monta em vacas da raça Holandesa.

Os efeitos positivos da suplementação alimentar com gordura sobre vacas leiteiras podem ocorrer pelo estímulo do crescimento folicular ovariano, em associação ao aumento no balanço energético (LUCY et al., 1991). Alguns estudos demonstraram aumento na população folicular em vacas suplementadas com sais de cálcio de ácidos graxos. Lucy et al. (1991) e Beam e Butler (1997) e outros demonstraram aumento no tamanho do folículo

ovulatório, quando utilizaram ácidos graxos poli-insaturados sob a forma de gordura protegida (BEAM; BUTLER, 1997; STAPLES et al., 2000).

A ovulação de um folículo maior pode resultar em um corpo lúteo maior (SARTORI et al., 2002; VASCONCELOS et al., 2001) e com aumento da capacidade esteroidogênica de produzir progesterona (P4). Além disso, em estudo conduzido por Hawkins et al. (1995), vacas suplementadas com gordura protegida apresentaram aumento nas concentrações séricas de colesterol, HDL e P4.

O colesterol é precursor de esteroides; aumentando, portanto, as concentrações sanguíneas de colesterol, é possível, concomitantemente, aumentar os níveis circulantes dos esteroides. Hawkins et al. (1995) também observaram maior tempo para a queda nos níveis sanguíneos de P4 após a ovariectomia em vacas suplementadas com gordura. Esse resultado sugere que a alimentação com gordura tenha retardado a metabolização da P4.

Em experimento *in vitro*, Sangsritavong et al. (2002) reforçaram essa hipótese, demonstrando que ácidos graxos livres (especialmente o ácido linolênico C18:3) retardaram o metabolismo de esteroides P4 e E2 em fatias de fígado. Esse estudo, entretanto, utilizou quantidades de ácidos graxos que seriam impossíveis de ser fornecidas a vacas, em dietas.

Posteriormente, Sartori et al. (2004), em um trabalho *in vivo*, avaliaram a adição de óleo de linhaça, rico em ácido linolênico (C18:3), infundido diretamente no abomaso e em quantidades passíveis de ser ingeridas diariamente, com a intenção de retardar o metabolismo de esteroides. Apesar de ter-se alterado o perfil plasmático de ácidos graxos, com um aumento de 46% em C18:3 (de 4,8% para 7,0% do total de ácidos graxos plasmáticos), não houve uma inibição aparente no metabolismo dos esteroides P4 e E2.

A formação de eicosanoides (compostos bioativos que incluem as prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos) inicia-se com a liberação de ácido araquidônico (AA) dos fosfolípidos, através da ação da fosfolipase A2 (PLA2). Portanto, o aumento da atividade da fosfolipase A2 leva ao aumento do AA e, assim, de seus metabólitos, incluindo a PGF2 α , responsável pela luteólise, diminuindo, assim, a produção de P4.

Os ácidos graxos da família n-6 (como o ácido linoleico) aumentam a síntese de prostaglandina, enquanto os da família n-3 (como o ácido linolênico) podem reduzir o ácido araquidônico e a síntese de prostaglandina, por meio da inibição das enzimas PLA2 e ciclo-oxigenase (THATCHER et al., 2001).

Diante disso, Sartori e Mollo (2007) propuseram duas estratégias de suplementação de gordura em vacas leiteiras: uma, com ácidos graxos insaturados da família n-6 durante

o período periparto; e outra, rica em ácidos graxos insaturados da família n-3 durante o período de serviço. A dieta com ácidos graxos insaturados da família n-6, por aumentar a síntese de prostaglandinas e atuar no crescimento folicular, pode ter efeito benéfico no parto, além de auxiliar na involução uterina pós-parto, restabelecer a ciclicidade mais precocemente e ajudar no crescimento folicular e na ovulação.

Dietas suplementadas com ácidos graxos insaturados da família n-3, como aquelas que contenham grão de girassol em sua formulação, podem ter um efeito positivo, pelo seu potencial de redução da secreção de prostaglandina pelo útero, e pela diminuição da sensibilidade do corpo lúteo à PGF2 α . Em fêmeas bovinas, a secreção de PGF2 α endometrial, entre o 15º e o 19º dia do ciclo estral, determina a luteólise. Durante tal período, considerado como crítico para a gestação, moléculas sintetizadas pelo conceito (Interferon- τ) devem inibir a síntese de PGF2 α , mantendo a secreção de progesterona pelo corpo lúteo, fundamental ao estabelecimento da gestação.

A redução na liberação de PGF2 α após a IA potencialmente melhora a fertilidade, pela redução de perdas embrionárias causadas pela falha na supressão da liberação de PGF2 α , durante o início da gestação (BINELLI et al., 2001). Falhas nesse processo são responsáveis por 20% a 40% da mortalidade embrionária total. Além disso, durante essa fase, maiores concentrações circulantes de P4, resultantes da suplementação com gordura, podem auxiliar no desenvolvimento embrionário, incrementando a sua produção e a secreção de interferon- τ (MANN et al., 1999), prevenindo, assim, a luteólise e mantendo a gestação.

Para comprovar tais afirmações, Peres et al. (2008) realizaram experimento utilizando um grupo de 133 fêmeas bovinas da raça Nelore, dividido em dois lotes. Num dos lotes, as vacas eram suplementadas com concentrado de grãos de girassol, e no outro não. Os autores observaram que a utilização de grão de girassol como fonte de ácido linoleico, no período pós-IATF, diminuiu a mortalidade embrionária nos primeiros 30 dias e incrementou significativamente (66,7% versus 46,3%; P = 0,02) as taxas de concepção do grupo tratado.

Referências

- ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1598-1624, 2000.
- AMBROSE, D. J.; KASTELIC, J. P. Dietary fatty acids and dairy cow fertility. **Advances in Dairy Technology**, v. 15, p. 35-47, 2003.
- AMBROSE, D. J.; KASTELIC, J. P.; CORBETT, R.; PITNEY, P. A.; PETIT, H. V.; SMALL, J. A.; ZALKOVIC, P. Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in alpha-linolenic acid. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 8, p. 3066-3074, 2006.

- ANDERSEN, J. B.; RIDDER, C.; LARSEN, T. Priming the cow for mobilization in the periparturient period: effects of supplementing the dry cow with saturated fat or linseed. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 3, p. 1029-1043, 2008.
- ASHES, J. R.; GULATI, S. K.; SCOTT, T. W. Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 9, p. 2204-2212, 1997. Symposium: new approaches to changing milk composition.
- ASHES, J. R.; WELCH, P. S.; GULATI, S. K.; SCOTT, T. W.; BROWN, G. H.; BLAKELEY, S. Manipulation of the fatty acid composition of milk by feeding protected canola seeds. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 4, p. 1090-1096, 1992.
- BATEMAN, H. G.; CLARK, J. H. Soybean based feeds for dairy cows. **Dairy Cattle**, 15 Nov. 2000. Disponível em: <[www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=327Ilini.DairyNet Papers](http://www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=327Ilini.DairyNet%20Papers)>. Acesso em: 30 jul. 2013.
- BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 12, p. 3864-3881, 1993.
- BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v. 70, p. 15-29, 2001.
- BAUMAN, D. E.; MATHER, I. H.; WALL, R. J.; LOCK, A. L. Major advances associated with the biosynthesis of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1235-1243, 2006.
- BEAM, S. W.; BUTLER, W. R. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. **Biology of Reproduction**, v. 56, n. 1, p. 133-142, 1997.
- BEAUCHEMIN, K. A.; KREUZER, M.; O'MARA, F.; MCALLISTER, T. A. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, n. 2, p. 21-27, 2008.
- BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 56, n. 9, p. 1451-1463, 2001.
- BREMER, J. Carnitine-metabolism and functions. **Physiological Reviews**, v. 63, n. 4, p. 1420-1480, 1983.
- CAVALIERI, F. L. B. **Lipídeos dietéticos na produção de embriões, na composição do leite e no perfil metabólicos de vacas da raça Holandesa**. 2003. 101 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- CAVALIERI, F. L. B.; SANTOS, G. T.; MATSUSHITA, M.; PETIT, H. V.; RIGOLON, L. P.; SILVA, D.; HORST, J. A.; CAPOVILLA, L. C.; RAMOS, F. S. Milk production and milk composition of dairy cows fed Lac100® or whole flaxseed. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 3, p. 413-416, 2005. Short communication.
- CERRI, R. L. A.; JUCHEM, S. O.; CHEBEL, R. C.; RUTIGLIANO, H. M.; BRUNO, R. G.; GALVÃO, K. N.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. Effect of fat source differing in fatty acid profile on metabolic parameters, fertilization, and embryo quality in high-producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 4, p. 1520-1531, 2009.
- CHALUPA, W.; RICKABAUGH, B.; KRONFELD, D. S.; SKLAN, D. Rumen fermentation in vitro as influenced by long chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 7, p. 1439-1444, 1984.
- CHOI, B. R.; PALMQUIST, D. L. High fat diets increase plasma cholecystokinin and pancreatic polypeptide, and decrease plasma insulin and feed intake in lactating cows. **Journal of Nutrition**, v. 126, n. 11, p. 2913-2919, 1996.
- CHOI, B. R.; PALMQUIST, D. L.; ALLEN, M. S. Cholecystokinin mediates depression of feed intake in dairy cattle fed high fat diets. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 19, p. 159-175, 2000.
- CLARK, P. W.; ARMENTANO, L. E. Effectiveness of neutral detergent fiber in whole cottonseed and dried distillers grains compared with alfalfa haylage. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 2644-2650, 1993.
- CONN, E. E. Cyanide and cyanogenic glycosides. In: ROSENTHAL, G. A.; BERENBAUM, M. R. (Ed.). **Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites**. New York: Academic Press, 1979. p. 387-412.

- COPPOCK, C. E.; WILKS, D. L. Supplemental fat in high energy rations for lactating cows: Effects on intake, digestion, milk yield, and composition. **Journal Animal Science**, v. 69, n. 9, p. 3826-3837, 1991.
- CORRÊA, A. M. V. **Utilização da soja em diferentes formas na alimentação de vacas leiteiras**. 2007. 128 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- COSTA, S. B. M. **Feno de capim tifton, casca de soja e caroço de algodão como fonte de fibra em dietas à base de palma forrageira para ovinos**. 2009. 43 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- CZERKAWSKI, J. W. Degradation of solid feeds in the rumen: spatial distribution of microbial activity and its consequences. In: MILLIGAN, L. P.; GROVUM, W. L.; DOBSON, A. (Ed.). **Control of digestion and metabolism in ruminants**. New Jersey: Prentice Hall, 1986. p. 173-195.
- D'ANGELO, L. S. **Fontes de gordura na alimentação de vacas leiteiras no período de transição e início de lactação**. 2009. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- DHIMAN, T. R.; SATTER, L. D.; PARIZA, M. W.; GALLI, M. P.; ALBRIDHT, K.; TOLOSA, M. X. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 5, p. 1016-1027, 2000.
- DOHME, F.; MACHMÜLLER, A.; WASSERFALLEN, A.; KREUZER, M. Ruminal methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. **Letters in Applied Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 47-51, 2001.
- DOREAU, M.; CHILLIARD, Y.; BAUCHART, D.; MICHALET-DOREAU, B.; FLÉCHET, J.; LEFAIVRE, R.; LEGAY, C.; MEYER, M.; OLLIER, A. Influence of different fat supplements on digestibility and ruminal digestion in cows. **Annales de Zootechnie**, v. 40, n. 1, p. 19-30, 1991.
- DOREAU, M.; LAVERROUX, S.; NORMAND, J.; CHESNEAU, G.; GLASSER, F. Effect of linseed fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on fatty acid rumen metabolism and intestinal digestibility in cows. **Lipids**, v. 44, n. 1, p. 53-62, 2009.
- DRACKLEY, J. L.; KLUSMEYER, T. H.; TRUSK, A. M.; CLARK, J. H. Infusion of long-chain fatty acids varying in saturation and chain length into abomasum of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 6, p. 1517-1526, 1992.
- DUARTE, L. M. A.; STUMPF JÚNIOR, W.; FISCHER, V.; SALLA, L. E. Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas Jersey sobre o consumo, a produção e a composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2020-2028, 2005.
- ELLIOTT, J. P.; DRACKLEY, J. K.; SCHAUFF, D. J.; JASTER, E. H. Diets containing high oil corn and tallow for dairy cows during early lactation. **Journal Dairy Science**, v. 76, n. 3, p. 775-789, 1993.
- FENG, D.; SHEN, Y.; CHAVEZ, E. R. Effectiveness of different processing methods in reducing hydrogen cyanide content of flaxseed. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 8, p. 836-841, 2003.
- FRANCO, M. Gordura protegida é boa fonte de energia. **Revista DBO**, ano 26, n. 321, p. 45, 2007.
- FREITAS JÚNIOR, J. E. **Utilização de fontes de gordura em rações de vacas leiteiras**. 2008. 93 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- GAGLIOSTRO, G. A.; CHILLIARD, Y. Utilización de lipídeos protegidos em la nutrición de la vaca lechera: II. Efectos sobre la concentración plasmática de metabolitos e hormonas, mobilización de lipídeos corporales y actividad metabólica del tejido adiposo. **Revista Argentina de Producción Animal**, v. 12, n. 1, p. 17-32, 1992.
- GARNSWORTHY, P. C. Fat in dairy cow diets. In: WISEMAN, J.; GARNSWORTHY, P. C. (Ed.). **Recent developments in ruminant nutrition 4**. Nottingham: University Press, 2002. p. 399-444.
- GLASSER, F.; FERLAY, A.; CHILLIARD, Y. Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 12, p. 4687-4703, 2008a.

- GLASSER, F.; FERLAY, A.; DOREAU, M.; SCHMIDELY, P.; SAUVANT, D.; CHILLIARD, Y. Long-chain fatty acid metabolism in dairy cows: a meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and de novo synthesis. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 7, p. 2771-2785, 2008b.
- GLASSER, F.; SCHMIDELY, P.; SAUVANT, D.; DOREAU, M. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors: 2. C18 fatty acids. **Animal**, v. 2, n. 5, p. 691-704, 2008c.
- GONTHIER, C.; MUSTAFA, A. F.; BERTHIAUME, R.; PETIT, H. V.; MARTINEAU, R.; OUELLET, D. R. Effects of feeding micronized and extruded flaxseed on ruminal fermentation and nutrient utilization by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 6, p. 1854-1863, 2004.
- GRAINGER, C.; CLARKE, T.; BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN, S. M.; ECKARD, R. J. Supplementation with whole cottonseed reduces methane emissions and can profitably increase milk production of dairy cows offered a forage and cereal grain diet. **Animal Production Science**, v. 48, n. 2, p. 73-76, 2008.
- GRAINGER, C.; WILLIAMS, R.; CLARKE, T.; WRIGHT, A. D.; ECKARD, R. J. Supplementation with whole cottonseed causes long-term reduction of methane emissions from lactating dairy cows offered a forage and cereal grain diet. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 2612-2619, 2010.
- GRIINARI, J. M.; BAUMAN, D. E.; CASTAÑEDA-GUTIÉRREZ, E. Novos conceitos relacionados à manipulação da gordura do leite. In: DURR, J. W.; CARVALHO, M. P.; SANTOS, M. V. (Ed.). **O compromisso com a qualidade do leite**. Passo Fundo: Ed. UPF, 2004. v. 1, p. 210-234.
- GRUMMER, R. R. Ruminal inertness vs digestibility of fat supplements: can there be harmony? In: CORNELL CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 57., 1995, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1995. p. 13-24.
- GRUMMER, R. R.; CARROLL, D. J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 9, p. 3838-3852, 1991.
- GRUMMER, R. R.; HATFIELD, M. L.; DENTINE, M. R. Acceptability of fat supplements in four dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 3, p. 852-857, 1990.
- HAWKINS, D. E.; NISWENDER, K. D.; OSS, G. M.; MOELLER, C. L.; ODDE, K. G.; SAWYER, H. R.; NISWENDER, G. D. An increase in serum lipids increases luteal lipid content and alters the disappearance rate of progesterone in cows. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 2, p. 541-545, 1995.
- JOBLIN, K. N. Ruminal acetogens and their potential to lower ruminant methane emissions. **Australian Journal Agricultural Research**, v. 50, n. 8, p. 1321-1327, 1999.
- JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emissions from cattle. **Journal Animal Science**, v. 73, n. 8, p. 2483-2492, 1995.
- JORDAN, E.; KENNY, D.; HAWKINS, M.; MALONE, R.; LOVETT, D. K.; O'MARA, F. P. Effect of refined soy oil or whole soybeans on intake, methane output, and performance of young bulls. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 9, p. 2418-2425, 2006a.
- JORDAN, E.; LOVETT, D. K.; MONAHAN, F. J.; CALLAN, J.; FLYNN, B.; O'MARA, F. P. Effect of refined coconut oil or copra meal on methane output and on intake and performance of beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 1, p. 162-170, 2006b.
- KENNELLY, J. J. The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding oilseeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 60, n. 3, p. 137-152, 1996.
- KHORASANI, G. R.; BOER, G. de; ROBINSON, P. H.; KENNELLY, J. J. Effect of canola fat on ruminal and total tract digestion, plasma hormones, and metabolites in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 2, p. 492-501, 1992.
- KHORASANI, G. R.; KENNELLY, J. J. Effects of added fat on performance, rumen characteristics, and plasma metabolites of midlactation cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 9, p. 2459-2468, 1998.
- LANA, R.P. **Sistema Viçosa de formulação de rações**. Viçosa: Ed. UFV, 2000. 60 p.

- LIMA, M. L. M. **Análise comparativa da efetividade da fibra de volumosos e subprodutos**. 2003. 131 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- LUCY, M. C.; STAPLES, C. R.; MICHEL, F. M.; THATCHER, W. W.; BOLT, D. J. Effect of feeding calcium soaps to early postpartum dairy cows on plasma prostaglandin F2 alpha, luteinizing hormone, and follicular growth. **Journal Dairy Science**, v. 74, n. 2, p. 483-489, 1991.
- MACHMÜLLER, A.; KREUZER, M. Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 79, n. 1, p. 65-72, 1999.
- MACHMÜLLER, A.; SOLIVA, C. R.; KREUZER, M. Methane-suppressing effect of myristic acid in sheep as affected by dietary calcium and forage proportion. **British Journal of Nutrition**, v. 90, n. 3, p. 529-540, 2003.
- MAIA, M. R. G.; CHAUDHARY, L. C.; FIGUERES, L.; WALLACE R, J. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 91, n. 4, p. 303-314, 2007.
- MANN, G. E.; ROBINSON, R. S.; WATHES, D. C.; LAMMING, G. E. The regulation of interferon- τ production and uterine hormone receptors during early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility, Supplement**, n. 54, p. 317-328, 1999.
- MANSFIELD, H.R.; STERN, M. D. Effects of soybean hulls and lignosulfonate-treated soybean meal on ruminal fermentation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 4, p. 1070-1083, 1994.
- MARTIN, C.; FERLAY, A.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Decrease in methane emissions in dairy cows with increase in dietary linseed content. **Proceedings of the British Society of Animal Science**, p. 21, 2009.
- MARTIN, C.; ROUEL, J.; JOUANY, J. P.; DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 10, p. 2642-2650, 2008.
- MATTOS, R.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. **Review of Reproduction**, v. 5, n. 1, p. 38-45, 2000.
- MATTOS, R.; STAPLES, C. R.; WILLIAMS, J.; AMOROCHO, A.; MCGUIRE, M. A.; THATCHER, W. W. Uterine, ovarian, and production responses of lactating dairy cows to increasing dietary concentrations of menhaden fish meal. **Journal Dairy Science**, v. 85, n. 4, p. 755-764, 2002.
- MCGUFFEY, R. K.; SCHINGOETHE, D. J. Whole sunflower seeds for high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 8, p. 1479-1483, 1982.
- MCNAMARA, S.; BUTLER, T.; RYAN, D. P.; MEE, J. F.; DILLON, P.; O'MARA, F. P.; BUTLER, S. T.; ANGLESEY, D.; RATH, M.; MURPHY, J. J. Effect of offering rumen-protected fat supplements on fertility and performance in spring-calving Holstein-Friesian cows. **Animal Reproduction Science**, v. 79, n. 1/2, p. 45-56, 2003.
- MEIYU, Q. I.; ROTH, Z.; LIU, D. Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) in reproduction system of female bovine. **Journal of Northeast Agricultural University**, v. 18, n. 4, p. 84-87, 2011.
- MOURA, M. T.; FILGUEIRAS NETO, G. Gordura protegida: 30 anos no mercado sempre com as mesmas dúvidas. **Nutrition for Tomorrow: A revista da produção animal**, n. 9, ano 4, p. 52-54, 2012.
- MÜHLBACH, P. R. F.; OSPINA, H.; PRATES, E. R.; BARCELLOS, J. O. J. Aspectos nutricionais que interferem na qualidade do leite. In: ENCONTRO ANUAL DA UFRGS SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 2., 2000, Porto Alegre. [Anais...] Porto Alegre: Departamento de Zootecnia da UFRGS, 2000. p. 73-102.
- MULLER, M.; PRADO, I. N.; LOBO JÚNIOR, A. R.; SCOMPARIN, V. X.; RIGOLON, L. P. Diferentes fontes de lipídeos sobre o desempenho e características da carcaça de novilhas de corte confinadas. **Acta Scientiarum: Animal Science**, v. 27, n. 1, p. 131-137, 2005.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington, DC: National Academy Press, 2001. 381 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 6th ed. Washington, DC: National Academy Press, 1989. 158 p.

NEVES, C. A.; SANTOS, G. T.; MATSUSHITA, M.; ALVES, E. M.; OLIVEIRA, R. L.; BRANCO, A. F.; SILVA, D. C.; FURLAN, A. C.; PETIT, H. V. Intake, whole tract digestibility, milk production, and milk composition of Holstein cows fed extruded soybeans treated with or without lignosulfonate. **Animal Feed Science and Technology**, v. 134, n. 1/2, p. 32-44, 2007.

NÖRNBERG, J. L. **Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas Jersey na fase inicial de lactação**. 2003. 158 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

NÖRNBERG, J. L.; LÓPEZ, J.; STUMPF JÚNIOR, W.; COSTA, P. B.; SCHAFFHÄUSER JÚNIOR, J. Desempenho de vacas Jersey suplementadas com diferentes fontes lipídicas na fase inicial da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1431-1438, 2006.

OLIVEIRA, S. G.; SIMAS, J. M. C.; SANTOS, F. A. P.; IMAIZUMI, H. Suplementação com diferentes fontes de gordura em dietas com alta e baixa inclusão de concentrado para vacas em lactação. **ARS Veterinaria**, v. 20, n. 2, p. 160-168, 2004.

ONETTI, S. G.; GRUMMER, R. R. Response of lactating cows to three supplemental fat sources as affected by forage in the diet and stage of lactation: a meta-analysis of literature. **Animal Feed Science and Technology**, v. 115, n. 1, p. 65-82, 2004.

PALMQUIST, D. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 4, p. 1354-1360, 1991.

PALMQUIST, D. L. Calcium soaps of fatty acids with varying unsaturation as fat supplements for lactating cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 64, n. 5, p. 240-241, 1984.

PALMQUIST, D. L. Digestibility of lint fiber and whole oilseeds by ruminal microorganisms. **Animal Feed Science and Technology**, v. 56, n. 3/4, p. 231-242, 1995.

PALMQUIST, D. L. The feeding value of fats. In: ORSKOV, E. R. (Ed.). **Feed science**. Amsterdam: Elsevier, 1988. p. 293-311.

PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v. 63, n. 1, p. 1-14, 1980.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p. 287-310.

PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. Turnover of lipoproteins and transfer to milk fat dietary (1-carbon-14) linoleic acid in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 5, p. 561-565, 1978.

PERES, M. S.; ROSSETTI, R. C.; SANTOS, P. G. dos; ANDRIGHETTO, C.; PEREIRA, F. T. V.; FONSECA, R. da; BERTAN, C. Efeito da semente de girassol na taxa de concepção de vacas Nelore no período pós-parto. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, supl. 2, p. 639, 2008.

PETIT, H. V. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 6, p. 1482-1490, 2002.

PETIT, H. V. Effects of dietary fat on reproduction. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2003, Fort Wayne. **Proceedings...** Fort Wayne: Tri-State Dairy Nutrition Conference, 2003. p. 35-47.

PETIT, H. V.; GERMIQUET, C.; LEBEL, D. Effect of feeding whole, unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 11, p. 3889-3898, 2004.

PINTO, J. H. E.; FONTANA, A. Canola e girassol na alimentação animal. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1., 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2001. p. 109-134.

REIDELBERGER, R. D. Cholecystokinin and control of food intake. **Journal of Nutrition**, v. 124, n. 8, p. 1327-1333, 1994. Supplement.

- RYAN, C. A. Proteolytic enzymes and their inhibitors in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 173-196, 1973.
- SANGSRITAVONG, S.; MASHEK, D. G.; GUMEN, A.; HAUGHIAN, J. M.; GRUMMER, R. R.; WILTBANK, M. C. Metabolic clearance rate of progesterone and estradiol-17 β is decreased by fat. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 142, 2002.
- SANTOS, G. T.; DAMASCENO, J. C.; JOBIM, C. C.; GONÇALVES, G. D.; CHIQUITELLI NETO, M. C.; PORTO, P. P.; RIBEIRO, C. R. Efeito dos tratamentos com autoclave e/ou ácido tânico na degradabilidade *in situ* e na digestibilidade *in vitro* de grãos de canola. **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, v. 26, n. 4, p. 507-512, 2004.
- SANTOS, R. L. Efeitos do gossipol sobre a reprodução. **Cadernos Técnicos - Escola Veterinária**, n. 21, p. 73-82, 1997.
- SARTORI, R.; MOLLO, M. R. Influência da ingestão alimentar na fisiologia reprodutiva da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 2, p. 197-204, 2007.
- SARTORI, R.; ROSA, G. J. M.; WILTBANK, M. C. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 11, p. 2813-2822, 2002.
- SARTORI, R.; SOUZA, A. H.; PICCINATO, C. A.; SANGSRITAVONG, S.; LUCHINI, D.; GRUMMER, R. R.; WILTBANK, M. C. Effects of intra-abomasal infusion of linseed oil on steroid metabolism in dairy cows. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 15., 2004, Porto Seguro. **Abstracts...** Belo Horizonte: CBRA, 2004. v. 2, p. 311.
- SCHAUFF, D. J.; CLARK, J. H. Effects of feeding diets containing calcium salts of long-chain fatty acids to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 11, p. 2990-3002, 1992.
- SCHAUFF, D. J.; CLARK, J. H.; DRACKLEY, J. K. Effects of feeding lactating dairy cows diets containing extruded soybeans and calcium salts of long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 11, p. 3003-3019, 1992a.
- SCHAUFF, D. J.; ELLIOTT, J. P.; CLARK, J. H.; DRACKLEY, J. K. Effects of feeding lactating dairy cows diets containing whole soybeans and tallow. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 7, p. 1923-1935, 1992b.
- SECCHIARI, P.; ANTONGIOVANNI, M.; MELE, M.; SERRA, A.; BUCCIONI, A.; FERRUZZI, G.; PAOLETTI, F.; PETACCHI, F. Effect of kind of dietary fat on the quality of milk fat from Italian Friesian cows. **Livestock Production Science**, v. 83, n. 1, p. 43-52, 2003.
- SMITH, N. E.; DUNKLEY, W. L.; FRANKE, A. A. Effects of feeding protected tallow to dairy cows in: early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 6, p. 747-756, 1978.
- SMITH, W. A. Fats for lactating dairy cows. In: CONGRESS OF THE SOUTH AFRICAN SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 29., 1990, Stellenbosch. **Animal production**. Stellenbosch: University of Stellenbosch, 1990. p. 1-10.
- SOLIVA, C. R.; MEILE, L.; CIESLAK, A.; KREUZER, M.; MACHMÜLLER, A. Rumen simulation technique study on the interactions of dietary lauric and myristic acid supplementation in suppressing ruminal methanogenesis. **British Journal of Nutrition**, v. 92, n. 4, p. 689-700, 2004.
- STAPLES, C. R.; BURKE, J. M.; THATCHER, W. W. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 3, p. 856-871, 1998.
- STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R. Fat supplementation strategies for lactating dairy cow diets. In: SINLEITE - SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA DE LEITE, 2., 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Ed. Universidade Federal de Lavras, 2001. p. 161-178.
- STAPLES, C. R.; WILTBANK, M. C.; GRUMMER, R. R.; GUENTHER, J. N.; SARTORI, R.; DIAZ, F. J.; BERTICS, S.; MATTOS, R.; THATCHER, W. W. Effect of long chain fatty acids on lactation performance and reproductive tissues of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, suppl. 1, p. 278, 2000.
- TEIXEIRA, D. A. B.; BORGES, I. Efeito do nível de caroço integral de algodão sobre o consumo e digestibilidade aparente da fração fibrosa do feno de braquiária (*Brachiaria decumbes*) em ovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 2, p. 229-233, 2005.

THATCHER, W. W.; GUZELOGLU, A.; MATTOS, R.; BINELLI, M.; HANSEN, T. R.; PRU, J. K. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. **Theriogenology**, v. 56, n. 9, p. 1435-1450, 2001.

THEURER, M. L.; MCGUIRE, M. A.; SANCHEZ, W. K. Sais de cálcio de ácidos Graxos poliinsaturados fornecem mais EFA para vacas em lactação. In: PACIFIC NORTHWEST NUTRITION CONFERENCE, 2002, Vancouver. **Proceedings...** Disponível em: <http://www.qgncarbonor.com.br/includes/arquivos/artigos/nutricaoanimal/Elliot_Block_Rumen_Health_2004_port.pdf>. Acesso em: 30 jul. 2013.

TYMCHUK, S. M.; KHORASANI, G. R.; KENNELLY, J. J. Effect of feeding formaldehyde-and heat-treated oil seed on milk yield and milk composition. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 78, n. 4, p. 693-700, 1998.

VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. Viçosa: Ed. UFV, 2006. 329 p.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Cornell: University Press, 1994. 476 p.

VARGAS, L. H.; LANA, R. P.; JHAM, G. N.; SANTOS, F. L.; QUEIROZ, A. C. MANCIO, A. B. Adição de lipídeos na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 522-529, 2002.

VASCONCELOS, J. L. M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H. N.; GUENTHER, J. G.; WILTBANK, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v. 56, n. 2, p. 307-314, 2001.

VASQUEZ-AÑÓN, M.; BERTICS, S. J.; GRUMMER, R. R. The effect of energy source during mid to late lactation on liver triglyceride and lactation performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 10, p. 2504-2512, 1997.

VILELA, D.; ALVIM, M. J.; MATOS, L. L.; MATIOLLI, J. B. Utilização de gordura protegida durante o terço inicial da lactação de vacas leiteiras, em pastagem de coast-cross. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 10, p. 1503-1509, 2002.

VILLELA, S. D. J.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C.; LEÃO, M. I.; CECON, P. R.; PEREIRA, J. C. Carço de algodão para vacas leiteiras: I. Consumo de nutrientes, produção e composição do leite. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 25, n. 2, p. 298-308, 1996.

WU, Z.; HUBER, J. T. Relationship between dietary fat supplementation and milk protein concentration in lactating cows: a review. **Livestock Production Science**, v. 39, n. 2, p. 141-155, 1994.

NOVAS FORMAS DE USO DO ARROZ NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES

Rudolf Brand Scheibler
Fábio Antunes Rizzo
Lívia Argoud Lourenço
Victor Ionatan Fioreze
Jorge Schafhäuser Junior
José Laerte Nörnberg
Diego Prado de Vargas

Introdução

Historicamente, o arroz é um dos alimentos mais comuns na mesa dos brasileiros, sendo o Brasil o maior produtor e o maior consumidor não asiático desse cereal. Segundo Sindarroz (OLIVEIRA, 2012), o País consome 12.400.000 t desse grão, e sua produção é de 11.945.100 t (CONAB, 2013), demonstrando um ligeiro e tênue equilíbrio entre esses índices.

Na safra 2012/2013, conjunções de mercado fizeram os interesses dos produtores se voltar para o plantio de soja e milho. Por esse motivo, as áreas plantadas com essas culturas foram expandidas em 10,7% e 15,6%, respectivamente (CONAB, 2013), reduzindo, assim, a área ocupada com outras culturas, entre elas a do arroz. Mesmo assim, essa safra apresentou crescimento da produção de 3% em comparação com a do ano anterior, apesar da redução de 1,5% da área plantada (CONAB, 2013). O Estado do Rio Grande do Sul, que é responsável por 66,9% da produção brasileira, foi o principal responsável por evitar o declínio da produção nacional absoluta.

A despeito de algumas instabilidades mercadológicas e também ocasionadas por intempéries, a série histórica da produção brasileira de arroz vem apresentando crescimento, fenômeno esse que é justificado pela elevação da produtividade das áreas cultivadas.

Em relação à balança comercial, o País tem, entretanto, historicamente apresentado deficit, embora tenha exibido saldo positivo nas safras 2011/2012 e 2012/2013 (Figura 1).

A elevação da produção nacional, somada às históricas importações, predispõe a ocorrência de maior disponibilidade do produto no mercado. A maior oferta, por sua vez, tende a pressionar negativamente os preços.



Figura 1. Série histórica do saldo comercial de exportações e importações de grãos de arroz com casca desde a safra 1999/2000.

Fonte: adaptado de Brasil (2013) e Instituto Rio Grandense do Arroz (2012).

Embora a demanda total de arroz por parte da população brasileira se mantenha relativamente estável, o consumo per capita vem decrescendo. A relativa redução do consumo de arroz, somada à superprodução ocorrida em 2011, à redução da área plantada e à entrada de produto oriundo de países do Mercosul, entre outros fatores, fez emergir a necessidade de diversificação do uso desse cereal, buscando, assim, ampliar a quantidade utilizada, para atingir a estabilidade mercadológica. Com esse intuito, os agentes da cadeia produtiva orizícola vêm fomentando a utilização do arroz na indústria cosmética, na elaboração de bebidas, na produção e na geração de energia alternativa e na síntese de novos produtos alimentícios. Ultimamente, profissionais especializados em nutrição animal vêm pesquisando e incentivando o aproveitamento do arroz como componente da fração energética das dietas.

Tradicionalmente, poucos coprodutos da industrialização do arroz eram utilizados como ingredientes na formulação de dietas para a produção de leite ou carne. Isso decorria

especialmente do fato do emprego mais nobre desse grão na alimentação humana. Com o estímulo à ampliação da diversificação do aproveitamento desse produto, ele passou a fazer parte do cenário da produção animal, representando uma alternativa aos cereais tradicionalmente utilizados em dietas de animais de produção. Ademais, novos empregos têm sido dado a essa cultura, como ingrediente da dieta dos animais, na utilização de grãos integrais (com e sem casca) e na confecção de silagem de planta inteira e de grão úmido.

Os processos de brunimento e polimento dos grãos de arroz geram o farelo de arroz integral (FAI), um dos principais coprodutos desse cereal utilizado na nutrição animal. O FAI pode dar origem ao farelo de arroz desengordurado (FAD), que é obtido pela extração do óleo do FAI. Além do farelo, o processo de beneficiamento dos grãos de arroz gera outros resíduos, que podem ser aproveitados, como grãos quebrados, quirera e casca.

De maneira geral, os preços normais de comercialização do grão de arroz inviabilizam a sua utilização nas dietas, em substituição ao milho. No entanto, em algumas situações de alta oferta de produto ou de supervalorização do milho, sua utilização como componente das dietas pode se apresentar com uma alternativa viável, tanto para o produtor orizícola quanto para os pecuaristas, adaptando-se bem aos sistemas de produção que façam uso da integração entre lavoura e pecuária. Conforme se pode observar na Figura 2, em safras de maior produção, o preço de comercialização tende a cair, superando os próprios custos produtivos. Dessa forma, surgem, concomitantemente, a necessidade e a oportunidade de criação de uma nova demanda para o grão. Esse arranjo culmina com a utilização direta do cereal na alimentação animal, o que constituiria vantagem econômica para criadores e rizicultores, por reduzir os prejuízos para estes últimos, ao se retirar do mercado o excesso de produto, principalmente aquele de qualidade inferior.

Farelo de arroz integral e desengordurado na dieta de ruminantes

O farelo de arroz integral (FAI) é um coproduto proveniente das etapas de brunimento e polimento do grão, durante seu beneficiamento para consumo humano. O FAI é constituído pelos tegumentos que envolvem o grão: pericarpo, gérmen e alguns resíduos das cascas (VELLOSO, 1984). Seu rendimento corresponde a cerca de 8% a 10% do peso total dos grãos com casca beneficiados.

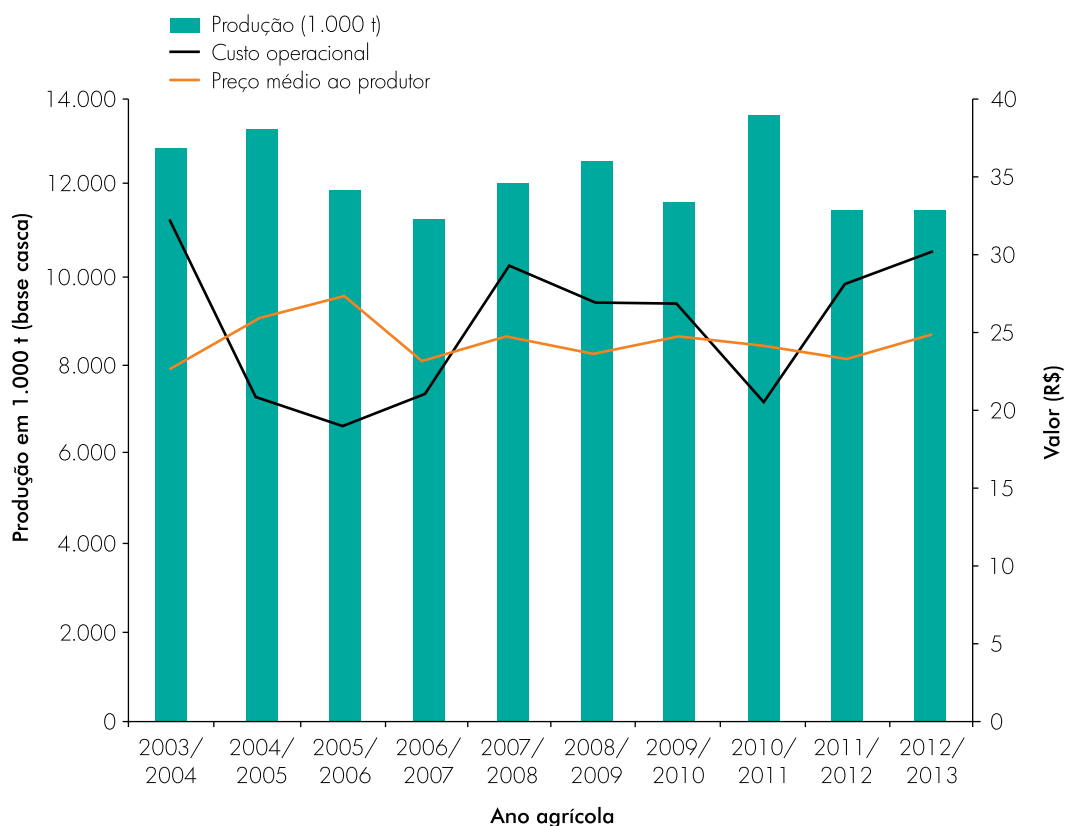


Figura 2. Série histórica da produção (em 1.000 t), custo operacional e do preço médio pago ao produtor gaúcho (por saca de 50 kg) desde a safra 2003/2004.

Fonte: adaptado de Conab (2013).

Segundo Gonçalves (2001), o FAI produzido no Rio Grande do Sul tem em média 13,98% de proteína bruta (PB), 16,17% de extrato etéreo (EE), 26,98% de fibra em detergente neutro (FDN), 13,88% de fibra em detergente ácido (FDA), 1% de lignina em detergente ácido (LDA), de 0,03% a 0,12% de cálcio e 2,10% de fósforo. Landaeta (2009) acrescenta que o total de minerais presentes no produto varia de 6% a 8%. As médias brasileiras, segundo Valadares Filho et al. (2006), são de: 88,71% de MS, 13,95% de PB, 16,14% de EE, 24,11% de FDN, 14,06% de FDA, 5,22% de LDA, 0,12% de cálcio, 1,65% de fósforo e 83,64 de nutrientes digestivos totais (NDT). Esses dados não diferem drasticamente entre si, embora ocorra tendência de o produto apresentar variações em consequência da safra, da região, da variedade da planta e do processo industrial, entre outros fatores. Por ocasião da aquisição desse alimento, o produtor deve estar atento a seus níveis de fibra, já que pode ser adulterado com a inclusão de casca de arroz.

As primeiras pesquisas publicadas sobre a utilização de FAI na alimentação de vacas leiteiras são citadas por Lush e Hale (1927). Os autores demonstraram a possibilidade de utilização de 30% a 35% de FAI de arroz nas dietas, sem prejuízo produtivo e até mesmo com possibilidade de ganhos.

Atualmente, a utilização de FAI nas formulações visa principalmente aproveitar seus altos níveis de extrato etéreo. Por conta dessa característica, esse alimento tem sido pesquisado e utilizado predominantemente em vacas leiteiras em início de lactação, em consequência da elevada exigência energética dessa fase.

Com o objetivo de explorar justamente esse aspecto, Nörnberg (2003) testou diferentes fontes de gordura na dieta de vacas da raça Jersey em fase inicial de lactação. Esse autor comparou uma dieta-controle (formulada com ingredientes convencionais) com outra dieta que empregava uma fonte de gordura protegida comercial, e também com outras duas dietas que utilizavam FAI, sendo uma delas acrescida de sebo bovino e a outra acrescida de óleo de arroz. Houve incremento na produção de leite nas dietas que continham as fontes de gordura testadas. Além disso, os resultados apontaram que, tanto no tratamento-controle quanto nos demais, os animais testados apresentaram balanço energético neutro.

Ainda nesse contexto, Schafhäuser Júnior (2005) testou quatro níveis de extrato etéreo (EE) na dieta de vacas da raça Holandesa de alta produção, em fase inicial de lactação. As dietas continham 3,5% (dieta-controle), 5%, 6,5% e 8% de EE em sua composição. Com exceção da dieta-controle, nas demais foram incluídos FAI e óleo de arroz, para atingirem os níveis de gordura propostos. Os concentrados utilizados nas dietas apresentavam, respectivamente, 0%, 16,5%, 17,8% e 25% de FAI em sua formulação. Os resultados encontrados pelo autor demonstram não ter havido alterações significativas nem na produção de leite, nem no conteúdo total de sólidos do leite. No entanto, houve melhora na eficiência alimentar da dieta, mediante o aumento do seu teor de gordura.

Bermudes e Peixoto (1997) realizaram uma pesquisa para definir o melhor nível de inclusão de FAI na dieta de bezerros desaleitados de forma precoce e no seu pós-desaleitamento. O experimento, realizado com 20 animais da raça Holandesa, testou a inclusão de 0%, 10%, 20%, 30% e 40% de FAI na dieta desses animais. Os autores observaram baixo consumo nos dois maiores níveis de FAI, mencionando a baixa palatabilidade desse alimento como causa. Por conta disso, os animais obtiveram melhor desempenho até o nível de 20% de inclusão. Atualmente, no entanto, os desempenhos demonstrados podem ser atribuídos ao elevado nível de gordura da dieta, o que pode ter excedido as recomendações (de 6% a 7%).

Na bovinocultura de corte, o FAI ganha importância como estratégia de suplementação para animais em pastejo. Nessa circunstância, Arboitte et al. (2006) trabalharam com 52 bezerros de 10 meses, das raças Nelore e Charolês, submetidos a pastejo contínuo ou temporário, de aveia e azevém. Além disso, dois grupos de animais em pastejo temporário receberam suplementação com FAI ou casca de soja. Comparados com os animais em pasto, os suplementados obtiveram vantagem de 0,080 kg e 0,180 kg por dia de ganho médio diário, respectivamente.

Nessa mesma linha, Gonçalves et al. (2007) testaram a suplementação com quatro níveis de FAI em animais pastejando em campo nativo. Os níveis de suplementação testados foram de 0%, 0,5%, 1,0% e 1,5% do peso vivo ao dia. Os animais suplementados apresentaram ganho médio diário cerca de 60% superior aos não tratados, não diferindo significativamente entre os tratamentos. Além disso, o rendimento de carcaça e o peso da carcaça fria não foram, significativamente, diferentes entre os níveis de suplementação.

O uso de FAI e farelo de trigo em nível de 0,5% do peso vivo, com e sem monensina, fornecidos como suplementação, foram pesquisados por Osmari et al. (2008). Esses autores não evidenciaram ganhos produtivos significativamente diferentes entre os tratamentos, comprovando que a escolha pela utilização de um ou de outro vai depender da disponibilidade do produto e principalmente do valor de aquisição. Entretanto, a dieta contendo farelo de trigo proporcionou melhor conformação de carcaça.

Com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão de três níveis (0%, 20% e 30%) de FAI sobre o peso, o rendimento e a gordura de descarte, Pacheco et al. (2009) realizaram experimento com novilhos abatidos aos 22 meses. Os resultados não apontaram prejuízos na utilização de FAI nas variáveis avaliadas.

Luch e Hale (1927) citaram que uma das primeiras pesquisas utilizando FAI na dieta de ovinos foi realizada por Jones (1917). O autor (JONES, 1917 citado por LUCH; HALE, 1927) observou que o consumo dos animais adultos não superou 0,335 kg por dia; além disso, os cordeiros consumiram no máximo 0,250 kg por dia. Na época, o baixo consumo foi atribuído à baixa palatabilidade do FAI.

Mais recentemente, Santos et al. (2010) avaliaram o consumo e a digestibilidade dos nutrientes de dietas contendo diferentes níveis de FAI, em substituição ao milho. Durante 21 dias, 20 ovinos da raça Santa Inês receberam 0%, 7%, 14% e 21% de FAI no concentrado, em substituição ao milho. Não foi observada a influência do FAI na digestibilidade dos alimentos. No entanto, houve redução no consumo de matéria seca, proteína bruta

e nutrientes digestíveis totais. A redução no consumo foi atribuída ao efeito inibidor dos elevados níveis de extrato etéreo do FAI.

Landaeta (2009) tratou FAI com hidróxido de cálcio com o propósito de conferir inércia ruminal ao extrato etéreo contido no arroz. O FAI tratado foi fornecido a borregas, com o intuito de avaliar o consumo e a digestão aparente de nutrientes. Não foi evidenciada redução no consumo, porém, a digestibilidade foi significativamente maior para o FAI tratado.

Em consequência do nível e da composição lipídica do FAI, esse alimento apresenta limitações no que tange à sua conservação. Em condições de temperatura e umidade altas, os triacilgliceróis presentes no FAI sofrem degradação pela lipase, liberando ácidos graxos livres, que promovem a diminuição do pH do alimento, provocando o processo conhecido como “peroxidação” ou “rancificação”, que pode comprometer sua utilização, principalmente reduzindo a aceitabilidade por parte dos animais.

Tratamentos térmicos (geralmente caros), como o aquecimento ôhmico, podem minimizar os danos; no entanto, a extração do óleo por meio da extrusão é o processo mais realizado. O produto resultante da extração do óleo do FAI é o farelo de arroz desengordurado (FAD). Segundo Townsend et al. (1997), o rendimento desse produto é aproximadamente 82% do FAI, e seu teor lipídico não deve exceder 2%. Apesar de ser um produto disponibilizado pela indústria, o FAD é pouco utilizado e pesquisado como ingrediente das dietas de ruminantes, principalmente as de bovinos leiteiros.

A composição bromatológica do FAD, segundo Valadares Filho et al. (2006), é de 89,40% de MS, 17,53% de PB, 2,23% de EE, 25,48% de FDN, 14,27% de FDA, 4,31% de LDA, 10,26 de matéria mineral (MM), 0,10% de cálcio e 1,68% de fósforo. O NDT desse alimento, segundo trabalho citado por Leite (2006), é de aproximadamente 65%.

Em gado de corte, o FAD tem sido empregado como suplemento de dietas de animais que consomem forragens de baixa qualidade, conforme testado por Leite (2006). O autor forneceu concentrado contendo, na formulação, o equivalente a 0%, 0,4% e 0,75% do peso vivo ao dia (pv por dia) de FAD, para animais que pastejam sorgo de baixa qualidade. O desempenho produtivo medido em ganho médio diário se mostrou melhor quando foi utilizado um nível de suplementação de 0,4% do peso vivo ao dia de FAD. A suplementação com o nível de 0,75% acarretou o aparecimento de problemas clínicos nos animais. O mesmo autor testou a substituição da suplementação de FAD por farelo de glúten de milho. Os alimentos não proporcionaram diferença de rendimento aos animais.

Seguindo a mesma tendência, Gadberry et al. (2003) estudaram a suplementação com feno e três níveis de FAD (0,5%, 0,7% e 0,9% do peso vivo ao dia) na dieta de vacas de corte prenhas, em pastejo. Foram avaliados peso, escore corporal e taxa de prenhez das vacas, bem como peso dos bezerros ao nascimento e ao término do experimento. Não houve diferença entre os tratamentos, indicando que, nos níveis testados, o FAD não causa prejuízos produtivos aos animais.

O efeito da inclusão de FAD na dieta de vacas lactantes foi estudado por Chaudhary et al. (2001). Dois tipos de concentrado foram fornecidos, diferindo na fração energética, representada, no primeiro, por 55% de FAD e 30% de milho triturado e, no segundo, por 78% de FAD e 10% de melaço. Os resultados obtidos não demonstraram alteração no consumo ou na composição do leite; no entanto, indicaram ganho de peso dos animais de ambos os tratamentos. Os autores classificaram os dados de ganho de peso como positivos por se tratarem de animais em início de lactação. Interessantes aspectos da digestibilidade do FAD e do FAI foram observados por Foster Junior et al. (1994). Os autores observaram maior e mais rápida digestão ruminal para o FAI; entretanto, esse alimento prejudicou a digestibilidade do FDN da dieta. A menor digestibilidade do FDN da dieta foi atribuída ao maior teor de gordura do FAI. Os diferentes farelos de arroz não afetaram a digestibilidade do nitrogênio dietético.

Com o objetivo de estudar o efeito do fornecimento de feno de baixa qualidade e do FAD sobre a digestibilidade, o consumo e o balanço de nitrogênio, Ospina et al. (1995-1996) suplementaram a dieta de ovinos com níveis de 0%, 10%, 20% e 30% (em relação ao feno) de FAD peletizado. O consumo de matéria seca não apresentou diferença; no entanto, a digestibilidade da proteína foi menor na suplementação com 30% de FAD. Os autores atribuíram o resultado às características físico-químicas do FAD peletizado. Em razão do maior aporte proteico para o intestino, a excreção fecal de N tendeu a elevar-se, ao passo que a excreção urinária tendeu a diminuir, sem, no entanto, apresentarem diferenças estatisticamente significativas.

Em relação à composição mineral, percebe-se, tanto do FAI quanto do FAD, que ambos apresentam teores de fósforo substancialmente maiores do que de cálcio, devendo essa relação ser adaptada por ocasião do fornecimento.

Outros coprodutos do arroz na dieta de ruminantes

Durante o processo produtivo agrícola e agroindustrial do arroz, diversos coprodutos e resíduos são gerados, além do FAI e do FAD. Ainda podem ser considerados nessa

categoria os resíduos da limpeza dos grãos de arroz (RLA), a casca do arroz, a quirera, os grãos quebrados, o rebrote da resteva e a palha de arroz.

O resíduo que mais se destaca em termos de volume produzido é a palha de arroz, que consiste nos restos da cultura que permanecem na lavoura após a colheita. Em relação à resteva, segundo Monks et al. (2002), o rendimento pode atingir valores de 2.100 kg a 3.800 kg de MS por hectare.

Por consistir predominantemente de células da parede vegetal de plantas maduras, a palha de arroz apresenta teor de FDN de mais de 75% e FDA acima de 45%. Esses índices derivam de 30% a 36% de celulose, 29% a 33% de hemicelulose, 5% a 12% de lignina e 5% a 12% de sílica, que compõem a matéria seca desse material (MONKS et al., 2002; SARNKLONG et al., 2010). Os elevados teores das frações fibrosas, aliados às baixas concentrações de PB (6% a 8%), colaboram para uma digestibilidade *in situ* de apenas 29% a 38% (MONKS et al., 2002).

Já em 1980, Prates e Lebouté (1980 citados por TOWNSEND et al., 1997) demonstraram que as palhas não são capazes de suprir as exigências nutricionais de manutenção dos ruminantes de produção. Em geral, a ingestão máxima diária desse alimento limita-se a 1% a 2% (matéria natural) do peso vivo. No entanto, esse material pode ser passível de utilização estratégica ou ser melhorado por meio da inclusão de outros elementos (SARNKLONG et al., 2010).

No Rio Grande do Sul, a utilização da resteva e da rebrota do arroz após a colheita dos grãos tem grande importância para o forrageamento dos animais, já que o período dessa oferta coincide com a deficiência de forragem do campo nativo em algumas regiões, ficando menos onerosa do que com a implantação de pastagens (MONKS et al., 2002).

O valor nutricional da palha de arroz pode ser melhorado com o emprego de métodos físicos, químicos e biológicos, que têm sido foco de trabalhos de pesquisa (HANAFI et al., 2012). Em geral, cabe ao produtor decidir se economicamente vale a pena utilizá-los, considerando que eles implicam a colheita e o preparo da palha.

Em virtude das suas características e/ou das restrições nutricionais próprias da palha de arroz, ela não deve ser utilizada para vacas em lactação que tenham produção média a alta. Assim, fica restrito a categorias menos exigentes e, ademais, não pode ser a única fonte de alimento.

Os métodos químicos de tratamento são geralmente mais eficientes e praticáveis dentro da propriedade. Entre esses métodos, os mais comumente utilizados são os agentes alcalinos, que podem ser: hidróxido de sódio (NaOH), amônia (NH₃) e ureia (CH₄N₂O)

(HANAFI et al., 2012). Resumidamente, os agentes alcalinos são absorvidos pela parede celular e quimicamente quebram as ligações ésteres entre lignina, hemicelulose e celulose, o que fisicamente faz a fibra estrutural dilatar, expondo-a à ação da microbiota ruminal (LAM et al., 2001).

O tratamento com ureia pode ser feito nas propriedades por meio da pulverização de ureia comercial diluída em água sobre a palha, efetuando-se, em seguida, a homogeneização do material. Os níveis de 4% a 6% de ureia são os mais indicados para o tratamento. A colocação de ureia promove diminuição nos teores de FDN e FDA, maior digestibilidade e incremento dos teores de nitrogênio. No entanto, para que se obtenha boa eficiência nesse tratamento, recomenda-se que o material permaneça ensilado por aproximadamente 4 semanas. A moagem ou maceração (métodos físicos) da palha melhoram os resultados do tratamento e sua qualidade nutricional (FADEL et al., 2003; GHEBREHIWET et al., 1988; JAYASURIYA; PERERA, 1982).

De maneira geral, os processos físicos são aliados aos processos químicos de tratamento da palha, agregando valor nutricional a esse alimento. O processo físico mais comum é a moagem, uma vez que não demanda equipamentos complexos ou de alto custo. No entanto, outros processos, mais onerosos, como a maceração, a peletização, a irradiação e a vaporização, podem ser realizados. Segundo Plascencia et al. (2007), a maceração é mais eficiente do que a moagem, melhorando significativamente os níveis de fibra e digestibilidade da palha. Quanto à peletização, é provável que o tamanho das partículas peletizadas possam interferir nos resultados (WHITE et al., 1971).

A utilização de fungos e enzimas com a finalidade de degradação da palha de arroz apresenta resultados positivos, porém a técnica ainda não está bem desenvolvida, e sua aplicação é onerosa, o que limita seu emprego, principalmente nos países em desenvolvimento (SARNKLONG et al., 2010). Além disso, a utilização de enzimas tem apresentado resultados controversos, em razão do uso de enzimas isoladas ou do método de fornecimento (MARTINS et al., 2008).

A casca de arroz – outro dos subprodutos do beneficiamento dos grãos para o consumo humano – representa cerca de 20% do peso total (MS) do grão inteiro. Seu formato e seus elevados níveis de sílica (22% da MS) e lignina (11% da MS) (HUTANUWATR et al., 1974) impõem limitação ao seu uso na alimentação de ruminantes, em especial bovinos leiteiros com elevada demanda nutricional. Níveis máximos de 30% a 40% de casca picada podem ser fornecidos na dieta (RUSSOF et al., 1956 citado por TILLMAN et al., 1969; TOWNSEND et al., 1997). A extrapolação dessas recomendações pode ocasionar inchaço, descamação e

ulceração das mucosas do trato gastrointestinal, diarreia muco-sanguinolenta e compactação estomacal (GADBERRY et al., 2007).

A utilização da casca de arroz se restringe à diluição de formulações de elevada energia, como as dietas de alto grão, ou o seu fornecimento, mediante tratamento químico, físico e/ou microbiológico. Confirmando essa teoria, a casca de arroz tratada e a não tratada foram utilizadas com sucesso até o nível de 9%, em substituição ao sorgo, na dieta de alto grão de bovinos confinados por Tillman et al. (1969). Embora os autores tenham alegado viabilidade econômica, comumente os tratamentos não são justificáveis economicamente, e esse material tem sido utilizado predominantemente como combustível industrial ou cama de aviário (TOWNSEND et al., 1997).

O arroz quebrado é o produto que é separado depois da fase de polimento do arroz. Sua composição é semelhante à do arroz polido. Teoricamente, definem-se três classes de arroz quebrado: grande, médio e quirera; porém, na prática, essa distinção pouco acontece. Raramente há sobras de arroz quebrado da indústria a serem destinadas a animais ruminantes. Geralmente, essa matéria-prima é acrescentada ao arroz polido e vendida como arroz de baixa qualidade. Além disso, esse arroz é utilizado pela indústria cervejeira, pela indústria alimentícia humana na formulação de produtos para bebês (em razão da alta digestibilidade), na fabricação de rações para cães e gatos e, por fim, em atividades avícolas e suinícolas.

A baixa disponibilidade da quirera de arroz se reflete nos preços praticados e nas pesquisas sobre o tema. No entanto, seu uso justifica-se pelo conteúdo de amido, que pode ser superior a 85% (LIMBERGER et al., 2008). A presença desse componente torna-o mais rapidamente digerível e com digestibilidade total maior do que a do farelo de arroz integral, do desengordurado e do arroz polido, sendo bastante semelhante à do milho nessas características (CHUMPAWADEE et al., 2007). Analogamente, a taxa de degradação da fração potencialmente solúvel da quirera de arroz foi maior do que a do farelo de arroz e da torta de dendê em experimento realizado por Souza Filho et al. (2005); no entanto, a degradabilidade efetiva foi maior no farelo de arroz.

Os níveis de carboidratos não estruturais presentes na quirera se refletiram em maior ganho de peso de cordeiros quando comparados a pó de malte e foram equivalentes aos proporcionados por casca de soja. Além disso, os rendimentos de carcaça fria e quente não foram influenciados pelos diferentes alimentos (CARVALHO et al., 2012). Maior ganho de peso (139 g por dia) também foi observado em novilhos alimentados por quirera, quando comparados a um grupo alimentado com palha de trigo (PERDOK; LENG, 1985).

Outros resíduos da pré-limpeza do arroz (RLA) apresentam baixa disponibilidade e poucos relatos bibliográficos. Sua composição bromatológica é varia muito em consequência de sua inconstante composição física, característica que, aliada a sua elevada proporção de água, também limita sua utilização. Apesar da demasiada variabilidade, predominam na sua constituição sementes de plantas invasoras, grãos quebrados, cascas, grãos falhados, pedaços de palha seca ou verde e outras partículas não identificadas (TOWNSEND et al., 1997).

Em animais lactantes da raça Holandesa, o RLA provou ser capaz de manter a produtividade leiteira acima de 20 kg por vaca por dia, tendo sido incluído em mais de 35% da matéria seca da dieta, fornecido moído ou inteiro (FERNANDES et al., 2012). A presença de casca de arroz no RLA eleva seu conteúdo de FDN (55%), o que pode explicar os resultados encontrados por Brazle e Coffey (1990), que observaram pior conversão e menor eficiência para animais alimentados com RLA em comparação ao sorgo em grão.

Para amenizar o problema de conservação decorrente da alta umidade do RLA, Fischer et al. (1995) propuseram o tratamento e a ensilagem desse material com ureia, em níveis de 4% a 6%. A realização desse processo comprovou ser eficaz em diminuir a multiplicação fúngica do material e também melhorar suas características nutricionais.

Arroz integral na dieta de ruminantes

Os recentes acontecimentos mercadológicos envolvendo a cadeia orizícola brasileira geraram um novo desafio: encontrar novas alternativas de utilização para esse cereal. Concomitantemente a essa demanda, criou-se, no setor pecuário, uma oportunidade de utilização de produtos mais nobres oriundos dessa planta.

Essa disposição criou novo potencial para o arroz integral, que se tornou um alimento de interesse para uso em ruminantes, especialmente em regiões onde a produção de milho é limitada pelas condições edafoclimáticas ou o grão chegue com elevado preço. O potencial do grão de arroz como alimento pecuário ainda não é bem conhecido, mas cogita-se que níveis de desempenho animal semelhantes aos alcançados com o uso do milho possam ser atingidos.

O arroz integral é o grão descascado que não passa por processos de brunimento e polimento. Seu rendimento é cerca de 80% do peso do grão com casca. A composição bromatológica do arroz integral pode ser verificada na Tabela 1.

Tabela 1. Valor bromatológico do milho e do arroz integral.

Composição química (%)	Milho	Arroz integral
Matéria seca	88,93	87,70 a 87,90
Proteína bruta	8,99	8,3 a 9,6
Extrato etéreo (EE)	4,51	2,1 a 3,3
Fibra em detergente neutro (FDN)	11,16	6,29
Fibra em detergente ácido (FDA)	3,37	1,95
Lignina em detergente ácido (LDA)	1,59	1,15
Amido	61 a 65,75	77,2
Matéria mineral (MM)	1 a 1,5	1,2 a 1,8
Fósforo	0,34	0,29
Cálcio	0,03	0,05

Fonte: Asyifah et al. (2012), Passini et al. (2004), Pomeranz e Ory (1982), Valadares Filho et al. (2006) e Zambom et al. (2001).

Como pode ser observado, o arroz integral possui maior concentração de amido, característica que o tornaria mais digestível do que o milho. No entanto, a digestibilidade do amido de ambos é semelhante, fazendo com que possíveis diferenças na digestibilidade desses alimentos sejam impostas por suas demais frações (CHUMPAWADEE et al., 2007). Pode-se, então, esperar uma influência positiva dos teores de FDN e FDA do arroz, pois, em média, são menores do que os apresentados pelo milho.

Um dos aspectos intrínsecos do amido e que influencia a sua digestibilidade é sua relação amilose/amilopectina. Em média, no arroz, os teores de amilose correspondem a 20% a 24% do amido total, enquanto, no milho, esses níveis variam de 14% a 34%, reforçando mais uma vez o equilíbrio nutricional entre esses grãos (JOBIM et al., 2003; WALTER et al., 2008).

Embora os níveis de extrato etéreo do milho sejam maiores, as características lipídicas tanto do milho quanto do arroz são semelhantes. Os ácidos graxos de maior abundância no grão de arroz são o ácido palmítico (16:0), oleico (18:1) e linoleico (18:2), correspondendo, respectivamente, a 19,86%, 41,02% e 34,74%, e perfazendo cerca de 95% dos ácidos graxos presentes nos lipídeos totais desse grão (MANO et al., 1999). No milho, esses mesmos ácidos graxos também perfazem cerca de 95% dos ácidos graxos dos lipídeos totais. No entanto, ocorre maior predominância do ácido linoleico, que participa de aproximadamente 56% dos ácidos graxos. O ácido palmítico tem ocorrência de 12%, enquanto a do ácido oleico é de 29% (NOVELLO, 2005). Ambos os grãos possuem proporção significativa de ácidos

graxos insaturados, que possuem papel importante em vários processos fisiológicos, principalmente por meio do ácido linoleico conjugado (CLA), gerado no rúmen, via processo de bio-hidrogenação dos ácidos graxos insaturados.

Tanto no quesito quantidade quanto no quesito composição proteica, ambos os cereais também se equilibram. O aminoácido que prevalece nesses grãos é o ácido glutâmico, correspondendo a aproximadamente 20% dos aminoácidos totais do arroz e a 17,5% dos aminoácidos totais do milho. A composição de aminoácidos essenciais para bovinos encontrada nesses cereais pode ser observada na Tabela 2.

Tabela 2. Percentual de aminoácidos essenciais presentes na proteína do arroz integral e do milho.

Aminoácido	Total de aminoácidos (%)	
	Milho	Arroz integral
Lisina	4,19	3,21
Metionina	3,27	2,21
Treonina	3,53	3,91
Triptofano	4,76	4,86
Isoleucina	4,16	3,67
Leucina	8,07	13,39
Histidina	3,62	3,65
Fenilalanina	5,33	6,10
Valina	6,13	4,44

Fonte: adaptado de Piao et al. (2002).

Embora a suplementação de aminoácidos essenciais seja obviamente indispensável, o grau de degradabilidade e solubilidade da proteína no ambiente ruminal são determinantes para sua atuação biológica. No entanto, ensaios sobre o valor biológico da proteína do arroz na alimentação de ruminantes ainda não foram publicados. Não existem bibliografias que indiquem a quantidade de energia fornecida pelo arroz integral descascado em dietas para ruminantes. Acredita-se, porém, que a energia seja muito semelhante àquela fornecida pelo milho, já que a composição bromatológica dos dois alimentos é bastante semelhante. O teor total de fibra bruta do milho tende a ser levemente mais elevado do que o apresentado pelo arroz, e seu teor de amido é menor. Entretanto, esses contrapontos são, possivelmente, compensados pelo seu teor lipídico, que é consistentemente maior.

A observação dos componentes bromatológicos dos dois grãos denota a possibilidade de utilização do arroz integral, com rendimentos teoricamente semelhantes aos do milho, para a produtividade animal. Dados preliminares da Embrapa confirmam a possibilidade de utilização do arroz integral em substituição de até 100% do milho como fonte energética na dieta de vacas da raça Jersey em lactação. Essa referência ainda demonstra que a substituição é capaz de manter produções leiteiras médias superiores a 20 kg por vaca por dia. Além disso, o teor de sólidos totais do leite não foi numericamente afetado por essa alternativa alimentar.

Silagem de arroz na dieta de ruminantes

A produção de silagem de planta inteira de arroz (SPIA) é outra novidade que surge para aproveitar o potencial produtivo dessa cultura e atender, tecnicamente, a maiores demandas alimentares da pecuária, decorrentes especialmente da intensificação das atividades ligadas à produção de leite, carne e fibras de origem animal. A utilização de silagem de arroz pode contemplar algumas regiões particulares, como o sul do Estado do Rio Grande do Sul, onde tanto a atividade orizícola quanto a atividade pecuária são atividades tradicionais. Essa alternativa alimentar também pode ser interessante em locais sem zoneamento agroclimático para a produção de milho, o que, na prática, significa que não existem recomendações técnicas, variedades, cultivares ou mesmo segurança financeira para o cultivo desse cereal nas referidas regiões.

No Japão, o cultivo do arroz com finalidade forrageira tem crescido em importância, especialmente em zonas de produção pecuária. Segundo Nakano et al. (2010), a utilização do arroz como planta forrageira, em sistema de duplo cultivo ou não, se apresenta como uma alternativa competitiva em termos de produção de matéria seca e nutrientes digestíveis totais (NDT).

O sistema de cultivo duplo ou de dupla colheita otimiza a utilização da mesma área, pois, em um primeiro momento, o arroz é colhido preferencialmente para forragem, mas permite também uma segunda colheita, que pode ser para a produção de grãos ou forragem. Nakano et al. (2010) demonstraram a potencial utilização da forragem de planta inteira de arroz e investigaram a interferência do sistema de duplo cultivo e da altura de corte com a disponibilidade de NDT da forragem produzida. Entre as três alturas testadas (0, 5 cm e 15 cm do solo), a mais elevada mostrou ser a menos vantajosa em termos de produção total de NDT para as duas colheitas. Quando a produção de NDT foi avaliada individualmente por cultivo, os resultados demonstraram maior produção de NDT nos cortes

mais baixos do primeiro cultivo, enquanto, no segundo cultivo, a maior altura de corte beneficiou a produção total de NDT. Esses resultados decorrem do envelhecimento da planta, que promove a diminuição do conteúdo celular solúvel e maior deposição de componentes estruturais da parede celular, levando a uma menor concentração de nutrientes. Além disso, ocorre translocação dos nutrientes do colmo para a panícula. Os autores concluem recomendando que o primeiro corte seja mais baixo e que o segundo seja mais elevado.

Com base no exposto por Nakano et al. (2010), pode-se considerar também a utilização de duplo cultivo de arroz para a produção de silagem. A eficiência da silagem de arroz foi testada por Ki et al. (2009), por meio da substituição da silagem de milho pela de arroz, na dieta de vacas da raça Holandesa em lactação.

Esses autores colheram o arroz maduro 30 dias após o florescimento (de acordo com dados de produção e qualidade da forragem de testes prévios dos próprios autores) e deixaram as plantas passar por um período de murcha de 24 horas. O arroz emurchecido foi ensilado anaerobicamente por um período de 6 meses. Após a abertura do silo, a silagem foi fracionada em pedaços de 2 cm a 3 cm. A silagem de arroz foi fornecida em uma dieta de ração total e comparada com silagem de milho produzida de forma tradicional. A produção de leite (corrigida para 4% de gordura) não diferiu entre as dietas testadas. A composição de sólidos totais do leite também não foi afetada pela substituição da silagem de milho pela silagem de arroz. No entanto, o nitrogênio ureico do leite apresentou níveis mais elevados no leite dos animais alimentados com silagem de arroz. Os autores atribuíram esse resultado ao fato de que a silagem de arroz teria contribuído com uma maior fração de proteína total da dieta. Além disso, a silagem de arroz apresentou maior nível de MS ($34,80 \pm 2,42$) do que a silagem de milho ($28,7 \pm 3,14$). Os teores de cinzas e extrato etéreo também foram mais elevados na silagem de arroz. Os resultados obtidos pelos autores foram extremamente positivos, indicando plena possibilidade de substituição total da silagem de milho pela de arroz, sem que ocorra prejuízo produtivo.

A composição química da silagem de arroz pode ser observada na Tabela 3. Complementando os dados expostos até aqui, Islam et al. (2004) realizaram ensaios de digestibilidade utilizando silagem de uma variedade de arroz de produção de forragem e observaram baixa energia metabolizável e elevada perda de energia bruta. Os resultados encontrados derivam da baixa proporção de panículas no material ensilado, uma vez que a variedade utilizada possui alta proporção de caules e folhas. Ademais, o elevado tempo de murcha praticado no experimento (48 horas) pode ter ocasionado a perda de panículas. A degradabilidade *in situ* da MS das diferentes frações da planta também foram testadas e corroboram com os resultados anteriores, uma vez que a degradabilidade da folha foi

Tabela 3. Valor nutricional da silagem de planta inteira de arroz e da silagem de planta inteira de milho.

Parâmetros (% de MS)	Silagem de arroz	Silagem de milho
Matéria seca ⁽¹⁾	28,7 a 48,12	34,38
Proteína bruta	6,23 a 8,02	7,35
Extrato etéreo	1,64 a 2,64	1,98
Matéria mineral (MM)	8,48 a 10,05	5,98
Fibra em detergente neutro	67,60	65,77
Fibra em detergente ácido	39,27	38,94
Cálcio	0,22	0,14
Fósforo	0,30	0,26
pH	4,49	3,98
Ácido láctico	2,92	3,26
Nutrientes digestivos totais	56,38	62,50 a 69,12
Energia metabolizável (Mcal kg ⁻¹ de MS)	1,9 ⁽²⁾	2,22 ⁽³⁾

⁽¹⁾Os dados de matéria seca são com base na matéria natural.

⁽²⁾Em novilhos da raça Holandesa de 18 meses de idade.

⁽³⁾Estimada utilizando modelo matemático com base na digestibilidade in vitro da matéria orgânica (DIVMO).

Fonte: Islam et al. (2004), Ki et al. (2009) e Rosa et al. (2004).

menor que a da panícula em razão de seus componentes minerais e de sílica. Diante dos efeitos observados, os autores recomendam a confecção de silagem de arroz a partir de variedades de maior produção de grãos.

O efeito de diferentes estágios de colheita, tempos de murcha e tamanho de partícula e sua influência sobre a qualidade da SPIA armazenada por 10 meses foram testados por Kawamoto et al. (2007). Os autores realizaram a colheita das plantas de arroz em dois estágios (grão pastoso e grão maduro), sendo o primeiro 30 dias e o segundo 37 dias após o florescimento. As plantas colhidas com grão pastoso foram submetidas a dois tempos de murcha (12 horas e 48 horas) para a obtenção de 45% e 65% de MS, respectivamente. As plantas colhidas com grãos maduros foram submetidas apenas ao tempo de 12 horas de murcha. Tanto as plantas colhidas com grãos pastosos (com 12 horas e 48 horas de murcha) quanto as colhidas com grãos maduros foram ensiladas picadas em partículas de 1,3 cm ou ensiladas em tamanho natural. De acordo com um modelo matemático que considera diversos parâmetros da silagem, os autores classificaram todos os materiais ensilados como “bons”. Além disso, as silagens picadas apresentaram maior densidade, menor pH, maior proporção de ácido láctico e menor fermentação etílica. A formação de ácidos graxos

voláteis e nitrogênio amoniacal foi baixa em todas as silagens. Os autores também avaliaram a digestibilidade dos materiais; porém, nenhum dado circunstancial foi constatado. Na prática, portanto, pode-se recomendar a moagem do material a ser ensilado, que pode ser colhido em qualquer um dos estágios testados.

Seguindo a mesma tendência, Maruyama et al. (2005) também experimentaram estabelecer os melhores estágios de corte da planta de arroz para a confecção de silagem. Os autores testaram seis fases de evolução da planta: emergência da espiga, grão leitoso, grão pastoso, grão maduro (prófase), grão maduro e totalmente maduro. O conteúdo de MS aumentou gradualmente, de 24,7% para 45,2%, com a evolução dos estágios de maturação, enquanto o teor de fibra bruta foi diminuindo de forma gradativa, de 32,6% até 21,4%, para os estágios de grão totalmente maduro e emergência da espiga, respectivamente. Os valores de PB, EE, MM e carboidratos solúveis foram quase constantes ao longo da maturação. Em relação ao pH, os níveis se elevaram à medida que as plantas foram sendo ensiladas em estágios mais avançados de maturação. Os próprios autores esperavam esse comportamento, já que é admitido que a quantidade de umidade presente na forragem exerça influência sobre a taxa de fermentação e, por conseguinte, o valor de pH e a concentração de ácido láctico sejam afetados. As concentrações de ácidos acético e butírico foram notadamente maiores na silagem realizada no estágio de emergência da espiga. Maiores concentrações de ácido butírico podem indicar degradação proteica; no entanto, ocorreram também maiores teores proteicos na silagem dessa fase, o que pode ter colaborado para esse quadro. Além disso, a presença de elevadas concentrações de ácido acético também pode prejudicar a qualidade final e fermentativa do material.

Utilizando uma cultivar brasileira de arroz (BRS Querência), Lourenço et al. (2012) recomendaram, como melhor momento de colheita das plantas, o estágio no qual o grão esteja passando de leitoso a farináceo. Nesse estágio, espera-se grande acúmulo de energia no grão, na forma de amido, e estando a parte aérea da planta ainda verde, mantendo, assim, um maior valor nutritivo e digestibilidade. Esses autores ainda estimaram a produção de biomassa da forragem de arroz em mais de 30 t ha⁻¹.

Avaliando a influência de vários estágios de maturação sobre a SPIA, Maruyama et al. (2005) testaram dois inoculantes, um fúngico, com atuação celulolítica, e um bacteriano, produtor de ácido láctico, bem como a combinação de ambos e sua influência sobre o pH e a palatabilidade da silagem de arroz. A adição de bactéria produtora de ácido láctico melhorou significativamente o pH da silagem em comparação com a utilização isolada ou combinada do inoculante fúngico, ou mesmo da silagem sem inoculante. A preferência dos animais pelos distintos materiais não foi significativa.

Buscando melhores fermentação e conservação da silagem de arroz, principalmente menor crescimento fúngico e menor perda via produção de etanol e 2,3 butanodiol, Nishino et al. (2007) realizaram a inoculação de *Lactobacillus buchneri* na silagem. A inoculação ocorreu em concentrações de 10^4 UFC g^{-1} , 10^5 UFC g^{-1} e 10^6 UFC g^{-1} . Houve redução linear nas concentrações de etanol, 2,3 butanodiol e ácido butírico, em relação aos níveis de inoculação. Em contrapartida, ocorreram elevações na produção de ácido láctico e acético. Apesar da melhora nesses componentes, o etanol ainda teve produção elevada. De forma geral, a utilização de *Lactobacillus buchneri* se mostra uma opção interessante para melhorar a fermentação da SPIA.

O tempo de ensilagem com inoculante (10^5 UFC g^{-1}) também foi pesquisado por Nishino et al. (2007). Os períodos de armazenamento da silagem analisados foram de 1, 3, 6 e 12 meses. Na silagem sem inoculante, a produção de etanol foi elevada até o 6º mês de armazenamento; porém, reduziu-se a quase metade no 12º mês. Na silagem tratada, ocorreu rápida queda do pH e elevação na composição de ácido láctico; porém, com o passar dos meses, a silagem tratada e a não tratada convergiram para valores próximos desses elementos. Esse fenômeno ocorre em razão do maior tempo que a silagem não tratada leva para atingir sua completa fermentação e estabilização. As produções de etanol e 2,3 butanodiol foram significativamente inibidas com o uso de *L. buchneri*. No entanto, o etanol apresentou pequena elevação no período mais longo de estocagem.

A produção de 2,3 butanodiol pela silagem de arroz é algo que a diferencia dos demais materiais ensilados. Com o intuito de conhecer melhor essa dinâmica de fermentação, Nishino e Shinde (2007) avaliaram 41 amostras de silagem provenientes de diversas fazendas. A produção média de 2,3 butanodiol nas silagens analisadas foi de $1,05 \pm 0,82$ g kg^{-1} . A produção máxima obtida em uma amostra chegou a $4,0$ g kg^{-1} . Relações inversas entre pH e etanol, e entre pH e 2,3 butanodiol, foram observadas, confirmando que dois produtos neutros evitam a acidificação. Os resultados encontrados pelos autores e demais bibliografias sugerem que o 2,3 butanodiol não afeta a utilização e o valor nutritivo da silagem. Entretanto, muito dióxido de carbono é perdido durante a fermentação de butanodiol, e a menor acidificação pode predispor o material à deterioração por microrganismos indesejáveis.

Cao et al. (2010) produziram silagem de ração total com a participação de forragem de arroz colhida no ponto de grão maduro, com o objetivo de estudar os efeitos da inclusão de melaço e bactérias produtoras de ácido láctico sobre a qualidade da silagem, a fermentação ruminal e a emissão de metano. As rações totais diferiram na adição de melaço, na de bactéria produtora de ácido láctico e na combinação de ambas, e também numa dieta total comum, que serviu como controle. As silagens permaneceram armazenadas por 60 dias. Não houve

qualquer diferença na qualidade dos materiais ensilados ou nas suas composições bromatológicas. Houve, no entanto, tendência de diminuição da produção de metano na silagem inoculada com bactérias e na produção de ácido butírico, que foi maior na ração de controle.

A comparação do impacto ambiental de sistemas utilizando SPIA e silagem de milho foi realizada por Ogino et al. (2008). Os autores tomaram como modelo propriedades japonesas e levaram em consideração inúmeros insumos, produtos e resíduos em sua análise. Os pesquisadores observaram que, apesar de o sistema que fornece SPIA aos animais apresentar certas desvantagens, o impacto ambiental global é menor.

A crescente importância da utilização da SPIA tem criado uma demanda por materiais genéticos vegetais capazes de proporcionar melhor qualidade produtiva e nutricional, a fim de tornar mais eficiente o processo produtivo, uma vez que atualmente são utilizadas plantas com a finalidade de produção de grãos. Sakai et al. (2003) demonstraram características de três novas variedades de arroz selecionadas com essa finalidade. Os autores apontaram a superioridade das variedades em diversos aspectos, quando comparadas com variedades com finalidade de produção de grãos para alimentação humana. O NDT médio apresentado pelas variedades foi de aproximadamente 60% (MS) quando colhidos no ponto de grãos maduros. Com o desenvolvimento de novas variedades e o crescimento da utilização, o potencial produtivo forrageiro do arroz deve alcançar níveis significativos.

A silagem de grão úmido de arroz também surgiu recentemente como alternativa alimentar para a pecuária, e sua utilização já denota interesse na área da pesquisa. Culau et al. (2011), seguindo essa tendência, analisaram a composição química e o valor nutritivo desse alimento. Os autores observaram teor de MS de 61,3%, e a PB determinada foi de 11,35%. As frações de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido foram 39,17% e 25,33%, respectivamente. Além disso, o teor de lignina (LDA) foi de 6,79%. O pH do alimento armazenado atingiu valor de 4,17 que, segundo os autores, é adequado e não acarreta perdas no processo. Por ocasião da confecção da silagem, os grãos foram ensilados com casca, o que explica os elevados valores de fibra e lignina. De acordo com os dados expressos pelos autores, não existem grandes empecilhos na utilização desse produto nas dietas, ficando a decisão por conta do momento econômico. Para uma fermentação adequada, é importante o condicionamento dos grãos, de modo que haja exposição do amido, para acelerar a fermentação.

Maruyama et al. (2005) buscaram comparar diferentes estágios de maturação de grão para ensilagem e medir sua influência na aceitabilidade e na qualidade nutricional e fermentativa da silagem. Seis estágios de maturação da planta foram testados, sendo o primeiro na emergência de espiga e o último com o grão totalmente maduro. Conforme o

esperado, o teor de MS se elevou na silagem dos grãos das plantas mais velhas. A composição de fibra bruta dos grãos diminuiu no sentido da planta mais nova para a mais velha. Os resultados de qualidade da ensilagem foram bastante variáveis. Entretanto, os dados mais importantes foram os valores de pH, que tenderam à elevação nos grãos ensilados mais maduros. Comportamento inverso ocorreu com os valores de ácido acético e butírico. A palatabilidade do enriquecimento da silagem de grão úmido com outros produtos também foi testada, porém não apresentou resultados significativos.

Considerações finais

O setor pecuário, em constante atualização, segue as tendências mercadológicas globais, enfrentando desafios, criando demandas e atendendo a elas, evoluindo, adaptando-se e sempre buscando eficiência. O alcance da eficiência produtiva passa por uma série de etapas, entre as quais está o aproveitamento de oportunidades de mercado. A utilização de novos insumos na alimentação animal representa bem esse tipo de situação por ser um segmento extremamente dinâmico. A utilização de resíduos, coprodutos ou mesmo do próprio arroz é um exemplo bastante claro de adaptação e aproveitamento de nicho de mercado.

Embora alguns coprodutos, como os farelos de arroz integral e desengordurado, possuam um histórico de uso relativamente longo, seus potenciais ainda são subutilizados e pouco conhecidos. Essa situação abre precedentes para a intensificação das formas do emprego dessas matérias-primas.

Da mesma forma que os farelos, outros alimentos em potencial, como a quirera, a palha e os resíduos de pré-limpeza, ainda são pouco utilizados e valorizados no âmbito alimentar pecuário. De fato, a maneira de utilização desses produtos deve ser feita de forma muito particular, levando-se em consideração a disponibilidade, a proximidade da indústria, a qualidade do produto, a época do ano, o custo, o tipo e a categoria de animal a ser suplementado, entre outros fatores.

Quando se mencionam o arroz integral e as silagens (grão ou planta), o ambiente se transforma, pois essa área, especialmente, tem inestimável potencial de crescimento, se os fatores culturais diminuïrem a resistência ao seu uso. Atualmente, tais alternativas são utilizadas em circunstâncias bastante específicas; todavia, com o desenvolvimento tecnológico e o crescimento do interesse da pesquisa nessa área, é natural que ocorra notável modificação nesse cenário.

Referências

- ARBOITTE, M. Z.; RESTLE, J.; BRONDANI, I. L.; MENEZES, L. F. G. de; MISSIO, R. L.; SEGABINAZI, L. R. Pastejo contínuo ou temporário e suplementação energética em pastagem cultivada de inverno no desempenho de bezerras. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 28, n. 4, p. 453-459, 2006.
- ASYIFAH, M. N.; ABD-AZIZ, S.; PHANG, L. Y.; AZLIAN, M. N. Brown rice as a potential feedstuff for poultry. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 21, n. 1, p. 103-110, 2012.
- BERMUDES, R. F.; PEIXOTO, R. R. Avaliação do farelo de arroz na alimentação de bezerras da raça holandês. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 2, p. 391-395, 1997.
- BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Indústria e Comércio Exterior. **Balança comercial por unidade da federação**. 2013. Disponível em: <<http://www.desenvolvimento.gov.br/sitio/interna/interna.php?area=5&menu=1078&refr=1076>>. Acesso em: 13 maio 2013.
- BRAZLE, F. K.; COFFEY, K. P. Value of rice mill feed as a feedstuff for backgrounding heifer. In: CATTLEMEN'S DAY, 1990, Kansas. **Anais...** Kansas: KSU, 1990. p. 25-27.
- CAO, Y.; TAKAHASHI, T.; HORIGUCHI, K.; YOSHIDA, N. Effect of adding lactic acid bacteria and molasses on fermentation quality and *in vitro* ruminal digestion of total mixed ration silage prepared with whole crop rice. **Grassland Science**, v. 56, n. 1, p. 19-25, 2010.
- CARVALHO, S.; PIRES, C. C.; WOMMER, T. P.; PELEGRIN, A. C. R. S. de; MORO, A. B.; VENTURINI, R. S.; BRUTTI, D. D. Características da carcaça de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes resíduos agroindustriais. **Revista Agrarian**, v. 5, n. 18, p. 409-416, 2012.
- CHAUDHARY, I. C.; SAHOO, A.; AGARWAL, N.; KAMRA, D. N.; PATHAK, N. N. Effect of replacing grain with deoiled rice bran and molasses from the diet of lactating cows. **Asian-Australian Journal of Animal Sciences**, v. 14, n. 5, p. 646-650, 2001.
- CHUMPAWADEE, S.; CHANTIRATIKUL, A.; CHANTIRATIKUL, P. Chemical compositions and nutritional evaluation of energy feeds for ruminant using *in vitro* gas production technique. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 6, n. 6, p. 607-612, 2007.
- CONAB (Brasil). **Acompanhamento da safra brasileira**: grãos: safra 2012/2013: sexto levantamento: março/2013. Brasília, DF, 2013. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_03_07_10_39_19_levantamento_safra_gaos_6.pdf>. Acesso em: 13 maio 2013.
- CULAU, G.; SCHAFFHÄUSER JÚNIOR, J.; MATTOS, G. S.; TAVARES, A. B.; WIEBUSCH, A. T. Composição química e valor nutritivo de silagem de grão úmido de arroz. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 20., 2011, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPEl, 2011. p. 1-3.
- FADEL, R.; ROSA, B.; OLIVEIRA, I. P. de; OLIVEIRA, J. D. de S. Avaliação de diferentes proporções de água e de uréia sobre a composição bromatológica da palha de arroz. **Ciência Animal Brasileira**, v. 4, n. 2, p. 101-107, 2003.
- FERNANDES, T. A.; MÜLLER, M.; SILVA, R. W. S. M. da; PORCIUNCULA, G. C. da; FREITAS, P. O. de; MARTINS, P.; KITTLER, D.; ANÇA, A. G. Utilização do resíduo da pré-limpeza do arroz ofertado moído e inteiro na alimentação de vacas holandesas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 22., 2012, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: ABZ, 2012. p. 1-3.
- FISCHER, V.; PRATES, E. R.; MUHLBACH, P. R. F. Conservação e qualidade de resíduo úmido de pré-limpeza de arroz. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 24, n. 1, p. 31-37, 1995.
- FORSTER JUNIOR, L. A.; GOETSH, A. L.; GALLOWAY, D. L.; SUN, W.; PATIL, A. R.; JOHNSON, Z. B. Digestion characteristics, feed intake and live weight gain by cattle consuming forage supplemented with defatted rice bran or other feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 47, n. 3/4, p. 259-275, 1994.

- GADBERRY, M. S.; BECK, P. A.; GUNTER, S. A. Performance of crossbred beef cows supplemented with de-oiled rice bran. In: JOHNSON, Z. B.; KELLOGG, D. W. (Ed.). **Arkansas animal science department report 2003**. Fayetteville: Arkansas Agricultural Experiment Station, 2003. p. 70-72. (Research Series, 509).
- GADBERRY, M. S.; BECK, P. A.; GUNTER, S. A. Review: rice milling coproducts as feedstuffs for beef cattle. **The Professional Animal Scientist**, v. 23, n. 4, p. 309-315, 2007.
- GHEBREHIWET, T.; IBRAHIM, M. N. M.; SCHIERE, J. B. Response of growing bulls to diets containing untreated or urea-treated rice straw with rice bran supplementation. **Biological Wastes**, v. 25, n. 4, p. 269-280, 1988.
- GONÇALVES, M. B. F. **Farelo de arroz integral em dietas para bovinos: valor nutricional e desempenho animal**. 2001. 229 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- GONÇALVES, M. B. F.; PRATES, E. R.; SILVA, A. C. F. da; TREVISAN, N. de B.; BISCAÍNO, G. Desempenho de novilhos de corte em pastagem nativa com níveis de suplementação de farelo de arroz integral. **Ciência Rural**, v. 37, n. 2, p. 476-481, 2007.
- HANAFI, E. M.; EL KHADRAWY, H. H.; AHMED, W. M.; ZAABAL, M. M. Some observations on rice straw with emphasis on updates of its management. **World Applied Sciences Journal**, v. 16, n. 3, p. 354-361, 2012.
- HUTANUWATR, N.; HINDS, F. C.; DAVIS, C. L. An evaluation of methods for improving the *in vitro* digestibility of rice hulls. **Journal of Animal Science**, v. 38, n. 1, p. 140-148, 1974.
- INSTITUTO RIO GRANDENSE DO ARROZ. **Área, produção e produtividade**. 2012. Disponível em: <<http://www.irga.rs.gov.br/index.php?principal=1&secao=999&id=120>>. Acesso em: 13 maio 2013.
- ISLAM, M. R.; ISHIDA, M.; ANDO, S.; NISHIDA, T.; YOSHIDA, N. Estimation of nutritive value of whole crop silage and its effect on milk production performance by dairy cows. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v. 17, n. 10, p. 1383-1389, 2004.
- JAYASURIYA, M. C. N.; PERERA, H. G. D. Urea-ammonia treatment of rice straw to improve its nutritive value for ruminants. **Agricultural Wastes**, v. 4, n. 2, p. 143-150, 1982.
- JOBIM, C. C.; BRANCO, A. B.; SANTOS, G. T. Silagem de grãos úmidos na alimentação de bovinos leiteiros. In: SIMPÓSIO GOIANO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE BOVINOS DE CORTE E LEITE, 5., 2003, Goiânia. **Anais...** Goiânia: NUPEL, 2003. p. 357-376.
- KAWAMOTO, H.; OTANI, R.; OSHIBE, A.; HIROMICHI, Y.; DEGUCHI, S.; TANAKA, O.; UOZUMI, S.; WATANABE, H. Ensilage of wilted whole crop rice (*Oryza sativa* L.) using a roll baler for chopped material: Silage quality in long-term storage. **Grassland Science**, v. 53, n. 2, p. 85-90, 2007.
- KI, K. S.; KHAN, M. A.; LEE, W. S.; LEE, H. J.; KIM, S. B.; YANG, S. H.; BAEK, K. S.; KIM, J. G.; KIM, H. S. Effect of replacing corn silage with whole crop rice silage in total mixed ration on intake, milk yield and its composition in Holsteins. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v. 22, n. 4, p. 516-519, 2009.
- LAM, T. B. T.; KADOYA, K.; IYAMA, K. Bonding of hydroxycinnamic acids to lignin: ferulic and p-coumaric acids are predominantly linked at the benzyl position of lignin, not the *b*-position, in grass cell walls. **Phytochemistry**, v. 57, n. 6, p. 987-992, 2001.
- LANDAETA, F. A. C. **Proteção da gordura do farelo de arroz integral e o seu uso na alimentação de ruminantes**. 2009. 148 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- LEITE, D. T. **Farelo de arroz desengordurado e farelo de glúten de milho na suplementação de bovinos de corte**. 2006. 74 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- LIMBERGER, V. M.; da SILVA, L. P.; EMANUELLI, T.; COMARELA, C. G.; PATIAS, L. D. Modificação química e física do amido de quirera de arroz para aproveitamento na indústria de alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 84-88, 2008.

LOURENÇO, L. A.; SCHAFFHÄUSER JÚNIOR, J.; RIZZO, F. A.; SCHEIBLER, R. B.; LOUZADA, R. M. Valor nutritivo da silagem de arroz para alimentação de ruminantes. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 21., 2012, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Ed. UFPel, 2012. p. 1-3.

LUSH, J. L.; HALE, F. Rice bran as a feed for dairy cows. **Texas Agricultural Experiment Station Bulletin**, n. 352, p. 5-22, 1927.

MANO, Y.; KAWAMINAMI, K.; KOJIMA, M.; OHNISHI, M.; ITO, S. Comparative composition of brown rice lipids (lipid fractions) of indica and japonica rices. **Bioscience Biotechnology And Biochemistry**, n. 63, p. 619-626, 1999.

MARTINS, A. de S.; VIEIRA, P. de F.; BERCHIELLI, T. T.; PRADO, I. N. do. Degradação ruminal da silagem de milho e da palha de arroz utilizando enzimas fibrolíticas exógenas. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 30, n. 4, p. 435-442, 2008.

MARUYAMA, S.; YOKOYAMA, I.; ASAI, H.; SAKAGUCHI, S.; OHTANI, T.; YOKOTA, H.; KITA, K. Influence of ripening stages on the quality of whole crop silage and grain silage of fodder rice. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v. 18, n. 3, p. 340-344, 2005.

MONKS, P. L.; FERREIRA, O. G. L.; GOULART, E. Q.; TERRES, A. L. S. Potencial forrageiro do arroz irrigado (*Oryza sativa* L.) após a colheita dos grãos. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 8, n. 1, p. 67-70, 2002.

NAKANO, H.; HATTORI, I.; SATO, K.; MORITA, S.; KITAGAWA, H.; TAKAHASHI, M. Effects of cutting height of the first crop on estimated total digestible nutrient concentration and yield in double-harvested rice. **Agronomy Journal**, v. 102, n. 3, p. 972-980, 2010.

NISHINO, N.; HATTORI, H.; KISHIDA, Y. Alcoholic fermentation and its prevention by *Lactobacillus buchneri* in whole crop rice silage. **Letters in Applied Microbiology**, v. 44, n. 5, p. 538-543, 2007.

NISHINO, N.; SHINDE, S. Ethanol and 2,3-butanediol production in whole-crop rice silage. **Grassland Science**, v. 53, n. 3, p. 196-198, 2007.

NÖRNBERG, J. L. **Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas jersey na fase inicial de lactação**. 2003. 174 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

NOVELLO, D. **Avaliação bromatológica e perfil de ácidos graxos da carne de frango de corte alimentados com rações contendo farinha de peixe ou aveia branca**. 2005. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

OGINO, A.; ISHIDA, M.; ISHIKAWA, T.; IKEGUCHI, A.; WAKI, M.; YOKOYAMA, H.; TANAKA, Y.; HIROOKA, H. Environmental impacts of a Japanese dairy farming system using whole-crop rice silage as evaluated by life cycle assessment. **Animal Science Journal**, v. 79, n. 6, p. 727-736, 2008.

OLIVEIRA, C. F. de. **Perspectivas para o mercado de arroz**. [Porto Alegre]: Cooplantio-Sindarroz SC, 14 fev. 2012. Disponível em: <http://www.sindarroz-sc.com.br/temp/BIN_359.pdf>. Acesso em: 13 maio 2013.

OSMARI, M. P.; ARBOITTE, M. Z.; BRONDANI, I. L.; KUSS, F.; ALVES FILHO, D. C.; RESTLE, J. Vacas terminadas em campo nativo suplementadas com farelo de trigo ou farelo de arroz integral contendo ou não monensina sódica. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 6, p. 1974-1980, 2008.

OSPINA, A.; PRATES, E. R.; PIRES, F. F.; COREZOLA, D. Utilização de farelo de arroz desengordurado como suplemento de volumoso de baixa qualidade. **Revista da FAVA**, v. 2/3, n. 1, p. 118-127, 1995-1996.

PACHECO, R. F.; FREITAS, L. da S.; ALVES FILHO, D. C.; SILVEIRA, M. F. da; SILVA, V. S. da; SEGABINAZZI, L. R.; SACHET, R. H.; GOMES, R. de M. Característica da carcaça de novilhos alimentados com diferentes proporções de farelo de arroz integral na dieta: gordura de descarte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 19., 2009, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: ABZ, 2009. p. 1-3.

PASSINI, R.; BORGATTI, L. M. O.; FERREIRA, F. A.; RODRIGUES, P. H. M. Degradabilidade no rúmen bovino de grãos de milho processados de diferentes formas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 3, p. 271-276, 2004.

PERDOK, H. B.; LENG, R. A. Response of growing cattle to ammoniated wheat straw supplemented with urea, by-pass protein and broken rice. **Proceedings Australian Society Animal Production**, v. 16, p. 303-306, 1985.

PIAO, X. S.; LI, D.; HAN, I. K.; CHEN, Y.; LEE, J. H.; WANG, D. Y.; LI, J. B.; ZHANG, D. F. Evaluation of Chinese brown rice as an alternative energy source in pig diets. **Asian-Australian Journal of Animal Sciences**, v. 15, n. 1, p. 89-93, 2002.

PLASCENCIA, A.; LOPEZ-SOTO, M. A.; MONTANO, M. F.; SERRANO, J. G.; WARE, R. A.; ZINN, R. A. Influence of surfactante supplementation and maceration on the feeding value of rice straw in growing-finishing diets for Holstein steers. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 10, p. 2575-2581, 2007.

POMERANZ, Y.; ORY, R. L. Rice processing and utilization. In: WOLFF, I. A. (Ed.). **CRC handbook of processing utilization in agriculture**. West Palm Beach: CRC Press, 1982. v. 2.

ROSA, J. R. P.; SILVA, J. H. S. da; RESTLE, J.; PASCOAL, L. L.; BRONDANI, I. V.; ALVES FILHO, D. C.; FREITAS, A. K. de. Avaliação do comportamento agrônomo da planta e valor nutritivo da silagem de diferentes híbridos de milho (*Zea mays*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 2, p. 302-312, 2004.

SAKAI, M.; IIDA, S.; MAEDA, H.; SUNOHARA, Y.; NEMOTO, H.; IMBE, T. New rice varieties for whole crop silage use in Japan. **Breeding Science**, v. 53, n. 3, p. 271-275, 2003.

SANTOS, J. W. dos; CABRAL, L. da S.; ZERVOUDAKIS, J. T.; ABREU, J. G. de; SOUZA, A. L. de; PEREIRA, G. A. C.; REVERDITO, R. Farelo de arroz em dietas para ovinos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 11, n. 1, p. 193-201, 2010.

SARNKLONG, C.; CONE, J. W.; PELLIKAAN, W.; HENDRIKS, W. H. Utilization of rice straw and different treatments to improve its feed value for ruminants: a review. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v. 23, n. 5, p. 680-692, 2010.

SCHAFHÄUSER JÚNIOR, J. **Níveis crescentes de gordura de arroz para vacas leiteiras de alta produção no início da lactação**. 2005. 104 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SOUZA FILHO, W. de; CARDOSO, E. da C.; FERREIRA, G. D. G.; de ARAÚJO, C. V. de; SILVA, S. de J. B. da; BRITO, E. L.; de SOUZA, S. S. de. Cinética da degradação ruminal do farelo de arroz, da quirera de arroz e da torta de amêndoa do dendê em búfalo. In: ZOOTEC, 2005, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: ABZ, 2005. p. 1-4.

TILLMAN, A. D.; FURR, R. D.; HANSEN, K. R.; SHERROD, L. B.; WORD JUNIOR, J. D. Utilization of rice hull in cattle finishing rations. **Journal of Animal Science**, v. 29, n. 5, p. 792-796, 1969.

TOWNSEND, C. R.; MAGALHÃES, J. A.; COSTA, N. de L. **Utilização de subprodutos e resíduos agrícolas na alimentação de ruminantes**. Porto Velho: EMBRAPA-CPAF Rondônia, 1997. 26 p. (EMBRAPA-CPAF Rondônia. Circular Técnica, 32).

VALADARES FILHO, S. de C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; CAPELLE, E. R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2006.

VELLOSO, L. Subprodutos de origem do beneficiamento de cereais. **Informe Agropecuário**, v. 10, n. 119, p. 15-21, 1984.

WALTER, M.; MARCHEZAM, E.; AVILA, L. A. de. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, p. 1184-1192, 2008.

WHITE, T. W.; REYNOLDS, L.; HEMBRY, F. G. Level and form of rice straw in steer rations. **Journal of Animal Science**, v. 33, n. 6, p. 1365-1370, 1971.

ZAMBOM, M. A.; SANTOS, G. T.; MODESTO, E. C.; ALCALDE, C. R.; GONÇALVES, G. D.; SILVA, D. C. da; SILVA, K. T. da; FAUSTINO, J. O. Valor nutricional da casca do grão de soja, farelo de soja, milho moído e farelo de trigo para bovinos. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 937-943, 2001.

MANEJO REPRODUTIVO

Luiz Francisco Machado Pfeifer
Augusto Schneider
Natália A. Castro
Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro

Impacto da reprodução nos atuais moldes de produção

A eficiência reprodutiva de um rebanho leiteiro está diretamente relacionada com o manejo reprodutivo adotado. Em virtude de seu alto metabolismo, vacas de leite são responsáveis pela emissão de grande quantidade de gases de efeito estufa (GEE), que contribuem para as alterações climáticas. Como possui o maior rebanho bovino comercial do mundo e um agronegócio que corresponde a 22,74% do PIB (EMBRAPA..., 2012), o Brasil deve buscar a excelência na produção animal, principalmente para que atinja os compromissos voluntários de redução das emissões de GEE.

Na Conferência da ONU sobre Mudanças Climáticas, de 2009, também chamada de Conferência de Copenhague, o Brasil assumiu o compromisso de reduzir a curva de crescimento das emissões desses gases em 33% até 2020, e de diminuir o desmatamento da Amazônia em 80%, refletindo os anseios da sociedade brasileira. Apesar dos esforços relativos à redução da poluição, a demanda por alimentos deverá crescer substancialmente, pois a população mundial deverá crescer de 7 bilhões de pessoas em 2012 para 9,1 bilhões em 2050 (EMBRAPA..., 2012). Como não há perspectivas de aumentar significativamente a quantidade de terra agrícola arável, a produção de alimentos deverá sofrer forte intensificação, a fim de garantir o abastecimento de alimentos em abundância e com preços acessíveis à população. Estima-se que nesse período a produtividade deve aumentar em 70% para atender a essa demanda. É nesse contexto que o Brasil terá de assumir o importante papel de um dos maiores produtores de alimento do mundo.

Em um mundo globalizado em que o leite é uma das mais importantes commodities, o manejo reprodutivo é um fator essencial para a obtenção de uma boa rentabilidade de um sistema de produção, que vai afetar diretamente a produtividade de um rebanho. O sucesso no desempenho reprodutivo é influenciado por vários fatores: nutrição, genética, saúde do rebanho (principalmente no período de transição), gestão da propriedade e meio ambiente. Quanto mais tecnificado for o sistema de produção, principalmente quanto a biotécnicas da reprodução – como inseminação artificial, controle farmacológico do ciclo estral, transferência de embriões e produção de embriões in vitro são utilizadas –, maior será a exigência para uma ótima eficiência reprodutiva.

Apesar da disponibilidade de todas essas biotecnologias, a eficiência reprodutiva e, conseqüentemente, a rentabilidade dos sistemas de produção de leite no Brasil ainda são consideradas baixas quando comparada às de países desenvolvidos. O aumento dos índices reprodutivos e do mérito genético do rebanho surge como forma de tornar o Brasil um país mais competitivo na produção de leite.

Um exemplo muito claro de como o manejo alimentar e o reprodutivo podem afetar a eficiência reprodutiva e, conseqüentemente, a sustentabilidade de um sistema de produção pecuário é o setor de recria. Novilhas antes do primeiro parto são apontadas como vilãs do ponto de vista ambiental e econômico, pois necessitam de alimentos e medicamentos, emitem GEE pela digestão de alimentos e fezes, e ainda não produzem leite, ou seja, não há mitigação dos GEE, nem retorno econômico na fase de recria. Portanto, diminuir a idade do primeiro parto é uma das estratégias para aumentar a eficiência do sistema. Ainda com referência à eficiência reprodutiva, o desempenho reprodutivo afeta muito a quantidade de gases emitidos por quilo de leite produzido. Vacas cujo intervalo entre partos é aumentado por causa de falhas na concepção passam mais tempo como animais improdutivos (vacas secas) ou fora do pico de lactação, cuja conversão de alimentos em leite é mais eficiente. A vida útil de uma vaca leiteira é tão influenciada pela reprodução que, nos Estados Unidos, 26% dos descartes decorrem de problemas reprodutivos.

Com base nessas considerações, a Tabela 1, adaptada de Esslemont e Kossabati (2000), demonstra alguns índices que podem ajudar o produtor a avaliar a eficiência reprodutiva e adotar as medidas de manejo necessárias para corrigi-las. Além disso, a Tabela 1 pode ajudar o veterinário a detectar gargalos no manejo reprodutivo e, assim, determinar o nível de interferência, para poder projetar ações corretivas adequadas.

Tão logo sejam estabelecidas as metas de desempenho reprodutivo do rebanho, caberá avaliar se a situação atual condiz com a produtividade desejada. Um método simples

Tabela 1. Principais parâmetros reprodutivos utilizados em bovinocultura de leite e respectivos valores ideais.

Desempenho do rebanho	Metas		Problema (Nível de interferência)		
			Leve	Moderado	Severo
	Excelente (A+)	Adequado (A)	B	C	D
Intervalo parto-primeiro serviço (dias)	55–64	65–75	76–85	86–95	> 95
Taxa de submissão do serviço em 24 dias (%)	> 69	59–68	48–58	33–47	< 32
Taxa de detecção de retorno de cio (%)	> 68	59–68	53–58	40–52	< 39
Taxa de prenhez ao primeiro serviço (%)	> 58	52–57	42–51	35–41	< 35
Taxa de prenhez global (%)	> 58	52–57	42–51	35–41	< 35
Porcentagem de vacas servidas	> 96	92–95	80–91	70–80	< 70
Intervalo parto-concepção (dias)	70–86	87–93	94–115	116–130	> 130
Intervalo entre partos (dias)	350–369	370–376	377–395	396–410	> 410
Dias em aberto	86–109	110–120	121–133	134–154	> 154
Taxa de descarte por falhas de concepção (%)	4–7	8–10	11–14	15–16	> 16
Taxa de descarte (total, %)	12–16	17–20	21–23	24–30	> 31

Fonte: Esslemont e Kossaibati (2000).

de se obter essa resposta é submeter todas as vacas e novilhas acima de 340 kg de peso vivo a um exame ginecológico. O desejado é que o rebanho esteja constituído da seguinte forma:

- Vacas em lactação: 83% de vacas em lactação, sendo cerca de 58% prenhas e 25% vazias.
- Vacas secas: 17%, sendo que todas devem estar prenhas.

A ocorrência de vacas secas e vazias ao mesmo tempo deve ser evitada ao máximo (ideal = 0%).

Controle reprodutivo

Distúrbios reprodutivos são atualmente responsáveis por 20% a 30% das causas de descarte em gado de leite. Portanto, o sucesso do manejo reprodutivo depende basicamente da interação de todos os fatores envolvidos no sistema de produção animal, tais como a nutrição, a sanidade e o ambiente onde os animais estão expostos. Para melhorar a eficiência do manejo reprodutivo é necessário adotar algumas estratégias, que passam obrigatoriamente pelo conhecimento da situação real de cada rebanho. Para que a assistência técnica e o produtor possam avaliar os índices zootécnicos, é essencial incrementar a utilização de fichas de controle reprodutivo na propriedade rural. Anotações para um programa de controle reprodutivo devem, pelo menos, registrar os seguintes dados: data do nascimento, identificação dos animais, ocorrência de cio, data da inseminação artificial com a identificação do reprodutor utilizado, confirmação da prenhez, previsão de secagem, data do parto, número de abortos, entre outras ocorrências. Tendo conhecimento desses dados, o técnico e o produtor podem avaliar índices zootécnicos, como: taxas de detecção de cio, de não retorno ao cio, prenhez, concepção e natalidade, e número de serviços por concepção, entre outros.

Na Tabela 2, está demonstrado como fichas simples podem ajudar o produtor a controlar os principais eventos reprodutivos do rebanho. Com o preenchimento dessas fichas, é possível determinar a data adequada para a secagem da vaca, de acordo com a previsão do parto. Além disso, o registro da data do parto determina a data de “abertura” da fêmea para a reprodução; é o que chamamos de “período voluntário de espera” (PVE), que é o período em que a vaca não deve ser inseminada nem entourada após o parto. O PVE deve respeitar o período de puerpério, quando ocorre o retorno da atividade ovariana e a total involução uterina, ou seja, é o tempo necessário para que a fêmea restitua todas as funções reprodutivas, tornando-a apta a reproduzir novamente. Mais detalhes sobre o PVE no manejo reprodutivo serão descritos no capítulo de controle exógeno do ciclo estral.

Eventos do puerpério e retorno da atividade ovariana

Com relação ao manejo dos animais, é importante salientar que, no último mês de gestação, o animal deve ser encaminhado para um piquete-maternidade, que disponha de pastagem e água em abundância e de boa qualidade, bom sombreamento e com pouca

umidade. O terreno deve ser o mais plano possível, contanto que não seja área alagada, para que as vacas se movimentem livremente. No piquete, deve haver bebedouros e cochos para fornecimento de água, sal e alimentos, conforme o manejo adotado na propriedade. A instalação desses piquetes deve ser perto da sede ou do curral, para facilitar a observação e a assistência à vaca durante o parto.

Para que o produtor de leite tenha adequado retorno econômico, é essencial alcançar uma adequada eficiência reprodutiva, com a obtenção do máximo possível de parições na vida útil da vaca. O intervalo entre partos (IEP) ideal para otimizar a eficiência reprodutiva de uma fêmea bovina é de 12 meses, com intervalo entre parto e concepção (IPC) de aproximadamente 85 dias. O prolongamento do período de anestro pós-parto leva a perdas econômicas, por aumentar o intervalo entre parto e concepção e, conseqüentemente, não permitir que a meta de uma lactação/vaca/ano seja alcançada. Isso causa diminuição no número de lactações – com conseqüente menor produção de leite – na vida útil da vaca leiteira.

Os principais fatores que influenciam o momento da concepção pós-parto são: o estado nutricional pré- e pós-parto, a involução uterina, a frequência da ejeção do leite, a produção leiteira e o número de parições. Esses fatores, atuando negativamente, interrompem o mecanismo endócrino que controla a manifestação de estro e subsequente ovulação.

Vacas leiteiras de alta produção, com baixa condição corporal no periparto, é a categoria que apresenta maior incidência de anestro pós-parto prolongado. Entre os fatores envolvidos na duração do período de anestro em bovinos, destaca-se a ocorrência de balanço energético negativo, que exerce grande influência sobre o funcionamento do eixo hipotalâmico-hipofisário, pois atua na regulação da liberação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e gonadotrofinas hipofisárias – hormônio folículo-estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH).

Em vacas leiteiras, a ausência de um folículo grande não é fator limitante ao retorno da ciclicidade após o parto, já que as vacas possuem folículos ovarianos grandes por volta do 11º dia pós-parto; porém, a ovulação não ocorre. Provavelmente, em pós-parto recente, há uma deficiência na onda pré-ovulatória de LH, decorrente da produção insatisfatória de estradiol por esse folículo. Ainda que possa ovular esse folículo, vacas pós-parto não concebem logo na primeira ovulação, principalmente por falta de um ambiente uterino adequado após o parto.

Em virtude da excessiva perda de peso após o parto, vacas leiteiras de alta produção passam por um período de severo balanço energético negativo (BEN), que é um fator

determinante para o prolongamento do anestro. O requerimento nutricional aumenta abruptamente após o parto, em decorrência do rápido aumento da produção leiteira, enquanto o momento de capacidade máxima de ingestão de matéria seca ocorre 4 a 6 semanas após o pico de produção, resultando em um período de BEN que pode se prolongar por 10 a 12 semanas pós-parto. O BEN, durante as primeiras 3 a 4 semanas após o parto, está altamente relacionado ao intervalo de ocorrência da primeira ovulação após o parto. Nesse contexto, existem várias evidências de que os hormônios metabólicos, como o hormônio do crescimento (GH), a insulina, o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) e a leptina, são importantes mediadores dos efeitos do balanço energético no desenvolvimento folicular ovariano de bovinos. Os hormônios IGF-I e insulina exercem importante função no crescimento folicular, estimulando a mitogênese das células da granulosa e estimulando a esteroidogênese. A quantidade de IGF-I ainda está relacionada com a secreção de LH hipofisário, sendo esse um importante mediador metabólico envolvido no processo de retorno da ciclicidade pós-parto.

A suplementação de energia no período pós-parto leva a um retorno mais precoce à ciclicidade, embora não haja diferença no período para a detecção da emergência da primeira onda folicular pós-parto entre vacas com altos e baixos níveis de energia na dieta. Vacas que recebem baixos níveis de energia têm um maior número de ondas foliculares antes da primeira ovulação; isso se deve provavelmente às concentrações insuficientes de LH para estimular a maturação final do folículo pré-ovulatório. Nesse contexto, a condição corporal (CC) pós-parto de vacas de leite é um bom parâmetro para que seja estimulado o nível nutricional de uma fêmea. Vacas devem parir com adequada CC para que os efeitos do BEN sejam minimizados. Vacas que perdem 0,5 ponto de CC nas primeiras semanas pós-parto ovulam antes do que vacas que perdem 1 ou mais pontos de CC.

A seleção de vacas para alta produção leiteira tem sido acompanhada por um decréscimo na eficiência reprodutiva e nas concentrações sanguíneas de insulina. Butler et al. (2003) demonstraram que, em vacas tratadas com insulina no período pós-parto, houve aumento das concentrações de IGF-I, sugerindo que a insulina faz o reacoplamento do eixo GH-IGF no fígado, no período pós-parto. Como esse mediador metabólico tem um efeito estimulador na esteroidogênese ovariana, e considerando que falhas na ovulação da primeira onda folicular estão associadas a baixos níveis de insulina, a baixa fertilidade em vacas de alta produção pode estar ligada a menores concentrações sanguíneas de insulina.

Em virtude da alta produção e do conseqüente acelerado metabolismo hepático, vacas de alta produção passam por uma redução dos níveis de estradiol e progesterona circulante. Como o fígado metaboliza esteroides, realizando o *clearance* de esteroides

circulantes, vacas de alta produção possuem redução das concentrações circulantes de estradiol e progesterona. Dessa forma, vacas de alta produção pós-parto possuem uma reduzida secreção de gonadotrofinas e fatores de crescimento folicular, e, conseqüentemente, maior intervalo entre as ondas foliculares e também atraso no pico de LH pré-ovulatório. A redução das concentrações de progesterona em vacas de alta produção permite que a pulsatilidade do LH seja maior e, conseqüentemente, possa ocorrer a seleção de mais de um folículo dominante e maior taxa de dupla ovulação, ocasionando aumento dos nascimentos gemelares.

Involução uterina

No período de transição, que compreende cerca de 3 semanas pré-parto até 3 semanas pós-parto, vacas de leite de alta produção sofrem vários desafios reprodutivos e metabólicos. No último terço de gestação, ocorre o período de maior crescimento do feto; posteriormente, quando a gestação chega a termo, ocorre a liberação exacerbada de mediadores inflamatórios, em decorrência do parto. Essas alterações levam a uma depressão do apetite, que coincide com o início da lactação, o que contribui para que as vacas entrem em BEN. Para que ocorra o retorno das funções reprodutivas, a fêmea precisa logo restabelecer a homeostasia do organismo. Nesse período de extremo desafio, a vaca deve restabelecer a condição uterina – que passa por uma extensa reparação tecidual do endométrio – e restabelecer as funções ovarianas, para que, até o final do primeiro trimestre de lactação, ela possa ser inseminada.

Logo após o parto, o conteúdo uterino, denominado lóquios, que basicamente constitui-se de líquido placentário, sangue e debris celulares (restos de placenta e descamação do útero), deve ser expelido do útero, para que ele possa restabelecer suas funções e voltar ao tamanho original. Esse processo pode durar semanas e até mesmo meses caso ocorra alguma complicação durante o puerpério. Logo após o parto, os lóquios podem chegar até 2 L, e, geralmente, após 3 semanas, o útero da vaca já voltou ao tamanho normal.

O tempo necessário para que ocorra a involução uterina pós-parto tem relação com a duração do período de anestros. Fêmeas sem complicações puerperais têm um período de inatividade ovariana pós-parto menor do que aquelas com anormalidades puerperais (distocia, retenção de placenta, infecção uterina, cetose, hipocalcemia puerperal). O maior comprometimento da saúde uterina de vacas após o parto, determinado pela porcentagem de células polimorfonucleares (PMN, principalmente neutrófilos) no lavado uterino, está associado com o atraso da primeira ovulação pós-parto, evidenciando que a

persistência da inflamação do endométrio, mesmo após a involução uterina, é prejudicial para o retorno à ciclicidade. Já a falta de atividade ovariana pós-parto pode prejudicar a eliminação de patógenos do útero e contribuir para a persistência da infecção uterina (SHRESTHA et al., 2004). A contaminação uterina pode afetar o desenvolvimento folicular pela liberação exacerbada de citocinas pró-inflamatórias pelas células endometriais, o que reduz a esteroidogênese das células da granulosa (SPICER; ALPIZAR, 1994). Além do atraso na primeira ovulação, vacas com aumento de PMN podem apresentar subfertilidade em razão do aumento do intervalo entre ciclos estrais, o que influencia o recomeço da ciclicidade pós-parto (DOBSON et al., 2008). Em vacas com contaminação e/ou inflamação uterina, o crescimento do primeiro folículo dominante pós-parto fica retardado e produz menores concentrações de estradiol, e, quando ovula, forma um corpo lúteo pequeno, que produz menores concentrações de progesterona (SHELDON et al., 2002; WILLIAMS et al., 2007, 2008). A presença de contaminação bacteriana no útero também pode modificar a capacidade de síntese de prostaglandinas e perturbar os mecanismos de luteólise, o que vai interferir na produção de prostaglandinas, prolongando a fase luteínica e provocando a formação de cistos (WILLIAMS et al., 2008).

O PVE deve ser respeitado de acordo com as considerações já expostas; portanto, osaios ocorridos depois dos 60 dias pós-parto (DPP) são mais férteis. Dessa forma, o produtor deve sempre considerar a fertilidade dosaios PP para decidir o PVE. Rebanhos com PVE muito curto (como 45 DPP) podem apresentar baixa fertilidade, pois as vacas terão maior número de serviços por concepção, ainda que o IPC possa ser menor.

Dinâmica folicular das condições de anestro pós-parto

Foi postulado que a primeira onda folicular pós-parto em vacas de leite pode ter três destinos: 1) ovular; 2) regredir; e 3) tornar-se um cisto folicular. Vacas que ovulam a primeira onda folicular possuem mais chance de redução do IPC.

Segundo Wiltbank et al. (2002), os estágios anovulatórios, de acordo com dados registrados por ultrassonografia, de vacas pós-parto podem ser assim classificados:

- Anestro com crescimento folicular somente até a emergência. Nesse processo, há crescimento folicular, mas sem que os folículos atinjam o diâmetro necessário para que ocorra a divergência (8 mm) e, conseqüentemente, haja seleção de um folículo dominante. Os folículos atingem em média 4 mm de diâmetro – esse estado

fisiológico somente é detectado por ultrassonografia, não sendo possível sua identificação por palpação retal. Essa condição é detectada em vacas pós-parto que são submetidas ao pastejo extensivo ou a má alimentação, e que se encontram em anestro profundo e período pós-parto recente. O intervalo entre as ondas foliculares também são maiores, assim como em todos os estágios do anestro, do que aquelas registradas em ciclos estrais normais. Isso ocorre porque a severidade desse estado é tão grande que há secreção deficiente de FSH.

- Anestro com crescimento folicular somente até a divergência. Os animais nessa condição apresentam pequenos ovários, em virtude da ausência de um corpo lúteo (CL) ou de folículos ovulatórios. O tamanho máximo atingido pelo folículo dominante de vacas em anestro é de 14 mm. Após o parto, há aumento dos níveis de FSH, provavelmente por conta da redução do estradiol associado ao parto; dessa forma, há crescimento folicular pós-parto em decorrência da alta concentração de FSH (4 ou 5 dias pós-parto).

Os eventos ovarianos que levam ao retorno da atividade estral são muito parecidos aos que ocorrem em novilhas pré-púberes, em que a sensibilidade do hipotálamo ao feedback negativo que o estradiol exerce é muito intensa, inibindo os pulsos de LH. Com a aproximação da puberdade, o número de receptores para o estradiol reduz bruscamente no hipotálamo basal médio, coincidindo com a redução do feedback negativo do estradiol sobre os pulsos de LH. O subsequente aumento da frequência dos pulsos de LH conduz ao crescimento do folículo dominante até o diâmetro ovulatório e produz quantidade suficiente de estradiol para induzir o pico pré-ovulatório de LH e conseqüente ovulação. Em vacas de leite em pasto, a primeira ovulação pós-parto ocorre em média a partir da quarta onda folicular.

Sistemas de acasalamento e inseminação

Monta natural

A monta natural (MN) consiste na utilização do touro para cobertura da vaca, resultando em concepção natural, ou seja, sem a intervenção do homem. Considerada a maneira mais simples de realizar a reprodução de uma propriedade, a monta natural em rebanhos leiteiros envolve o manejo de machos em piquetes bem estruturados (cercas, água, cochos, pastos de boa qualidade, sombra, entre outros), para que essa forma de acasalamento ocorra

de forma adequada. Essa técnica economiza mão de obra e possibilita melhor aproveitamento de cios, mas dificulta o registro de dados, sofre alto risco de acidentes ao reprodutor e favorece a transmissão de doenças reprodutivas. É mais indicada em propriedades na qual não se busca muita variabilidade genética do rebanho, pois o rebanho fica restrito a poucos reprodutores, para locais onde não há condições de se manter um botijão de nitrogênio e onde há escassez de mão de obra qualificada para efetuar a inseminação artificial (IA).

A monta natural controlada é uma alternativa para se ter maior controle sobre os dados reprodutivos. É realizada de forma que os touros só entram em contato com as fêmeas quando elas estiverem em cio, evitando, assim, o desgaste do animal e facilitando a anotação do dia da cópula para uma programação do parto, e até mesmo um trabalho de secagem nos animais em lactação. Essa técnica é mais eficiente do que a MN tradicional, pois aumenta a vida útil do touro, diminui a possibilidade de acidente com o reprodutor, facilita as anotações reprodutivas e possibilita melhor aproveitamento do touro, que pode vir a servir mais de 100 vacas por ano. Porém, a monta controlada traz suas desvantagens, pois aumenta os gastos com mão de obra, acarreta maior perda de cios e necessita de instalações adequadas.

Nos sistemas que utilizam a MN, a relação entre touro e vaca fica a critério do produtor, ou do técnico responsável pela propriedade. A mais utilizada em propriedades de sistema extensivo é 1:33, ou seja, um touro para cada grupo de 33 vacas. Essa proporção pode ser variável, pois propriedades que realizam o manejo reprodutivo corretamente podem vir a aumentar essa relação.

Exames de rotina nos animais de reprodução, como o andrológico, que avalia a condição e a fertilidade dos touros, e o acompanhamento do cio das vacas facilitam o aumento da eficiência reprodutiva nas fazendas que utilizam a MN.

Inseminação artificial

A inseminação artificial (IA) é a deposição mecânica do sêmen no aparelho genital da fêmea, sem a utilização direta do macho. Os principais objetivos da IA são o aceleração do ganho genético e a redução dos custos com reprodutores na fazenda leiteira. O melhoramento genético ocorre pela possibilidade de utilização de sêmen de touros de alto mérito genético, com maior capacidade de imprimir suas características produtivas no rebanho. Essa biotécnica tornou-se de vital importância para o aumento da produção de

leite, por tornar possível que poucos machos selecionados possam produzir gametas para a inseminação de milhares de fêmeas por ano.

A técnica de inseminação é feita de maneira transvaginal, na qual o inseminador, com uma das mãos no reto, segura a cérvix, e com a outra conduz o aplicador, que contém uma palheta de sêmen, que é introduzida na vagina. A técnica visa transpor os anéis cervicais com o aplicador e realizar a deposição do sêmen no corpo do útero.

O sucesso da inseminação depende de vários fatores, e todos devem ser levados em consideração para que bons resultados sejam atingidos. São eles: a) manejo correto do botijão de nitrogênio; b) descongelamento de sêmen; c) preparação do aplicador de IA; d) procedimento de IA propriamente dito. Nesse âmbito, compete ao inseminador o papel fundamental de alcançar boas taxas de prenhez. A falta de habilidade e conhecimentos por parte do inseminador, tanto para proceder à IA quanto para saber fazer o diagnóstico da vaca em cio, pode comprometer os resultados.

Falhas na detecção de cio representam um dos principais problemas que afetam a eficiência reprodutiva em propriedades que utilizam a inseminação artificial como método de reprodução. Portanto, os pontos a serem melhorados para o aumento da detecção de cio estão associados ao estado nutricional do rebanho (condição corporal), à saúde das fêmeas e ao ambiente no qual as vacas expressam o cio. É necessário entender que a ovulação nos bovinos ocorre aproximadamente 30 horas após o início do cio, 24 horas após o pico pré-ovulatório de LH e 12 horas após o final do estro (cio). A melhor maneira de identificar o momento para se realizar a inseminação é utilizando o método mais simples, no qual as fêmeas que foram observadas em estro pela manhã são inseminadas à tarde, e as fêmeas que foram observadas em estro à tarde são inseminadas na manhã do dia seguinte. Adiante, vão ser descritos os diferentes métodos para a detecção de estro em bovinos de leite.

As instalações devem ser adequadas para que a IA seja realizada de forma correta, pois os animais devem estar contidos de maneira que tanto o inseminador quanto o animal estejam em segurança durante o procedimento. Para tanto, são necessários: a) um tronco ou brete de contenção, que deve ser coberto para evitar a entrada de luz solar, extremamente prejudicial aos espermatozoides; b) pia com água corrente; e c) bancada próxima ao tronco de contenção, para dar fácil acesso aos materiais da inseminação (botijão de sêmen, luvas, bainhas, termômetro, aplicadores, pinças, etc.).

Estação reprodutiva

Estação reprodutiva ou estação de monta é o período escolhido pelo produtor em que as coberturas ou inseminações acontecem de forma programada e limitada. Essa prática ainda não é muito utilizada em rebanhos de leite no Brasil porque convém ao produtor que ele produza leite o ano todo para que sua renda não oscile durante o ano. Entretanto, ao adotar esse método, o produtor consegue concentrar os partos em momentos mais propícios, ou seja, naqueles em que o leite esteja mais valorizado, ou, então, para que o pico de lactação das vacas ocorra no momento de maior disponibilidade de alimento.

Além disso, o produtor pode maximizar as ações de manejo reprodutivo numa época do ano, fazendo, assim, que seja reduzida a perda com a detecção de cios, além de o produtor poder adotar melhor as técnicas de manejo, pois existirão lotes mais uniformes.

Para instituir a estação de monta em uma propriedade, é preciso levar em consideração os seguintes fatores: disponibilidade de alimentos na época dos nascimentos, condições climáticas, mão de obra e principalmente o estado nutricional e reprodutivo de rebanho. A duração da estação deve ser de 2 a 3 meses, de modo que quanto mais curta e efetiva ela for, mais bem recuperado e preparado estará o rebanho para o próximo ano. Para se instalar uma ER em um rebanho, é preciso fazer uma espécie de triagem no rebanho, utilizando exames ginecológicos, principalmente por ultrassonografia. Esses exames devem ser feitos regularmente para assegurar que somente animais aptos à reprodução continuem na próxima estação, e os inférteis ou subférteis sejam substituídos. Para a efetivação da ER, o uso de hormônios pode ser muito útil para antecipar a IA do rebanho. O controle do ciclo estral será tratado no Capítulo 9.

Detecção de cio

Estro ou cio é o período do ciclo estral em que a vaca aceita a monta. Dura cerca de 6 a 18 horas.

A detecção de cio é um dos componentes mais importantes no manejo reprodutivo de um rebanho, e sua falha pode representar o comprometimento dos custos de produção, pois cada cio não detectado pode representar um atraso de 21 dias na concepção. Muitas vezes, a vaca está saudável e em boa condição corporal, porém não é vista em cio, e isso faz que ela não seja coberta ou inseminada. Assim como as anotações de cobertura ou

inseminações, as datas e os horários dos cios também devem ser registrados para que se tenha maior controle da frequência e do intervalo entre eles.

Características de uma vaca no cio

A aceitação da monta por outros animais é o sinal mais confiável para a detecção do cio. Entretanto, outros sinais podem ser notados antes ou no fim do cio, como: a cauda erguida, a fonação, a vulva inchada e o muco cristalino expelido pela vulva. Também podem apresentar outros sinais, como cheirar animais com mais frequência, montar em outras fêmeas, que podem ou não estar no cio, e apresentar pelos arrepiados na base da cauda (em decorrência da monta de outros animais). Em alguns casos, nota-se leve queda na produção de leite e perda de apetite. Em rebanhos maiores, mais vacas estarão no cio ao mesmo tempo; esses animais tendem a ficar agrupados e tornam mais fácil a visualização do cio.

A manifestação do cio depende de uma série de fatores: tipo de criação (em pasto ou confinado), escore corporal, temperatura e conforto térmico, além de doenças (principalmente as inflamatórias) que causam dor no animal.

Estudos demonstraram que a maioria das vacas apresenta sinais de cio à noite e nas primeiras horas da manhã por causa das temperaturas mais baixas dessas horas, o que lhes confere conforto térmico. No entanto, como a observação nesses horários nem sempre é possível, sugere-se que as vacas sejam observadas três vezes ao dia: no começo da manhã, no começo da tarde e no começo da noite, com observações de duração de pelo menos 30 minutos.

A acurácia das detecções depende de quantas vezes as vacas são observadas por dia. Com a detecção de cio uma vez ao dia, cerca de 60% das vacas serão detectadas em cio. A eficiência da detecção pode aumentar consideravelmente se for realizada duas, três ou quatro vezes ao dia, com eficiência de cerca de 80%, 90% e mais de 90%, respectivamente.

O melhor momento para a inseminação de uma vaca é quando ela passa a não aceitar mais a monta de outras ou do rufião; já nos casos de monta natural, o touro deve ser colocado junto à vaca desde o momento em que ela aceita a monta até quando ela passa a rejeitá-lo. Por isso, as anotações dos cios devem ser feitas e atualizadas diariamente, de forma que as inseminações e as coberturas sejam realizadas no momento certo.

Métodos para detecção de cio

Atualmente, há várias maneiras de detecção de cio. O mais econômico é a aplicação de giz ou tinta na base da cauda. Os animais em cio perderão a coloração do giz ou a tinta ficará desgastada quando os animais sofrerem monta. Esses procedimentos devem, necessariamente, ser realizados todos os dias, na base da cauda, para evitar resultados falsos positivos, o que pode tornar o método pouco prático em propriedades leiteiras.

Adesivos que mudam de cor à medida que a vaca é montada, auxiliando na identificação das vacas em cio, vêm sendo muito utilizados e mostram resultados satisfatórios, mas o custo desses produtos costuma ser alto.

A presença de rufiões é comum em propriedades brasileiras. O uso de um buçal, preso a esses animais, contendo substâncias (geralmente tinta e óleo) que são liberadas quando a monta acontece, permite que sejam identificadas as vacas que foram montadas. Vacas androgenizadas também podem ser utilizadas no rebanho como forma de indicar os animais em cio.

Há também técnicas mais modernas, como o uso do pedômetro, que mede a quantidade de passos dados pelas vacas. Animais com movimentação intensa são considerados em cio. Todos os métodos mencionados acima devem, obrigatoriamente, passar pela observação diária do produtor, que é, aliás, considerado o melhor método de detecção de cio.

Diagnóstico de prenhez

O exame ginecológico por palpação retal e a ultrassonografia são os métodos mais comuns utilizados na bovinocultura para a detecção de prenhez.

A palpação retal ou “toque” é a maneira mais simples e a mais econômica de realizar o diagnóstico de prenhez. No entanto, só poderá confirmar uma gestação depois de decorridos cerca de 35 dias da cobertura. Deve ser feito por um médico-veterinário treinado.

A ultrassonografia vem ganhando espaço na rotina das propriedades de leite. O uso do exame ultrassonográfico é indicado para o diagnóstico precoce e mais acurado da prenhez, a visualização do sexo do bezerro e o diagnóstico de anormalidades no trato reprodutivo, o que permite que vacas inférteis sejam identificadas e descartadas. Possui a grande vantagem de estabelecer a confirmação da gestação mais cedo do que a simples palpação. O exame de ultrassom pode ser feito a partir do 25º dia pós-cobertura.

No Brasil, de forma geral, o diagnóstico de prenhez não é tão utilizado como deveria ser; é que muitos produtores não fazem o controle da gestação dos seus rebanhos. Essa prática pode comprometer a eficiência reprodutiva e, conseqüentemente, ocasionar prejuízos consideráveis, pois, se a fêmea não retornar ao cio e estiver vazia, ocorrerá atraso na concepção. O registro de uma fêmea vazia permite que o produtor possa submetê-la a uma nova cobertura ou inseminação, até que a gestação seja diagnosticada. Dessa forma, o produtor deve se lembrar de que a confirmação da prenhez no rebanho está diretamente relacionada à lucratividade da propriedade.

Uso da ultrassonografia para o manejo reprodutivo

O uso da ultrassonografia transretal no estudo da reprodução bovina representa um avanço tecnológico que tem revolucionado o conhecimento da biologia reprodutiva. As informações geradas através das imagens obtidas pelo ultrassom vêm esclarecendo a complexidade dos processos reprodutivos no rebanho, incluindo a dinâmica dos folículos ovarianos, a função do corpo lúteo e o desenvolvimento fetal. A recente integração do ultrassom com a indústria do leite inclui aplicações como a aspiração folicular transvaginal e a recuperação de oócitos, assim como o emprego de tecnologia complementar para o processo de transferência de embriões. Entretanto, essas aplicações são especializadas e não são usadas de maneira generalizada na indústria do leite. As aplicações do ultrassom permitem: a) a avaliação precoce do estado de prenhez; b) a identificação de gestação gemelar; c) a detecção de patologias ovarianas e uterinas; e d) a determinação do sexo do feto. Essas aplicações apresentam uma oportunidade de melhoria da eficiência reprodutiva e da lucratividade na indústria do leite.

O uso correto da ultrassonografia no manejo reprodutivo pode ajudar a estimar perdas embrionárias precoces. A perda da prenhez implica a ineficiência reprodutiva. Taxas de concepção de 28 até 32 dias após a IA em vacas de leite em lactação variam de 40% a 47% (FRICKE et al., 1997; PURSLEY et al., 1997), enquanto, em novilhas, são de quase 75% (PURSLEY et al., 1997). Similarmente, a taxa de perda de prenhez de vacas em lactação é de 20%, enquanto, em novilhas, é de apenas 5% (SMITH; STEVENSON, 1995).

Como a prenhez é detectada mais precocemente pelo ultrassom, em comparação com o método da palpação, a taxa de perda de prenhez é frequentemente mais elevada. Por esse motivo, as vacas com diagnóstico de gestação aos 30 dias apresentam maiores

perdas de prenhez do que vacas diagnosticadas aos 60 dias após a IA. Apesar de as taxas de perda de prenhez detectadas com o ultrassom serem significativas, o uso do aparelho em si não é causa de morte embrionária no rebanho. O ultrassom é uma técnica de diagnóstico de prenhez precoce menos invasiva do que a palpação retal.

Atualmente, não há nenhuma maneira prática de reduzir a perda embrionária precoce de vacas em lactação. Entretanto, o fato de reconhecer a ocorrência e a magnitude da perda embrionária precoce pode apresentar oportunidade de manejo para aproveitamento de novas tecnologias reprodutivas que melhorem as taxas de serviços de IA no rebanho. Se utilizada rotineiramente, a ultrassonografia transretal tem o potencial de melhorar a eficiência reprodutiva em um rebanho, reduzindo o período da IA até o diagnóstico de prenhez para 28 dias, com alto grau de precisão.

Novas tecnologias de detecção precoce de vacas vazias após IA são imprescindíveis para formar estratégias de manejo reprodutivo em operações comerciais de leite. Quando o ultrassom é utilizado para diagnóstico precoce, deve-se enfatizar a identificação de vacas vazias, ao invés de vacas prenhes. Um diagnóstico de vaca vazia, acompanhado por uma decisão de manejo, agiliza o processo de reiniciar o serviço de IA, melhorando a eficiência reprodutiva e a taxa de prenhez, pelo decréscimo de intervalo entre os serviços de IA, aumentando, assim, as taxas de serviços. As taxas de não concepção na inseminação artificial em tempo fixo (IATF) de vacas de alta produção em lactação podem chegar a mais de 60% (FRICKE et al., 1997; PURSLEY et al., 1997), o que resulta na necessidade de uma estratégia de ressincronização, para dar início a um segundo serviço de IA.

Referências

- BUTLER, S. T.; MARR, A. L.; PELTON, S. H.; RADCLIFF, R. P.; LUCY, M. C.; BUTLER, W. R. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. **Journal of Endocrinology**, v. 176, n. 2, p. 205-217, 2003.
- DOBSON, H.; WALKER, S. L.; MORRIS, M. J.; ROUTLY, J. E.; SMITH, R. F. Why is it getting more difficult to successfully artificially inseminate cows? **Animal**, v. 2, n. 8, p. 1104-1111, 2008.
- EMBRAPA pesquisa contribuição da pecuária brasileira para efeito estufa. 2012. Disponível em: <<http://www.cppse.embrapa.br/redepecus/embrapa-pesquisa-contribui-o-da-pecu-ria-brasileira-para-efeito-estufa>>. Acesso em: 26 nov. 2015.
- ESSLEMONT, R. J.; KOSSAIBATI, M. A. The use of databases to manage fertility. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 725-741, 2000.
- FRICKE, P. M.; AL-HASSAN, M. J.; ROBERTS, A. J.; REYNOLDS, L. P.; REDMER, D. A.; FORD, J. J. Effect of gonadotropin treatment on size, number, and cell proliferation of antral follicles in cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 14, n. 3, p. 171-180, 1997.

PURSLEY, J. R.; KOSOROK, M. R.; WILTBANK, M. C. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 2, p. 301-306, 1997.

SHELDON, I. M.; NOAKES, D. E.; RYCROFT, A. N.; PFEIFFER, D. U.; DOBSON, H. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. **Reproduction**, v. 123, n. 6, p. 837-845, 2002.

SHRESTHA, H. K.; NAKAO, T.; HIGAKI, T.; SUZUKI, T.; AKITA, M. Resumption of postpartum ovarian cyclicity in high producing Holstein cows. **Theriogenology**, v. 61, n. 4, p. 637-649, 2004.

SMITH, M. W.; STEVENSON, J. S. Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F2 alpha and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 12, p. 3743-3751, 1995.

SPICER, L. J.; ALPIZAR, E. Effects of cytokines on FSH-induced estradiol production by bovine granulosa cells in vitro: Dependence on size of follicle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 11, n. 1, p. 25-34, 1994.

WILLIAMS, E. J.; FISCHER, D. P.; NOAKES, D. E.; ENGLAND, G. E.; RYCROFT, A.; DOBSON, H.; SHELDON, I.M. Uterine infection perturbs ovarian function in the postpartum dairy cow. **Theriogenology**, v. 68, p. 549-559, 2007.

WILLIAMS, E. J.; SIBLEY, K.; MILLER, A. N.; LANE, E. A.; FISHWICK, J.; NASH, D. M.; HERATH, S.; ENGLAND, G. C. W.; DOBSON, H.; SHELDON, I. M. The effect of Escherichia coli lipopolysaccharide and Tumor Necrosis Factor alpha on ovarian function. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 60, n. 5, p. 462-473, 2008.

WILTBANK, M. C.; GÜMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p. 21-52, 2002.

CONTROLE EXÓGENO DO CICLO ESTRAL

Luiz Francisco Machado Pfeifer
Augusto Schneider
Natália A. Castro
Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro

Uso de hormônios na reprodução animal

A principal medida de performance reprodutiva que é afetada pelo controle do ciclo estral é a dos dias da primeira cobertura (DPC). Com um período voluntário de espera (PEV) de 60 dias, a média de DPC de um rebanho com uma eficiência de detecção deaios excepcional (maior que 70%) será de aproximadamente 75 dias. Se a DPC média de um rebanho exceder 80 dias, o produtor poderá se beneficiar de um sistemático programa de reprodução por meio do controle exógeno do ciclo estral.

Baixo desempenho reprodutivo geralmente gera um senso de urgência em acasalar a vaca que se apresenta em cio a qualquer momento do período pós-parto, por receio de que ela não seja observada no retorno do estro se deixada de lado. Isso resulta em “quebrar as regras”, ou seja, em um número crescente de vacas sendo acasaladas perto dos 30 a 40 dias depois do parto. Esses acasalamentos “precoces” e geralmente menos férteis compensam as vacas não inseminadas até 100 a 120 dias em lactação (DEL), resultando no que pode parecer um aceitável DPC.

Na realidade, pode haver oportunidades consideráveis para melhorar o desempenho reprodutivo por meio da redução da variação no DPC, usando programas de reprodução sistemáticos pelo uso de hormônios. Qualquer rebanho com vacas superiores a 100 dias de intervalo entre parto e concepção (IPC) apresenta uma oportunidade considerável para a reprodução programada, por demonstrar um retorno significativo sobre o investimento. O intervalo entre as inseminações é outro bom indicador das oportunidades para a reprodução programada para o retorno do investimento em um determinado rebanho. Com

diagnóstico de gestação realizado em 30 a 45 dias e reinseminação imediata, poucas vacas devem exceder 50 a 55 dias entre cruzamentos.

O método tradicional de injetar prostaglandina em vacas diagnosticadas abertas resulta, porém, na metade delas reinseminada em 3 a 5 dias, enquanto a outra metade passa despercebida, resultando em intervalos extensos para um segundo serviço. Implementar protocolos de inseminação programada para vacas abertas no diagnóstico garante que elas serão inseminadas em tempo hábil.

Os primeiros estudos sobre o controle do ciclo estral foram realizados no início da década de 1940. Esses trabalhos utilizavam repetidas injeções de progesterona por 14 dias e apresentavam alta taxa de expressão de cio, porém baixa fertilidade (JÖCHLE, 1993). Nos anos 1950, vários progestágenos (principalmente o acetato de melengestrol – MGA), administrados por via oral, passaram a substituir as repetidas injeções de progesterona (ZIMBELMAN; SMITH, 1966). Entretanto, a necessidade da administração diária de hormônio e a baixa fertilidade persistiam. Os problemas de fertilidade subsequentes aos tratamentos com progesterona aparentemente ocorriam em decorrência do desenvolvimento de folículos persistentes e da reduzida competência ovocitária (ANDERSON; DAY, 1994; MIHM et al., 1994).

No início dos anos 1970, surgiram os primeiros dispositivos auriculares liberadores de progesterona (Norgestomet) (WILTBANK et al., 1971), que dispensavam a necessidade de administração diária. Entretanto, somente na década de 1970, com a descoberta da prostaglandina como fator uterino luteolítico (DOUGLAS; GINTHER, 1973; MCCRACKEN et al., 1972), é que houve considerável aumento nas taxas de concepção, quando uma injeção de prostaglandina foi associada aos protocolos com progestágeno.

Com a melhora na habilidade de controle do desenvolvimento folicular ovariano, a duração dos tratamentos progestágenos nos protocolos de sincronização tem sido progressivamente reduzida. Estudos realizados na década de 1990 demonstraram que a administração de estradiol em associação com os progestágenos sincronizou o desenvolvimento folicular, o que permitiu que o tempo dos tratamentos com progestágenos fosse reduzido (aproximadamente 1 semana) e que a fertilidade aceitável para IATF fosse alcançada (BO et al., 1995). Bo et al. (1994) verificaram que o tratamento com 17β -estradiol associado aos progestágenos é capaz de provocar regressão folicular, resultando na emergência de uma nova onda folicular, em média 4,3 dias após o tratamento. Esses estudos, realizados principalmente a partir da segunda metade da década de 1990, representam um marco no manejo reprodutivo nos sistemas de produção de leite e carne no Brasil. Esses tratamentos hormonais têm por finalidade, principalmente: sincronizar a onda folicular durante o tratamento, obter um

folículo dominante saudável ao final do tratamento e prevenir uma prematura luteólise após a indução da ovulação em vacas em anestro e novilhas pré-púberes.

Depois do estabelecimento de protocolos que utilizam a associação entre progesterona, estradiol e PGF2 alfa, houve ampla disseminação da IA no Brasil. Segundo dados da Associação Brasileira de Inseminação Artificial (Asbia), a comercialização de sêmen no Brasil cresceu mais de 300% no período entre 2000 e 2011 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL, 2015). Principalmente nas últimas duas décadas, várias associações hormonais vêm sendo amplamente utilizadas para a realização da inseminação artificial de vacas em tempo fixo (IATF), sendo que o sucesso desses protocolos, assim como o seu impacto econômico, já foram muito bem descritos (BARUSELLI et al., 2004; BO et al., 1994, 1995, 2003).

Apesar da efetividade dos protocolos disponíveis no mercado, vários estudos têm sido conduzidos para avaliar os diferentes fatores que podem afetar os resultados da IATF, estando entre eles: associações e concentrações hormonais, tempo dos tratamentos, categoria animal e raça que melhor responde aos tratamentos. No entanto, muito pouco se tem evoluído no propósito de aumentar os índices reprodutivos da IATF, sendo que a grande maioria dos estudos descreve taxas de prenhez em torno de 40% a 60%. Nesse âmbito, Meneghetti et al. (2009) e Sá Filho et al. (2009), recorrendo a um extenso banco de dados (mais de 64 mil IATFs), publicaram duas revisões bibliográficas, em que são descritos alguns dos principais fatores que afetam os resultados dos protocolos hormonais que utilizam progesterona, estradiol e prostaglandina F2 alfa (PGF2 alfa), sendo a associação hormonal a mais utilizada para IATF no Brasil.

Entre os fatores que podem contribuir para a fertilidade dos protocolos, nessas revisões foram avaliados os seguintes: dose de PGF2 alfa utilizada, condição corporal das fêmeas, indutor de ovulação [cipionato de estradiol (ECP) vs. benzoato de estradiol (BE) vs. hormônio liberador de gonadotrofina¹ (GnRH)] utilizado, ciclicidade dos animais, ordem de parto, diâmetro do folículo ovulatório, número de vezes em que o implante de progesterona foi utilizado, dose de gonadotrofina coriônica equina (eCG), entre outros. Entretanto, apesar da grande variedade de hipóteses e tratamentos avaliados nesses e em tantos outros estudos, as taxas de prenhez dificilmente conseguem ultrapassar 55%. Além disso, Cerri et al. (2011a, 2011b) tentaram elucidar, com mais precisão, o efeito da concentração de progesterona, durante o crescimento folicular, sobre a resposta uterina e sobre o desenvolvimento embrionário subsequente aos protocolos de IATF.

¹ Em inglês: *gonadotropin-releasing hormone*.

Estudos recentes (BISINOTTO et al., 2010; WILTBANK et al., 2012) têm mostrado que um aumento nos níveis de progesterona antes da IATF é capaz de elevar a taxa de fertilidade, embora os mecanismos responsáveis por essa elevação não estejam esclarecidos. É indicado que os níveis de progesterona devem sofrer queda na época próxima à IATF. Já se sabe que, quando ocorre luteólise incompleta, a fertilidade do protocolo é baixa. No entanto, muitos fatores fisiológicos podem estar relacionados à alta da progesterona pouco antes da inseminação artificial, e à baixa fertilidade, como a contração do oviduto ou a alteração no útero provocada pela progesterona que dificulta o transporte do esperma ou oócito (HUNTER, 2005), e a redução da espessura endometrial causada por rápidas elevações da progesterona (SOUZA et al., 2011). Após a IATF, é necessário um novo aumento nos níveis de progesterona P4 para que o ambiente uterino fique propício à manutenção da gestação; porém, pesquisas revelaram que o tratamento com progesterona não tem efeito direto sobre o embrião no estágio inicial de seu desenvolvimento (CARTER et al., 2008, 2010; CLEMENTE et al., 2009; LARSON et al., 2011). Apesar do mérito científico dos estudos realizados, pouco foi elucidado em relação à qualidade embrionária. Além desses estudos, dificilmente são observados resultados de IATF em fêmeas bovinas com taxas de prenhez acima de 50%. Dessa forma, as novas necessidades e descobertas ainda permitem que os protocolos disponíveis sejam aperfeiçoados ou, então, adaptados a diferentes realidades e exigências, sejam essas de cunho produtivo, sejam de natureza econômica.

Como saber se seu rebanho necessita de um programa de IATF? Se o primeiro serviço está acima dos 80 dias em lactação (DEL), provavelmente um programa de IATF vai melhorar seus índices reprodutivos.

Métodos de sincronização de cios

PGF2 alfa

A prostaglandina F2 alfa (PGF2 alfa) e seus análogos são os hormônios mais utilizados na sincronização de cio. Porém, a PGF2 alfa apresenta algumas restrições de uso, tais como: a) necessidade de haver pessoas qualificadas para a detecção de cio; b) necessidade de que todas as fêmeas estejam ciclando e na fase de diestro no momento da injeção; e c) alta variabilidade das respostas ao tratamento, de 2 a 5 dias após a aplicação.

Vários estudos sobre o uso de prostaglandinas, realizados na década de 1990, demonstraram que a variação do intervalo entre a aplicação aos sinais de cio e a ovulação

pode ser atribuída ao estado da onda folicular no momento do tratamento. Se a luteólise for induzida antes da metade do período estático do folículo dominante, indicará que esse será o folículo ovulatório, sendo que o intervalo entre tratamento e cio será curto, ou seja, entre 2 e 3 dias. Porém, se a luteólise for induzida após esse momento, o folículo ovulatório será o da próxima onda folicular, e o intervalo entre o tratamento e o cio será maior, entre 4 e 6 dias (ODDE, 1990). Além disso, estudos revelam que a PGF2 alfa não é efetiva nos primeiros 5 dias do ciclo estral. Um dos protocolos de sincronização de cios mais usados e dos mais eficientes é o da administração de duas doses de PGF2 alfa em um intervalo de 11 a 14 dias, o que possibilita que todos os animais tratados estejam em fase luteal no momento da segunda aplicação (MACMILLAN; DAY, 1982). Esse método é facilmente aplicado a vacas secas, pois provavelmente se encontram com atividade estral. O conhecimento das características comportamentais durante o estro é de grande importância para o emprego de um programa de sincronização de cios com PGF2 alfa, uma vez que sua aplicação pode ficar comprometida simplesmente em virtude da baixa eficiência na detecção de estro.

Como a PGF2 alfa é um hormônio que só tem ação durante o diestro da fêmea, os principais métodos de sincronização com PGF2 alfa são:

- Aplicação de duas doses de PGF2 alfa com intervalos de 11 a 14 dias. Dessa forma, espera-se que entre 50% e 70% das fêmeas entrem em cio depois da primeira aplicação, sendo que, de 11 a 14 dias após a primeira dose, as fêmeas que não responderam ao primeiro tratamento estarão em diestro no momento da aplicação da segunda dose.
- Detecção do corpo lúteo (CL) pela palpação retal e aplicação de PGF2 alfa nas fêmeas que apresentarem CL. Essa forma simplificada de realizar a sincronização de estro é bastante interessante sob o aspecto econômico, pois somente fêmeas em diestro receberão PGF2 alfa; entretanto, o grau de erro na detecção dos CL pode ser elevado, a depender da habilidade do técnico.
- Visualização de cio por 5 dias, aplicação de PGF2 alfa no sexto dia e posterior visualização de cios por mais 5 dias. Esse método visa economizar uma dose de PGF2 alfa; entretanto, devem ser detectados cios por vários dias. Essa técnica se baseia na fase do ciclo estral, pois as fêmeas que entrarem em cio durante 5 dias serão aquelas que estavam em proestro no início da observação de cios. Essas serão inseminadas quando percebidas em cio dentro dos 5 primeiros dias. No sexto dia, aplica-se PGF2 alfa, pois as que não entraram em cio antes estarão em diestro ou em proestro, de forma que devem demonstrar cio nos próximos 5 dias de observação.

GnRH e suas associações

Dois protocolos muito usados para sincronizar a ovulação de vacas de leite são o Ovsynch e o Heatsynch, que consistem basicamente no esquema de tratamento descrito a seguir.

A administração de GnRH e seus agonistas (GnRHa) induz a liberação de hormônio luteinizante (*luteinizing hormonal* – LH) e FSH. A liberação de LH induz a ovulação ou a luteinização de grandes folículos presentes no momento do tratamento; com isso, ocorre a queda das concentrações de estradiol e, conseqüentemente, a liberação de FSH, culminando com o recrutamento de uma nova onda folicular dentro de 2 dias.

O mecanismo de ação do GnRH consiste em induzir a liberação de LH, resultando em ovulação ou luteinização do folículo dominante, induzindo, conseqüentemente, a emergência de uma nova onda folicular. A administração de PGF2 alfa em protocolos Ovsynch, 7 dias após a primeira injeção de GnRH, tem função de induzir a luteólise. Dessa forma, 2 dias após a PGF2 alfa, deve-se injetar GnRH com a intenção de induzir outro pico de LH e sincronizar a ovulação do folículo dominante presente (MARTINEZ et al., 2001). O sistema Ovsynch demonstra melhores resultados quando usado em vacas do que em novilhas. O GnRH nem sempre resulta em ovulação ou luteinização do folículo dominante em novilhas. Vale ressaltar que a emergência folicular será efetiva somente quando o tratamento causar ovulação (MARTINEZ et al., 1999). Para novilhas, tem-se obtido maior taxa na sincronização quando, entre o GnRH e a PGF2 alfa, for administrado um implante de progesterona, visando prevenir o aparecimento do cio, que, em muitos casos, ocorre antes da segunda dose de GnRH (MARTINEZ et al., 2001).

Estudos indicam que, entre os dias 5 e 12 do ciclo estral, é o melhor momento para se iniciar o protocolo Ovsynch. Em contraste, quando não há um folículo dominante no ovário no momento da primeira aplicação de GnRH, pode não ocorrer a ovulação, com a conseqüente não formação do corpo lúteo (CL). Nesse estágio, vacas que possuem apenas duas ondas foliculares comumente possuem menos chance de apresentar folículo dominante, que não é responsivo ao GnRH. Conseqüentemente, não há formação de um CL. Outra fase crítica para o uso do Ovsynch é quando o ovário se encontra no metaestro, antes que a fêmea desenvolva um folículo dominante capaz de responder ao GnRH. Alguns estudos indicam que a IATF deve ser feita 12 horas depois da segunda injeção de GnRH (CERRI et al., 2011a, 2011b).

Algumas estratégias vêm sendo desenvolvidas para minimizar o número de vacas que se encontram nesses estágios críticos do ciclo estral no início do tratamento Ovsynch. Um método amplamente difundido, principalmente nos rebanhos dos Estados Unidos e do Canadá, é a aplicação de duas doses de PGF2 alfa em um intervalo de 14 dias, sendo que o Ovsynch deve ser iniciado 10 dias após a segunda dose de PGF. Com esse tratamento, se todas as vacas estiverem ciclando, espera-se que 90% das vacas estejam no momento ideal para começar o protocolo, podendo-se obter uma taxa de prenhez entre 35% e 50%.

Uma variação do Ovsynch que tem sido amplamente estudada na última década é o Heatsynch, que consiste basicamente na alteração do indutor de ovulação. Em vez de usar GnRH, usa-se um éster de estradiol: 1 mg de BE ou 300 µg de cipionato de estradiol (ECP), um dia após a aplicação de prostaglandina (PGF). Normalmente, quando se utilizam esses protocolos, a inseminação artificial deve ocorrer após a observação de cio ou em tempo fixo, 54 horas após a injeção de PGF quando se utiliza BE, ou 72 horas após quando se utiliza ECP. Protocolos que utilizam GnRH e PGF são adequados para fazendas leiteiras que não descartam leite em virtude do resíduo hormonal, pois, de acordo com a formulação, o fabricante e o éster de estradiol utilizado (BE ou ECP), o período de carência do produto pode ser de até 30 dias para o leite, o que pode inviabilizar o uso de um programa de IATF.

Associação de progestágenos e estradiol

A associação de ésteres de estradiol e progestágenos permitiu que o período de duração de exposição à progesterona poderia ser encurtado para cerca de 7 a 9 dias, se o estradiol fosse administrado no início do tratamento. A função principal do estradiol é induzir a regressão dos folículos antrais em crescimento (BO et al., 1994). O mecanismo pelo qual o estradiol causa regressão folicular envolve a inibição do FSH até que o estradiol seja metabolizado. A partir de então, o FSH volta a aumentar seus níveis, e uma nova onda folicular é recrutada.

Os mecanismos-chave dos protocolos que utilizam progesterona e estradiol são: a) sincronizar a onda folicular; b) prevenir uma prematura luteólise; e c) permitir o desenvolvimento de um folículo dominante saudável ao final do tratamento.

A administração contínua de progesterona inibe a liberação de LH e, no momento em que se interrompe o seu fornecimento, ocorre uma onda de LH que pode induzir o crescimento ou a maturação final do folículo pré-ovulatório, culminando com a ovulação. A progesterona exógena é responsável pela redução do número de receptores para

estradiol no hipotálamo, o que reduz a inibição ao eixo hipotalâmico. Essa característica torna a progesterona um hormônio essencial para uso em vacas em anestro pós-parto.

A associação de progestágenos (análogos de progesterona) e ésteres de estradiol induz o aparecimento de uma nova onda folicular, cerca de 3 a 5 dias após a aplicação do estradiol, além de prevenir a ovulação durante o tratamento. Além disso, o progestágeno serve para sensibilizar o útero para a concepção, pois a exposição prévia do útero à progesterona é essencial para a concepção. Essa exposição do útero à progesterona chama-se *priming* de progesterona. Os protocolos de IATF que utilizam progesterona e estradiol consistem na colocação de um implante (intravaginal ou auricular) de progesterona, que permanece por 7 a 9 dias; logo após a sua retirada, deve-se utilizar um indutor de ovulação (ex.: estradiol, GnRH, LH ou gonadotrofina coriônica humana² – hCG).

Quando os protocolos baseados na aplicação de progestágenos são utilizados, é preciso aplicar um estrógeno – BE, ECP ou valerato de estradiol (VE) – no início do tratamento. Essa aplicação faz os folículos que estão em crescimento regredirem. Dessa forma, permite a sincronização da onda folicular, servindo também para provocar a ovulação na presença de um folículo dominante. A diferença entre os diferentes estrógenos para utilização em programas de sincronização é a meia-vida de cada um deles: enquanto o BE tem uma meia-vida mais curta, o ECP tem uma meia-vida mais longa.

O uso de hormônios que incrementam o crescimento e a maturação final do folículo pode ser uma boa opção, principalmente em vacas em anestro ou em vacas com baixa condição corporal. Vacas tratadas com eCG mostraram maior taxa de ovulação do que vacas tratadas com estradiol. Quando os protocolos de IATF são aplicados em vacas com baixa CC e no período pós-parto recente (± 60 DPP), alguns estudos indicam o uso de eCG ou FSH no momento da retirada dos implantes de progesterona; assim, ocasionará um aumento tanto dos níveis de FSH quanto dos de LH, principalmente quando se usa o eCG para melhorar o crescimento e a maturação final do folículo ovulatório. Entretanto, o mesmo resultado benéfico não tem sido registrado quando o eCG é aplicado em vacas com adequada CC (> 3). Aqui, cumpre informar que a associação entre os progestágenos e a aplicação de BE no início dos tratamentos são procedimentos de suma importância para que ocorra a formação de uma nova onda folicular em torno de 4 dias após o início do tratamento.

Os protocolos de IATF amplamente usados para vacas de leite estão descritos na Figura 1.

² Em inglês *human chorionic gonadotropin*.

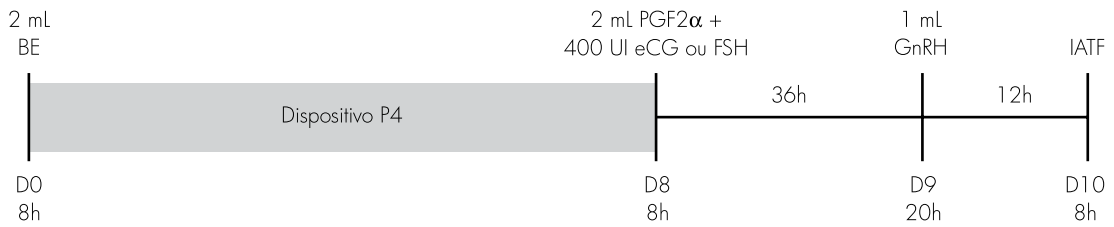


Figura 1. Protocolo-base de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) para vacas de leite pós-parto.

Vários estudos têm demonstrado a importância de obter baixos níveis de progesterona no momento da IATF (Figura 2). Dessa forma, pode-se optar por injetar a dose luteolítica de PGF um dia antes da retirada do implante, conforme demonstrado (Figura 3).

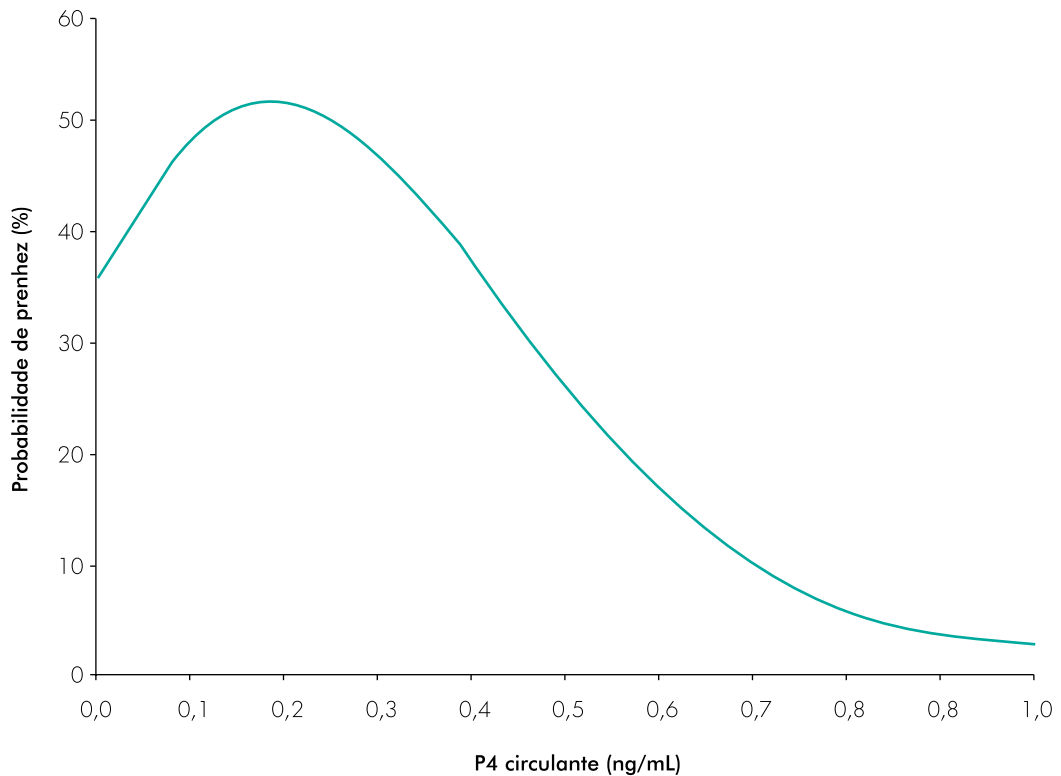


Figura 2. Probabilidade de prenhez em relação à concentração de progesterona logo após a retirada do implante intravaginal em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) para vacas de leite.

Fonte: adaptado de Wiltbank et al. (2014).

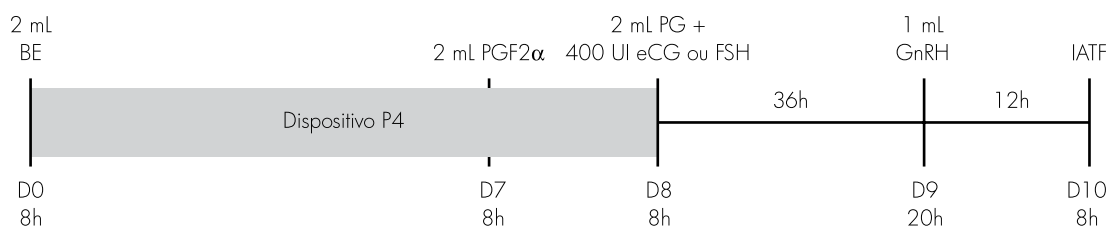


Figura 3. Protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) para vacas de leite pós-parto em que se adiantou em 1 dia a injeção de PGF2 alfa, para que fossem obtidas baixas concentrações de progesterona logo após a retirada do implante intravaginal.

Referências

- ANDERSON, L. H.; DAY, M. L. Acute progesterone administration regresses persistent dominant follicles and improves fertility of cattle in which estrus was synchronized with melengestrol acetate. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 11, p. 2955-2961, 1994.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL. **Relatórios**: a ASBIA apresenta o relatório de comercialização de sêmen. Disponível em: <<http://www.asbia.org.br/novo/relatorios/.html>>. Acesso em: 26 nov. 2015.
- BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BO, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 479-486, 2004.
- BISINOTTO, R. S.; CHEBEL, R. C.; SANTOS, J. E. P. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 8, p. 3578-3587, 2010.
- BO, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology**, v. 43, n. 1, p. 31-40, 1995.
- BO, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; TRÍBULO, H.; CACCIA, M.; MAPLETOFT, R. J. Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v. 41, n. 8, p. 1555-1569, 1994.
- BO, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTINEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 307-326, 2003.
- CARTER, F.; FORDE, N.; DUFFY, P.; WADE, M.; FAIR, T.; CROWE, M. A.; EVANS, A. C. O.; KENNY, D. A.; ROCHE, J. F.; LONERGAN, P. Effect of increasing progesterone concentration from day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction Fertility and Development**, v. 20, n. 3, p. 368-375, 2008.
- CARTER, F.; RINGS, F.; MAMO, S.; HOLKER, M.; KUZMANY, A.; BESENFELDER, U.; HAVLICEK, V.; MEHTA, J. P.; TESFAYE, D.; SCHELLANDER, K.; LONERGAN, P. Effect of elevated circulating progesterone concentration on bovine blastocyst development and global transcriptome following endoscopic transfer of in vitro produced embryos to the bovine oviduct. **Biology Reproduction**, v. 83, n. 5, p. 707-719, 2010.
- CERRI, R. L.; CHEBEL, R. C.; RIVERA, F.; NARCISO, C. D.; OLEIVEIRA, R. A.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: I. Ovarian and embryonic responses. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 7, p. 3342-3351, 2011b.

CERRI, R. L.; CHEBEL, R. C.; RIVERA, F.; NARCISO, C. D.; OLIVEIRA, R. A.; AMSTALDEN, M.; BAEZ-SANDOVAL, G. M.; OLIVEIRA, L. J.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: II. Ovarian and uterine responses. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 7, p. 3352-3365, 2011a.

CLEMENTE, M.; FUENTE, J. de la; FAIR, T.; AL NAIB, A.; GUTIERREZ-ADAN, A.; ROCHE, J. F.; RIZOS, D.; LONERGAN, P. Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? **Reproduction**, v. 138, n. 3, p. 507-517, 2009.

DOUGLAS, R. H.; GINTHER, O. J. Luteolysis following a single injection of prostaglandin F₂alpha in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 37, n. 4, p. 990-993, 1973.

HUNTER, R. H. F. The Fallopian tubes in domestic mammals: how vital in their physiological activity? **Reproduction Nutrition Development**, v. 45, n. 3, p. 281-290, 2005.

JÖCHLE, W. Forty years of control of the oestrous cycle in ruminants: progress made, unresolved problems and the potential impact of sperm encapsulation technology. **Reproduction Fertility Development**, v. 5, n. 6, p. 587-594, 1993.

LARSON, J. E.; KRISHER, R. L.; LAMB, G. C. Effect of supplemental progesterone on the development, metabolism and blastocyst cell number of bovine embryos produced in vitro. **Reproduction Fertility Development**, v. 23, n. 2, p. 311-318, 2011.

MACMILLAN, K. L.; DAY, A. M. Prostaglandin F₂(alpha): A fertility drug in dairy cattle? **Theriogenology**, v. 18, n. 3, p. 245-253, 1982.

MARTINEZ, M. F.; ADAMS, G. P.; BERGFELT, D. R.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 57, n. 1-2, p. 23-33, 1999.

MARTINEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; ADAMS, G. P.; MAPLETOFT, R. J. The use of GnRH or estradiol to facilitate fixed-time insemination in an MGA-based synchronization regimen in beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 67, n. 3-4, p. 221-229, 2001.

MCCRACKEN, J. A.; CARLSON, J. C.; GLEW, M. E.; GODING, J. R.; BAIRD, D. T.; GREEN, K.; SAMUELSSON, B. Prostaglandin F₂ identified as a luteolytic hormone in sheep. **Nature New Biology**, v. 238, n. 83, p. 129-134, 1972.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, n. 2, p. 179-189, 2009.

MIHM, M.; BAGUISI, A.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. **Journal Reproduction Fertility**, v. 102, n. 1, p. 123-130, 1994.

ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal Animal Science**, v. 68, n. 3, p. 817-830, 1990.

SÁ FILHO, O. G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R. F.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v. 72, n. 2, p. 210-218, 2009.

SOUZA, A. H.; SILVA, E. P. B.; CUNHA, A. P.; GUMEN, A.; AYRES, H.; BRUSVEEN, D. J.; GUENTER, J. N.; WILTBANK, M. C. Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. **Theriogenology**, v. 75, n. 4, p. 722-733, 2011.

WILTBANK, J. N.; STURGES, J. C.; WIDEMAN, D.; LEFEVER, D. G.; FAULKNER, L. D. Control of estrus and ovulation using subcutaneous implants and estrogens in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 33, n. 3, p. 600-606, 1971.

WILTBANK, M. C.; SOUZA, A. H.; CARVALHO, P. D.; CUNHA, A. P.; GIORDANO, J. O.; FRICKE, P. M.; BAEZ, G. M.; DISKIN, M. G. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. **Animal**, v. 8, p. 70-81, 2014. Supplement 1.

WILTBANK, M. C.; SOUZA, A. H.; GIORDANO, J. O.; NASCIMENTO, A. B.; VASCONCELOS, J. M.; PEREIRA, M. H. C.; FRICKE, P. M.; SURJUS, R. S.; ZINSLY, F. C. S.; CARVALHO, P. D.; BENDER, R. W.; SARTORI, R. Os efeitos positivos e negativos da progesterona durante protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de leite lactantes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 26., 2012, Foz do Iguaçu. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, 2012. p. 130-139.

ZIMBELMAN, R. G.; SMITH, L. W. Control of ovulation in cattle with melengestrol acetate: I. Effect of dosage and route of administration. **Journal of Reproduction Fertility**, v. 11, n. 2, p. 185-191, 1966.

INTER-RELAÇÕES ENTRE BALANÇO ENERGÉTICO E FUNÇÃO REPRODUTIVA EM VACAS LEITEIRAS

Augusto Schneider
Luiz Francisco Machado Pfeifer
Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro

Introdução

O período de transição entre a gestação e a lactação é crítico para definir o desempenho reprodutivo de uma vaca. O retorno à atividade ovariana e a concepção em no máximo 100 dias após o parto são essenciais para garantir a lucratividade de um sistema pecuário, seja de corte, seja de leite (ROCHE et al., 2000). Em vacas no terço final da gestação e início da lactação, as demandas energéticas aumentam muito e ultrapassam a capacidade e/ou a disponibilidade de alimento, fazendo-a entrar em balanço energético negativo (BEN) (BAUMAN; CURRIE, 1980). A duração e a intensidade do BEN estão negativamente associadas ao desempenho reprodutivo. Assim, vacas em BEN mais severo sofrem um atraso no retorno à atividade ovariana pós-parto e, conseqüentemente, um atraso no momento da concepção (BUTLER; SMITH, 1989). É sabido, a propósito, que quanto mais ciclos estrais houver antes do momento da primeira inseminação, maior será a taxa de prenhez (THATCHER; WILCOX, 1973). Durante o BEN, muitos hormônios e metabólitos estão alterados (WATHES et al., 2007).

O processo reprodutivo envolve eventos endócrinos e metabólicos, que iniciam muito antes do momento da concepção. Durante o período que precede a ovulação, um folículo emerge de um grupo de pequenos folículos primordiais e, em aproximadamente 40 dias, ele se desenvolve até atingir o estágio de folículo antral. Para atingir o estágio pré-ovulatório, são necessários mais 40 dias. Portanto, são necessários aproximadamente 80 dias para o desenvolvimento completo de um folículo antes do momento da ovulação

(SCARAMUZZI et al., 2011). Durante todo esse período, o folículo está suscetível a regulações do ambiente metabólico, sendo influenciado pelo status nutricional do animal.

A regulação da reprodução pelo estado metabólico da vaca se dá pela ação de mediadores e hormônios metabólicos, os quais podem atuar tanto no hipotálamo quanto na hipófise, regulando a produção e a liberação de gonadotrofinas, como diretamente no ovário e no útero, alterando a qualidade oocitária e a fertilidade, por meio da regulação de fatores de crescimento e seus receptores.

Logo após o parto, em decorrência do intenso BEN, vacas leiteiras sofrem uma redução drástica no nível sanguíneo de insulina, em virtude da drenagem de glicose pela glândula mamária, para a síntese da lactose (BUTLER et al., 2003). Essa redução no nível de insulina leva à redução na expressão hepática do receptor do hormônio do crescimento (*growth hormone receptor* – GHR), especialmente da variante GHR 1A (BUTLER et al., 2003), que compreende 50% do GHR hepático (JIANG; LUCY, 2001). Como o fator de crescimento semelhante à insulina (*insulin-like growth factor type I* – IGF-I) é produzido em resposta à ativação do GHR pelo hormônio do crescimento (*growth hormone* – GH) (JONES; CLEMMONS, 1995), nessa situação há uma dissociação do eixo GH/IGF-I, pois, com a redução do GHR, há uma redução tanto na expressão hepática quanto no nível circulante de IGF-I (FENWICK et al., 2008). Como consequência da redução do nível de IGF-I, o feedback negativo realizado pelo IGF-I na secreção de GH também diminui, e o nível circulante de GH aumenta (BUTLER et al., 2003). Essa elevação do nível de GH é benéfica para a produção de leite, pois estimula a lipólise e aumenta a disponibilidade de glicose para a síntese de leite pela glândula mamária (BELL, 1995). Em virtude do aumento da lipólise nesse período, aumentam os níveis de ácidos graxos não esterificados (*non-esterified fat acids* – NEFA) e há perda das reservas de gordura, o que pode ser notado na redução do escore de condição corporal (ECC) (REIST et al., 2003).

O IGF-I circulante desempenha um papel fundamental na reprodução. O nível sanguíneo de IGF-I está relacionado à idade ao primeiro parto (YILMAZ et al., 2006), ao retorno à atividade ovariana pós-parto (BUTLER et al., 2006) e à sobrevivência embrionária (VELAZQUEZ et al., 2005). O IGF-I atua no crescimento e na diferenciação de folículos antrais (RIVERA; FORTUNE, 2003). Assim, a queda do nível de IGF-I no período pós-parto leva ao atraso no desenvolvimento de folículos antrais e, conseqüentemente, da ovulação. Vários trabalhos demonstram que vacas que ovulam o folículo dominante da primeira onda pós-parto têm maiores níveis sanguíneos de IGF-I do que vacas anovulatórias (BUTLER et al., 2006; KAWASHIMA et al., 2007). Outro estudo indica que a mutação no gene do GHR está associada a uma maior concentração sérica de IGF-I no período pós-parto recente e a um menor intervalo entre parto e concepção em vacas da raça Holandesa (SCHNEIDER et al., 2013a).

O sistema IGF está diretamente envolvido no crescimento e na diferenciação dos folículos ovarianos, e é constituído pelo IGF-I, pelo IGF-II, por receptores para IGF, pelas proteínas de ligação (*insulin-like growth factor-binding protein* – IGFBP) e pelas proteases do IGFBP. O IGF-I atua aumentando a responsividade às gonadotrofinas hipofisiárias, estimulando a esteroidogênese (ARMSTRONG; WEBB, 1997) e reduzindo o nível de apoptose nas células da teca e da granulosa (EL-ROEY et al., 1994).

Uma das primeiras mudanças detectáveis no futuro folículo dominante é o aumento da produção de proteína-A plasmática associada à prenhez (*pregnancy-associated plasma protein-A* – PAPP-A) induzida pelo hormônio folículo-estimulante (*follicle stimulating hormone* – FSH). A PAPP-A é uma protease que degrada a IGFBP-4 e a IGFBP-5, induzindo, consequentemente, o aumento das concentrações intrafoliculares de IGF-I livre, que vai atuar, juntamente com o FSH, no aumento da síntese de estradiol e na supressão do FSH plasmático, evitando que os folículos subordinados adquiram PAPP-A e se tornem dominantes (SCARAMUZZI et al., 2011). A concentração intrafolicular de IGF-I está correlacionada com a concentração sérica, sendo que a produção ovariana de IGF-I é muito baixa (LUCY, 2011). Como já explicado, as reduções séricas de IGF-I são determinantes para definir o destino do folículo dominante: alta produção de estradiol e ovulação ou baixa produção de estradiol e atresia.

Conforme descrito anteriormente, a concentração sérica de insulina fica reduzida durante o BEN. A insulina, assim como o IGF-I, é um importante regulador da atividade ovariana, e seus efeitos são positivos sobre as células ovarianas. A função reprodutiva da insulina é, a propósito, um tema bastante estudado.

No ovário, os receptores de insulina estão amplamente distribuídos pelos diferentes tipos celulares, incluindo teca, granulosa e estroma (PORETSKY; KALIN, 1987). Entre as diversas funções da insulina no ovário, destacam-se: estímulo direto da esteroidogênese, atuação sinérgica entre o hormônio luteinizante (*luteinizing hormone* – LH) e o hormônio folículo-estimulante (FSH) no estímulo da esteroidogênese e aumento do número de receptores para LH nas células da granulosa (PORETSKY et al., 1999).

Estudos demonstraram que a administração exógena de insulina nos primeiros dias após o parto aumenta, de maneira significativa, o crescimento do folículo dominante e sua produção de estradiol (BUTLER et al., 2004). Assim, o fornecimento de uma dieta que vise aumentar os níveis circulantes de insulina em gado leiteiro reduz o intervalo entre o parto e a primeira ovulação (GONG et al., 2002), mostrando que a insulina é um importante mediador dos efeitos do BEN sobre a foliculogênese pós-parto, e que a manipulação de seus níveis pode resultar em aumento da eficiência reprodutiva. Além disso, foram identificados

receptores para a insulina no núcleo arqueado e no hipotálamo médio basal, regiões do cérebro que contêm os neurônios secretores do hormônio liberador de gonadotrofina (*gonadotropin-releasing hormone* – GnRH) (HOUTEN et al., 1979), e foi demonstrado que a insulina pode estimular a liberação de GnRH (ARIAS et al., 1992). Portanto, além do efeito direto da esteroidogênese ovariana, a concentração sérica de insulina pode afetar a quantidade de LH secretado, podendo, assim, alterar o padrão de produção de estradiol pelo folículo e a chance de ovulação.

No período pós-parto, com a queda das concentrações séricas de insulina e com o aumento da secreção de GH, há maior estímulo à mobilização das reservas de gorduras corporais ou lipólise. Com isso, há uma grande liberação de Nefa na corrente sanguínea, como consequência da quebra do triacilglicerol armazenado. A concentração sérica de Nefa começa a aumentar aproximadamente 2 semanas antes do parto e atinge seu pico em torno de 10 dias após o parto, no momento do pico do BEN (CONTRERAS; SORDILLO, 2011).

O Nefa é constituído principalmente de ácidos graxos saturados, incluindo palmítico e estearato, além do ácido graxo monoinsaturado e do ácido oleico (CONTRERAS; SORDILLO, 2011). A liberação exagerada de Nefa na circulação está associada com a queda no desempenho produtivo do animal e a ocorrência de desordens no periparto (CHAPINAL et al., 2012).

Descobriu-se que, no período pós-parto recente, a concentração de Nefa no fluido folicular se mantém proporcional aos níveis séricos, mas significativamente mais baixa no fluido folicular, protegendo o ovócito e as células do *cumulus* contra os efeitos danosos das altas concentrações de Nefa (LEROY et al., 2004). Existe uma correlação negativa entre as concentrações intrafoliculares de Agne e estradiol (JORRITSMA et al., 2003), pois altas concentrações de Nefa inibem a ação estimulatória da insulina nas células da granulosa (BAJAJ et al., 2002; BODEN et al., 2002), diminuindo a esteroidogênese. Um excesso de Nefa circulante pode levar à produção exagerada de acetil CoA, que pode ser parcialmente oxidado pelo fígado em corpos cetônicos, dos quais o principal é o β -hidroxibutirato (β -HBO).

A concentração de Nefa indica a extensão da mobilização de gordura corporal, enquanto a de β -HBO indica a oxidação de ácidos graxos. Os níveis de β -HBO também são proporcionais entre o soro e o fluido folicular (LEROY et al., 2004). A concentração de β -HBO é significativamente elevada entre o período do parto e a primeira ovulação em vacas que apresentam um retorno tardio à ciclicidade (REIST et al., 2000), demonstrando que esse pode ser um bom indicador da relação entre o BEN e o atraso no retorno à ciclicidade em vacas leiteiras pós-parto.

A avaliação do escore de condição corporal (ECC) é uma ferramenta prática para prever as reservas corporais de gordura (REIST et al., 2003). O ECC diminui concomitantemente com o aumento da produção de leite e com as concentrações de Nefa (WHATES et al., 2013). Vacas com excesso de ECC no período pré-parto ($\geq 3,5$ numa escala de 1 a 5) têm uma redução exagerada da ingestão e rápida perda de ECC no período pós-parto. Já vacas muito magras (ECC $< 2,5$) não recuperam o ECC no período pós-parto. Ambas as situações estão associadas com uma reduzida fertilidade. A perda de mais de uma unidade de ECC no período pós-parto leva a um aumento nos dias em aberto (LÓPEZ-GATIUS et al., 2003).

Outro hormônio que exerce um papel importante na interação entre o estado metabólico e a função reprodutiva é a leptina. A leptina é um hormônio produzido pelas células adiposas; quanto maior a reserva corporal de gordura, maior a concentração sérica de leptina (INGVARTSEN; BOISCLAIR, 2001). Os níveis séricos de leptina começam a declinar algumas semanas antes do parto e continuam reduzidos durante o período pós-parto, refletindo a elevada mobilização de gordura corporal e a redução da ingestão de matéria seca nesse período (BLOCK et al., 2001; REIST et al., 2003). Assim, vacas com um BEN mais severo apresentam menores concentrações de leptina.

A leptina tem um papel central na regulação da ingestão de alimentos por meio do estímulo da produção de neuropeptídeo Y (NPY) (KALRA; CROWLEY, 1992; STEPHENS et al., 1995), que, por sua vez, vai estimular o aumento do comportamento de ingestão de alimentos. Os neurônios que secretam NPY estão muito próximos daqueles que secretam GnRH e, por isso, atuam nos dois eixos, sendo que um aumento da secreção de leptina resulta em redução da secreção de NPY e, conseqüentemente, em aumento da secreção de GnRH e LH, estimulando o desenvolvimento folicular (EVANS; ANDERSON, 2012).

Foram identificadas cinco mutações no gene da leptina em vacas leiteiras, todas associadas à fertilidade, demonstrando a importância desse hormônio no desempenho reprodutivo. As características afetadas consistem na idade ao primeiro serviço, serviços por concepção em novilhas e número de dias em aberto em vacas pós-parto (WATHES et al., 2012).

Os oócitos ovulados de 2 a 4 meses após o parto, no momento em que as primeiras inseminações começam a ser realizadas, atravessam seus estágios iniciais de maturação durante o período crítico do BEN (WATHES et al., 2012). Assim, há evidências de que a qualidade dos oócitos fica comprometida. Cumpre lembrar que os oócitos de vacas de alto mérito genético produzem menos blastocistos do que aqueles de vacas de médio mérito genético (SNIJDERS et al., 2000). Altas concentrações de Nefa são citotóxicas, e a exposição

de oócitos durante a maturação a altas concentrações de Nefa – especialmente aos ácidos oleico, palmítico e esteárico – reduz a qualidade embrionária (HOECK et al., 2011). Assim, fica evidenciado que, além dos efeitos do Nefa sobre a esteroidogênese do folículo dominante, altas concentrações de Nefa no período pós-parto imediato podem afetar a qualidade do oócito ovulado durante os primeiros serviços.

O BEN é acentuado quando a ingestão de matéria seca é reduzida, o que ocorre durante a manifestação de doenças, como a mastite e a metrite no pós-parto recente, que diminuem o apetite da vaca. Nesse sentido, foi demonstrado que vacas que desenvolvem metrite severa nos primeiros dias pós-parto diminuem acentuadamente a ingestão de matéria seca, e é estendido o intervalo entre parto e concepção (GIULIODORI et al., 2013; HUZZEY et al., 2007).

No momento do parto, a maioria dos úteros é infectada por organismos patogênicos. A capacidade da vaca de dar resposta imune a essa infecção é influenciada pela intensidade do BEN no momento do parto (GIULIODORI et al., 2013). Alguns marcadores da inflamação – como a haptoglobina, a paraoxonase e a albumina – têm sido usados como indicadores desse nível de comprometimento da saúde da vaca (SCHNEIDER et al., 2013b). A liberação dessas e de outras proteínas inflamatórias durante infecções no período pós-parto compromete a foliculogênese e a qualidade do oócito (WILLIAMS et al., 2007).

Considerações finais

A interação dos fatores metabólicos com o desempenho reprodutivo é complexa, apresentando múltiplas vias de atuação. No entanto, garantir um período de transição saudável, sem a ocorrência de doenças e com o fornecimento de alimentos em quantidade adequada de energia, vai ajudar a diminuir o intervalo entre parto e ovulação, e entre parto e concepção, além de aumentar a chance de concepção nos primeiros serviços, graças à melhora da qualidade dos oócitos.

Referências

- ARIAS, P.; RODRÍGUEZ, M.; SZWARCFARB, B.; SINAY, I. R.; MOGUILEVSKY, J. A. Effect of insulin on LHRH release by perfused hypothalamic fragments. **Neuroendocrinology**, v. 56, n. 3, p. 415-418, 1992.
- ARMSTRONG, D. G.; WEBB, R. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. **Reviews of Reproduction**, v. 2, n. 3, p. 139-146, 1997.

- BAJAJ, M.; BERRIA, R.; PRATIPANAWATR, T.; KASHYAP, S.; PRATIPANAWATR, W.; BELFORT, R.; CUSI, K.; MANDARINO, L.; DEFRONZO, R. A. Free fatty acid-induced peripheral insulin resistance augments splanchnic glucose uptake in healthy humans. **American Journal of Physiology**, v. 283, n. 2, p. E346-E352, 2002.
- 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.
- BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 9, p. 2804-2819, 1995.
- BLOCK, S. S.; BUTLER, W. R.; EHRHARDT, R. A.; BELL, A. W.; VAN AMBURG, M. E.; BOISCLAIR, Y. R. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. **Journal of Endocrinology**, v. 171, n. 2, p. 339-348, 2001.
- BODEN, G.; CHEUNG, P.; STEIN, T. P.; KRESGE, K.; MOZZOLI, M. FFA cause hepatic insulin resistance by inhibiting insulin suppression of glycogenolysis. **American Journal of Physiology**, v. 283, n. 1, p. E12-E19, 2002.
- BUTLER, S. T.; MARR, A. L.; PELTON, S. H.; RADCLIFF, R. P.; LUCY, M. C.; BUTLER, W. R. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. **Journal of Endocrinology**, v. 176, n. 2, p. 205-217, 2003.
- BUTLER, S. T.; PELTON, S. H.; BUTLER, W. R. Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 8, p. 2938-2951, 2006.
- BUTLER, S. T.; PELTON, S. H.; BUTLER, W. R. Insulin increases 17 β -estradiol production by the dominant follicle of the first postpartum follicle wave in dairy cows. **Reproduction**, v. 127, n. 5, p. 537-545, 2004.
- BUTLER, W. R.; SMITH, R. D. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 3, p. 767-783, 1989.
- CHAPINAL, N.; CARSON, M. E.; LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; GODDEN, S.; CAPEL, M.; SANTOS, J. E. P. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1301-1309, 2012.
- CONTRERAS, G. A.; SORDILLO, L. M. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 34, n. 3, p. 281-289, 2011.
- EL-ROEY, A.; CHEN, X.; ROBERTS, V. J.; SHIMASAKAI, S.; LING, N.; LEROITH, D.; ROBERTS JUNIOR, C. T.; YEN, S. S. Expression of the genes encoding the insulin-like growth factors (IGF-I and II), the IGF and insulin receptors, and IGF-binding proteins-1-6 and the localization of their gene products in normal and polycystic ovary syndrome ovaries. **Journal of Clinical and Endocrinology Metabolism**, v. 78, n. 6, p. 1488-1496, 1994.
- EVANS, J. J.; ANDERSON, G. M. Balancing ovulation and anovulation: integration of the reproductive and energy balance axes by neuropeptides. **Human Reproduction Update**, v. 18, n. 3, p. 313-332, 2012.
- FENWICK, M. A.; FITZPATRICK, R.; KENNY, D. A.; DISKIN, M. G.; PATTON, J.; MURPHY, J. J.; WATHES, D. C. Interrelationships between negative energy balance (NEB) and IGF regulation in liver of lactating dairy cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 34, n. 1, p. 31-44, 2008.
- GIULIODORI, M. J.; MAGNASCO, R. P.; BECU-VILLALOBOS, D.; LACAU-MENGIDO, I. M.; RISCO, C. A.; SOTA, R. L. de la. Metritis in dairy cows: risk factors and reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 6, p. 3621-3631, 2013.
- GONG, J. G.; LEE, W. J.; GARNSWORTHY, P. C.; WEBB, R. Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows. **Reproduction**, v. 123, n. 3, p. 419-427, 2002.
- HOECK, V. van; STURMEY, R. G.; BERMEJO-ALVAREZ, P.; RIZOS, D.; GUTIERREZ-ADAN, A.; LEESE, H. J.; BOLLS, P. E.; LEROY, J. L. Elevated non-esterified fatty acid concentrations during bovine oocyte maturation compromise early embryo physiology. **PLoS One**, v. 6, n. 8, p. e23183, 2011.

- HOUTEN, M. van; POSNER, B. I.; KOPRIWA, B. M.; BRAWER, J. R. Insulin-binding sites in the rat brain: in vivo localization to the circumventricular organs by quantitative radioautography. **Endocrinology**, v. 105, n. 3, p. 666-673, 1979.
- HUZZEY, J. M.; VEIRA, D. M.; WEARY, D. M.; KEYSERLINGK, M. A. von. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 7, p. 3220-3233, 2007.
- INGVARTSEN, K. L.; BOISCLAIR, Y. R. Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 21, n. 4, p. 215-250, 2001.
- JIANG, H.; LUCY, M. C. Involvement of hepatocyte nuclear factor-4 in the expression of the growth hormone receptor 1A messenger ribonucleic acid in bovine liver. **Molecular Endocrinology**, v. 15, n. 6, p. 1023-1034, 2001.
- JONES, J. I.; CLEMMONS, D. R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. **Endocrine Reviews**, v. 16, n. 1, p. 3-34, 1995.
- JORRITSMA, R.; GROOT, M. W.; VOS, P. L.; KRUIP, T. A.; WENSING, T.; NOORDHUIZEN, J. P. Acute fasting in heifers as a model for assessing the relationship between plasma and follicular fluid NEFA concentrations. **Theriogenology**, v. 60, n. 1, p. 151-161, 2003.
- KALRA, S. P.; CROWLEY, W. R. Neuropeptide Y: a novel neuroendocrine peptide in the control of pituitary hormone secretion, and its relation to luteinizing hormone. **Frontiers Neuroendocrinology**, v. 13, n. 1, p. 1-46, 1992.
- KAWASHIMA, C.; SAKAGUCHI, M.; SUZUKI, T.; SASAMOTO, Y.; TAKAHASHI, Y.; MATSUI, M.; MIYAMOTO, A. Metabolic profiles in ovulatory and anovulatory primiparous dairy cows during the first follicular wave postpartum. **Journal of Reproduction and Development**, v. 53, n. 1, p. 113-120, 2007.
- LEROY, J. L. M. R.; VANHOLDER, T.; DELANGHE, J. R.; OPSOMER, G.; VAN SOOM, A.; BOLLS, P. E. J.; DEWULF, J.; DE KRUIF, A. Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum. **Theriogenology**, v. 62, n. 6, p. 1131-1143, 2004.
- LÓPEZ-GATIUS, F.; YÁÑIZ, J.; MADRILES-HELM, D. Effects of body condition score and score change on the reproductive performance of dairy cows: a meta-analysis. **Theriogenology**, v. 59, n. 3-4, p. 801-812, 2003.
- LUCY, M. C. Growth hormone regulation of follicular growth. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 24, n. 1, p. 19-28, 2011.
- PORETSKY, L.; CATALDO, N. A.; ROSENWAKS, Z.; GIUDICEE, L. C. The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. **Endocrine Reviews**, v. 20, n. 4, p. 535-582, 1999.
- PORETSKY, L.; KALIN, M. F. The gonadotropic function of insulin. **Endocrine Reviews**, v. 8, n. 2, p. 132-141, 1987.
- REIST, M.; ERDIN, D.; VON EUW, D.; TSCHUEMPERLIN, K.; LEUENBERGER, H.; DELAUAUD, C.; CHILLIARD, Y.; HAMMON, H. M.; KUENZI, N.; BLUM, J. W. Concentrate feeding strategy in lactating dairy cows: metabolic and endocrine changes with emphasis on leptin. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 5, p. 1690-1706, 2003.
- REIST, M.; KOLLER, A.; BUSATO, A.; KUPFER, A.; BLUM, J. W. First ovulation and ketone bodie status in the early postpartum period of dairy cows. **Theriogenology**, v. 54, n. 5, p. 685-701, 2000.
- RIVERA, G. M.; FORTUNE, J. E. Proteolysis of insulin-like growth factor binding proteins -4 and -5 in bovine follicular fluid: implications for ovarian follicle selection and dominance. **Endocrinology**, v. 144, n. 7, p. 2977-2987, 2003.
- ROCHE, J. F.; MACKAY, D.; DISKIN, M. D. Reproductive management of postpartum cows. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 703-712, 2000.
- SCARAMUZZI, R. J.; BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; DRIANCOURT, M. A.; DUPONT, J.; FORTUNE, J. E.; GILCHRIST, R. B.; MARTIN, G. B.; MCNATTY, K. P.; MCNEILLY, A. S.; MONGET, P.; MONNIAUX, D.; VIÑOLES, C.; WEBB, R. Regulation

of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 23, n. 3, p. 444-467, 2011.

SCHNEIDER, A.; CORRÊA, M. N.; BUTLER, W. R. Association between growth hormone receptor Alu1 polymorphism and fertility of Holstein cows. **Theriogenology**, v. 80, n. 9, p. 1061-1066, 2013a.

SCHNEIDER, A.; CORRÊA, M. N.; BUTLER, W. R. Short communication: acute phase proteins in Holstein cows diagnosed with uterine infection. **Research in Veterinary Science**, v. 95, n. 1, p. 269-271, 2013b.

SNIJERS, S. E.; DILLON, P.; O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M. P. Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. **Theriogenology**, v. 53, n. 4, p. 981-989, 2000.

STEPHENS, T.; BASINSKI, M.; BRISTOW, P.; BUE-VALLESKEY, J.; BURGETT, S.; CRAFT, L.; HALE, J.; HOFFMANN, J.; HSIUNG, H.; KRIAUCIUNAS, A.; MACKELLAR, W.; ROSTECK JUNIOR, P.; SCHONER, B.; SMITH, D.; TINSLEY, F.; ZHANG, X.; HEIMAN, M. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. **Nature**, v. 377, p. 530-532, 1995.

THATCHER, W. W.; WILCOX, C. J. Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v. 56, n. 5, p. 608-610, 1973.

VELAZQUEZ, M. A.; NEWMAN, M.; CHRISTIE, M. F.; CRIPPS, P. J.; CROWE, M. A.; SMITH, R. F.; DOBSON, H. The usefulness of a single measurement of insulin-like growth factor-1 as a predictor of embryo yield and pregnancy rates in a bovine MOET program. **Theriogenology**, v. 64, n. 9, p. 1977-1994, 2005.

WATHES, D. C.; FENWICK, M.; CHENG, Z.; BOURNE, N.; LLEWELLYN, S.; MORRIS, D. G.; KENNY, D.; MURPHY, J.; FITZPATRICK, R. Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. **Theriogenology**, v. 68, p. S232-S241, 2007. Supplement 1.

WATHES, D.C., CLEMPSON, A. M., POLLOTT, G. E. Associations between lipid metabolism and fertility in the dairy cow. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 25, n. 1, p. 48-61, 2012.

WILLIAMS, E. J.; FISCHER, D. P.; NOAKES, D. E.; ENGLAND, G. C.; RYCROFT, A.; DOBSON, H.; SHELDON, I. M. The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. **Theriogenology**, v. 68, n. 4, p. 549-559, 2007.

YILMAZ, A.; DAVIS, M. E.; SIMMEN, R. C. Analysis of female reproductive traits in Angus beef cattle divergently selected for blood serum insulin-like growth factor I concentration. **Theriogenology**, v. 65, n. 6, p. 1180-1190, 2006.

O USO DO SÊMEN SEXADO

Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro

Vera Hossepian de Lima

Augusto Schneider

Luiz Francisco Machado Pfeifer

Histórico da determinação do sexo dos produtos

A origem da determinação sexual da descendência dos mamíferos sempre foi motivo de muita especulação e de vários tipos de estudos. Os estudos científicos que colaboraram na elucidação dos fatores relacionados com a determinação sexual começaram efetivamente com a descoberta dos espermatozoides, no século 17. Suas origem e função foram identificadas no ano de 1841; a descoberta da célula germinativa feminina se deu em 1827; e, por fim, no final do século 19, constatou-se a ocorrência da fecundação. O mistério da geração foi elucidado também no final do século 19, com a descoberta dos cromossomas.

Nessa época, cogitava-se que as condições ambientais eram determinantes do sexo dos descendentes; nesse sentido, condições nutricionais adversas originariam machos, enquanto condições favoráveis, fêmeas. Supunha-se também que mulheres que se alimentavam com dietas baseadas em alimentos amargos gerariam filhos do sexo masculino. No início do século 20, com a descoberta dos cromossomos em humanos e outros mamíferos, foi estabelecida a importância dos cromossomas sexuais X e Y¹.

Nos mamíferos eutérios, a determinação dos descendentes depende do tipo de espermatozoide que fecunda o óvulo: se for espermatozoide carreador do cromossomo X, vai originar uma fêmea, e se for carreador do cromossomo Y, vai originar um macho. Os indivíduos do sexo masculino dos mamíferos produzem sêmen com 50% de espermatozoides

¹ Para a revisão sobre a mitologia da determinação do sexo, ver Mittwoch (2005).

carreadores do cromossoma X e 50% carreadores do cromossoma Y. A proporção sexual normal ao nascimento em bovinos é de aproximadamente 51 machos para 49 fêmeas, na maioria dos casos, mas comumente existem mais mortes neonatais e pré-desmame em machos (MORRIS et al., 1986).

O controle do sexo dos produtos tem efeito direto sobre o melhoramento genético, por meio de alguns recursos: aumento da pressão de seleção, promoção de maior produtividade (maior número de fêmeas para a reposição do rebanho) e maior rigor sanitário (não introdução de animais de outros rebanhos não controlados); ademais, é reduzido o impacto pela eliminação de animais de sexo indesejado.

Processo de separação espermática

Para a separação das distintas populações espermáticas, podem ser utilizadas várias metodologias. O método de separação espermática a ser utilizado de forma rotineira nos sistemas de produção animal e a ser inserido no contexto das técnicas de reprodução assistida (*assisted reproductive technology* – ART) deve ter elevada acurácia, ser simples e eficiente. Para tanto, é preciso atender aos seguintes requisitos: a) ser eficiente na manutenção da fertilidade in vivo ou in vitro, não causando lesões na ultraestrutura ou complemento cromossômico; b) ser compatível com as técnicas usuais de criopreservação; c) resultar em uma progênie (embriões ou neonatos viáveis) que reflita realmente a proporção determinada pelo método de sexagem dos espermatozoides; e d) possuir metodologia simples e de baixo custo.

A separação entre os espermatozoides carreadores de cromossomos X ou Y pode ser efetuada por métodos baseados nas diferenças físicas ou químicas entre os dois tipos de espermatozoides. Por exemplo: a) sensibilidade ao pH (SHETTLES, 1961); b) carga elétrica da superfície da membrana (GORDON, 1957; KANEKO et al., 1984); c) morfologia do núcleo e da cabeça (SHETTLES, 1961); d) antígenos de superfície (KOO et al., 1979); e) velocidade de migração (WANG et al., 1994); f) conteúdo de DNA (GARNER et al., 1983); e g) densidade (WINDSOR et al., 1993).

O conteúdo de DNA é diferente entre os espermatozoides que carregam o cromossoma X do Y. Essa característica pode ser utilizada como metodologia de separação das duas populações de espermatozoides. Na maioria dos mamíferos, o cromossomo X é maior e possui mais DNA do que o Y (MORUZZI, 1979 citado por JOHNSON, 2000). A diferença de conteúdo de DNA varia segundo a espécie e a raça. Na espécie bovina, foi observada

uma diferença média significativa do conteúdo de DNA dos espermatozoides X ou Y entre as raças. Entre os espermatozoides X e Y de touros Jersey, foi observada a maior diferença (4,24%) em comparação com as raças Angus (4,05%), Hereford (4,03%), Holstein (3,98%) e Brahman (3,73%). Para quantificar o conteúdo de DNA, os espermatozoides foram lavados, por centrifugação, em solução isotônica de citrato de sódio contendo dimetilsulfóxido, fixados em etanol, tratados com papaína e ditileritritol (para a remoção da estrutura da cromatina e das organelas celulares); e o DNA foi corado com fulorcromo4'-6-diamino-2-fenillindol (DAPI). O padrão de fluorescência de 5 mil núcleos de cada espécie (ou raça, no caso dos bovinos) foi analisado por citometria de fluxo para se estabelecerem as diferenças na quantidade de DNA entre os espermatozoides X e Y (GARNER et al., 1983).

Na década de 1980, iniciaram-se em mamíferos as tentativas de seleção do sexo, pela identificação das diferenças na quantidade de cromatina entre os espermatozoides X e Y. Essas tentativas só obteriam sucesso com o advento da citometria de fluxo. Nos bovinos, os primeiros relatos foram feitos por Johnson e Pinkel (1986) e por Johnson et al. (1987). O aprimoramento das técnicas de coloração, combinado ao fato de que as células espermáticas esféricas se orientam na direção da fonte de excitação, permitindo uma mensuração do seu conteúdo de DNA, formou a base para a rotina de sexagem de sêmen utilizando aparelhos comerciais. Esse método, mundialmente conhecido como Beltsville Sperm Sexing Technology, baseia-se na utilização de um corante de DNA fluorescente (Hoechst 33342) e na separação das duas populações de espermatozoides (X e Y) pela citometria de fluxo.

Importância da seleção do sexo para o melhoramento genético animal e a produção animal

O objetivo da utilização das tecnologias da reprodução é aumentar a eficiência reprodutiva nos mamíferos, por meio da seleção de poucos progenitores e progenitoras que produzirão um determinado número de descendentes. Geneticamente, isso possibilitaria o aumento da intensidade da seleção e, conseqüentemente, o aumento do mérito genético médio da progênie. De acordo com Nicholas e Smith (1983), algumas simulações, realizadas por modelos teóricos, demonstraram que, quando a tecnologia da reprodução era utilizada sobre uma base recorrente em uma população fechada, a taxa de melhoramento genético aumentava entre as gerações, sendo essa considerada a principal vantagem genética oferecida pelas tecnologias reprodutivas.

A utilização dessas tecnologias apresenta, porém, algumas desvantagens, como o aumento da endogamia e a diminuição da variabilidade genética. A esse propósito, em programas de acasalamento, alguns geneticistas, por meio de modelos teóricos (simulações), chegaram a algumas conclusões sobre as implicações dessas tecnologias, tendo, ademais, sugerido a melhor a ser usada e a melhor maneira de utilizá-la, levando em conta suas vantagens e limitações (NICHOLAS; SMITH, 1983). Sendo assim, seria importante, antes de tudo, que o criador avaliasse em que sistema de produção essa tecnologia seria utilizada, além de considerar o sistema de reprodução (inseminação artificial, transferência de embrião) associado.

Para a simulação do impacto da seleção do sexo no sistema de produção de leite, os rebanhos foram divididos em dois núcleos de criação: comercial e elite. No núcleo comercial, a fonte primária de rendimento foi a produção e a venda de leite, com uma renda adicional decorrente da venda de terneiros e do descarte de vacas para o matadouro. Em geral, os produtores selecionavam, dentro do próprio rebanho, as novilhas para a reposição, e o aumento do mérito genético para a produção de leite era conseguido pela utilização de sêmen de touros provados, adquirido nas empresas de produção e comercialização de sêmen congelado. Em virtude da necessidade de alta taxa de reposição de vacas nos rebanhos comerciais, esses produtores limitam a oportunidade de conseguir melhoramento genético pela reposição das fêmeas adultas por suas filhas, já que as mães seriam descartadas antes de as filhas terem a primeira cria. No núcleo de elite, a fonte primária de rendimento seria a produção e a venda de animais para reposição, bem como de sêmen e embriões, embora produzissem e vendessem leite e vacas para o matadouro (HOHENBOKEN, 1999).

Nos rebanhos comerciais destinados à produção de leite, novilhas e vacas são acasaladas com o propósito de iniciar a lactação e também de produzir terneiras, que posteriormente serão utilizadas para a reposição do rebanho ou como produto de venda. A sexagem de espermatozoides tem pouco a contribuir na primeira hipótese, visto que o sexo do feto não influencia diretamente a produção de leite na lactação subsequente (CHEW et al., 1981). Já com relação ao segundo propósito, a sexagem de espermatozoides tem importância econômica porque poderia diminuir, ou eliminar, o custo de produção de terneiros (HOHENBOKEN, 1999).

A seleção do sexo permitiria produzir terneiras de reposição geneticamente superiores, pela classificação das vacas de acordo com a estimativa do mérito genético e econômico, para as características de produção de leite e inseminação das mais produtivas com espermatozoides X.

Considerando essa possibilidade, Van Vleck e Everett (1976) desenvolveram um modelo para avaliar o impacto econômico gerado pelo aumento da resposta de seleção de um rebanho comercial para a produção de leite que utilizaria doses de sêmen enriquecidas com espermatozoides X (maior valor agregado) nas vacas mais produtivas e doses de sêmen não enriquecidas (de menor valor agregado) nas vacas menos produtivas.

No modelo, os custos contabilizavam o número de inseminações necessárias para gerar cada terneira geneticamente superior. E os benefícios consistem na produção extraordinária de leite e em gastos adicionais com a alimentação necessária para atender às exigências nutricionais das terneiras mais produtivas. Assim, quando custos e benefícios eram projetados para 10 anos, o valor da dose de sêmen enriquecida com 80% de espermatozoides X era US\$ 9,67 acima daquela com média de 50% de espermatozoides X.

Em um estudo posterior, Van Vleck (1981) simulou o uso de doses de sêmen enriquecidas com espermatozoides X e concluíram que isso possibilitaria um progresso genético anual de 15% na produção de leite, quando utilizada em rebanhos comerciais para produzir novilhas para reposição do rebanho. Esse aumento do progresso genético foi suficiente para sugerir um custo de US\$ 19,00 por vaca pela utilização de sêmen enriquecido com espermatozoides X (HOHENBOKEN, 1999). Usando modelo similar, Dematawewa e Berger (1998) estimaram que o ganho genético anual aumentaria 9%, enquanto o custo da dose de sêmen, com espermatozoides enriquecidos, seria de R\$ 35,00 por vaca.

A seleção do sexo também permite maximizar o retorno econômico por tornar os sistemas de produção flexíveis em relação ao mercado. De acordo com a simulação feita por Bekman et al. (1994), o melhoramento genético para características de produção de carne poderia interferir inversamente na produção de leite. Com o aumento do número de fêmeas nos rebanhos leiteiros, por meio da utilização de métodos de seleção do sexo, aumentaria o número de fêmeas que não foram escolhidas para produzir a próxima geração (devido à maior intensidade de seleção). Nesses casos, quando houvesse a possibilidade das vacas mais produtivas serem inseminadas com espermatozoides X, aquelas menos produtivas seriam inseminadas utilizando-se sêmen não enriquecido, de menor valor, produzido por touros de raça com aptidão para leite ou carne. Porém, a escolha de uma raça de corte implicaria a redução da produção de leite, na próxima geração, e a incidência de partos distócicos poderia ser reduzida pelo uso de touros de raças europeias com aptidão para a produção de carne (GUILBAULT et al., 1990). A vantagem seria que o peso da carcaça do macho, aos 24 meses, é 25% maior do que a da fêmea. Entretanto, as dificuldades no parto poderiam aumentar em novilhas e vacas jovens (HOHENBOKEN, 1999).

Nos programas de melhoramento genético para a produção de leite, o rendimento vem da venda de leite e de material genético. Sendo assim, a meta é aumentar o mérito genético para a característica economicamente importante – no caso, a produção de leite – de maneira eficiente e com o menor custo possível.

O ganho genético depende do quão corretamente os animais eram avaliados (acuidade de predição do valor genético aditivo), do número de animais selecionados (intensidade de seleção), da amplitude das diferenças genéticas entre os animais avaliados (desvio-padrão dos valores genéticos aditivos) e da dinâmica de reposição dos animais progenitores por seus descendentes (intervalo entre gerações) (VAN VLECK et al., 1987). Esses fatores comporiam a equação de predição do progresso genético por ano (em unidades de desvio-padrão) ou ganho genético aditivo por ano (ΔG).

Dessa forma, o progresso genético era alterado conforme fossem alterados os fatores dessa equação. Por exemplo, aumentando-se o intervalo entre gerações, diminuir-se-ia a acuidade de predição, pois um menor número de dados sobre a produção estaria disponível para a avaliação genética do rebanho. Da mesma forma, maximizar-se-ia a intensidade de seleção quando um maior número de animais do mesmo sexo e idade era selecionado concomitantemente. Os fatores da equação eram diferentes considerando a seleção para machos ou fêmeas. Considerando-se essas diferenças, o progresso genético era predito pela divisão da média da superioridade para os machos e fêmeas, selecionados pelos respectivos intervalos médios entre gerações (VAN VLECK et al., 1987).

Implicações na fertilidade/ toxicidade do corante Hoechst 33342

Os resultados iniciais obtidos com o uso dessa técnica revelavam um comprometimento da viabilidade espermática com reduzida fertilidade. Os danos eram atribuídos à exposição dos espermatozoides ao corante, ao laser e a alta pressão, a diluições, ao deslocamento rápido, aos tubos e à centrifugação para a concentração espermática. Todos esses fatores não fisiológicos, e interações mecânicas podem teoricamente produzir modificações na estrutura celular, e até mesmo na molécula de DNA.

Os estudos realizados por Penfold et al. (1998) indicavam, porém, que nenhum desses fatores afetava a motilidade espermática: coloração com Hoechst, exposição a radiação UV e a laser, processo mecânico de separação espermática quando o sêmen sexado foi examinado pelo *Computer-assisted semen analysis* (Casa).

O corante Hoechst 33342 é um fluoróforo que é usado rotineiramente para medir o DNA de espermatozoides de mamíferos e separá-los pela citometria de fluxo. Uma diferença menor que 3% na massa pode ser detectada. A molécula penetra nas membranas celulares de células vivas e se liga seletivamente aos pares de base A-T da curva menor do DNA de cadeia dupla. Nos últimos 20 anos, depois do nascimento de milhões de produtos oriundos do sêmen sexado, ainda não foi encontrada nenhuma anormalidade que seja mais frequente do que aquela provocada com a inseminação com sêmen convencional em bovinos, equinos, humanos, suínos, ovinos, coelhos, golfinhos e outros mamíferos. Aparentemente, não existe efeito genotóxico da exposição das células espermáticas ao corante Hoechst 33342, embora existam poucas informações da toxicidade celular ou do desenvolvimento embrionário dos embriões após a exposição ao Hoechst. Pouco é conhecido sobre a ação do corante no trato reprodutivo ou na progênie resultante (GARNER, 2009). Algumas células somáticas são muito sensíveis ao corante Hoechst 33342, tendo efeito inibitório na síntese de DNA, enquanto outros tipos de células, como os espermatozoides, não parecem ser afetados quando se usam concentrações na separação espermática (~112 μM). O DNA dos espermatozoides é compacto e inerte.

Quando o espermatozoide que foi corado com Hoechst fecunda o óvulo, ele transfere o corante para o pró-núcleo feminino, sendo ainda visíveis nos embriões oito e até mais células. O desenvolvimento *in vitro* dos embriões assim gerados é mais lento do que nos procedimentos convencionais. Mas, aparentemente, não causa alteração fenotípica nos produtos gerados. Estudos de campo têm demonstrado que não há diferença na taxa de aborto, na taxa de natimortos, na duração da gestação, na dificuldade de parto (distocias), no peso ao nascer, no peso ao desmame ou em produtos nascidos vivos (TUBMAN et al., 2004). Os experimentos de DeJarnette et al. (2009) relataram taxas similares de aborto em novilhas entre sêmen sexado (1,4%, n = 5.495) e convencional (1,9%, n = 4.902).

Estudos de Gosálvez (2011a, 2011b) demonstraram que a exposição ao fluoróforo pode promover a fragmentação de DNA. As causas dessa ação prejudicial podem estar relacionadas a três fatores: a) interação do corante Hoechst 33342 com o DNA e o laser, provocando uma grande quantidade de descondensação da cromatina e tornando o DNA mais suscetível à radiação ionizante, quando combinado ao fluoróforo; b) estresse mecânico, que pode alterar a estabilidade da qualidade espermática e da conformação do DNA; c) trocas no pH e osmolaridade pelo uso de soluções, como o meio TALP, que podem levar a mudanças bruscas no pH e na osmolaridade fisiológicas. Assim, a qualidade da membrana espermática pode ser afetada seriamente.

Qualquer alteração na fisiologia do esperma, modificando a estabilidade da membrana, a motilidade dos espermatozoides ou a homeostase do acrossoma, tem um impacto direto sobre a capacidade de fecundação, enquanto a qualidade do DNA pode afetar a qualidade do embrião após a fecundação e a singamia dos gametas. O mesmo autor comprovou que o dano ao DNA dos espermatozoides sexados somente é detectável depois de 24 a 48 horas de incubação a 37 °C. Também foi demonstrado que existem diferenças na dinâmica de comportamento das taxas de danos ao DNA entre animais diferentes. A observação da variação individual é evidente.

Mocé et al. (2006) demonstraram que o processo de separação espermática altera a membrana acrossomal se o sêmen sexado criopreservado e descongelado sofre reação acrossômica antecipada (23%) em 40 minutos, em comparação com o sêmen convencional descongelado (9%). A perda prematura da estabilidade da membrana acrossomal pode interferir na sua capacidade fecundante posterior. Isso acontece durante o processo de separação espermática, com as diluições que promovem a remoção de substâncias presentes no plasma seminal que mantém a estabilidade da membrana acrossomal.

A partir de 2002, foram efetuados aprimoramentos no processo, com modificações no citômetro de fluxo, que resultaram em menor dano à estrutura celular dos espermatozoides. Dessa forma, outro fator estressante, a pressão hidrodinâmica, foi modificada. Uma diminuição na pressão de separação promoveu maior viabilidade espermática (SUH et al., 2005). Os experimentos de Schenk et al. (2009) demonstraram que a redução na pressão de separação dos espermatozoides (50 psi a 40 psi) resultou em aumento nas taxas de prenhez, e foram confirmados os resultados anteriores, que relacionavam a dose de 2×10^6 espermatozoides com a taxa de prenhez de 70% a 90% da obtida com sêmen convencional em rebanhos corretamente manejados com detecção de estro e com mão de obra capacitada.

Outros fatores limitantes relacionam-se ao baixo rendimento e à congelabilidade reduzida dos espermatozoides. A limitada eficiência de produção na separação espermática promove um menor rendimento, e a dose comercial de sêmen sexado contém somente $8,4 \times 10^6$ espermatozoides por mililitro ($2,1 \times 10^6$ espermatozoides por 0,25 mL). Essa é uma dose muito baixa, pois que a dose convencional contém 20×10^6 espermatozoides em palhetas de 0,5 mL.

Para esclarecer as causas da reduzida fertilidade do sêmen sexado, Frijters et al. (2009) conduziram um estudo com o objetivo de verificar os efeitos do reduzido número de espermatozoides por dose e do processo de separação com a citometria de fluxo.

Considerando os resultados do uso do sêmen sexado de sete touros da raça Holandesa, foi relatado um declínio médio de 13,6% da taxa de não retorno ao cio aos 56 dias ($P < 0,05$). Cerca de 2/3 desse declínio (8,6%) decorreu do número reduzido de espermatozoides ($P < 0,05$), enquanto 1/3 (5%) se deu pelo processo de separação ($P < 0,05$). O efeito do número reduzido de espermatozoides e da separação espermática diferiu entre os touros utilizados no estudo. Os autores indicam a importância da utilização de touros com alta fertilidade para a separação espermática como recurso para elevar os índices de prenhez com o uso do sêmen sexado.

A implementação de um novo protocolo de preservação espermática denominado Sexcess® foi relatada por Rath et al. (2009). Os autores relatam que a adição de fluoreto de sódio (NaF) em pequenas concentrações é capaz de inibir reversivelmente o movimento dos espermatozoides e inibir a atividade de enzimas críticas para a formação de ATP como fosfatase alcalina, ATPases e endolases e desidrogenases. Essas enzimas são importantes na glicólise, na respiração celular, no metabolismo e na síntese proteica, sendo, portanto, essenciais para a motilidade espermática. A presença do fluoreto de sódio na amostra, antes, durante e após a seleção, promove a manutenção da viabilidade espermática após a seleção espermática e a criopreservação em bovinos. Os experimentos demonstraram o mesmo padrão de motilidade e integridade de membrana entre as amostras de sêmen sexado tratadas com Sexcess® e as amostras convencionais. Essa modificação no protocolo de manuseio durante e após a separação espermática resultou em taxas de prenhez similares às obtidas com sêmen convencional (73,6% versus 77% de prenhez, $n = 232$). Ademais, os autores recomendam uma minuciosa pré-seleção de touros destinados à seleção espermática no propósito de melhorar os resultados de fertilidade após a sexagem de espermatozoides e evitar a variação individual.

Os estudos relatados por Arruda et al. (2012) com a avaliação morfofuncional do sêmen bovino, submetida a separação pela citometria de fluxo, indicam que existe uma variação entre as subespécies *Bostaurus* e *Bosindicus*. Foram comparados três touros da raça Holandesa com três touros da raça Gir leiteiro, e foram avaliadas as seguintes características: a) integridade da membrana plasmática e reação acrossomal; b) peroxidação lipídica e capacitação espermática através de análises da fosforilação da tirosina; c) aumento da fluidez; e d) desorganização da membrana plasmática. O sêmen proveniente da subespécie taurina sofreu um efeito negativo mais significativo do que a zebuína em termos de qualidade do sêmen.

Uso do sêmen sexado na inseminação artificial

No Brasil, o sêmen sexado é comercializado há cerca de 5 anos, e seu uso tem sido incrementado nos últimos anos. Estima-se que atualmente sejam efetuadas aproximadamente 25 mil inseminações com sêmen sexado por mês (ALVAREZ, 2012).

Experimentos efetuados na Suíça em rebanhos leiteiros, tendo por objetivo avaliar a fertilidade da inseminação artificial com dose considerada baixa de 2×10^6 espermatozoides sexados e não sexados indicaram taxas de concepção similares. As taxas de prenhez (de 30 a 40 dias) foram de 33% para novilhas ($n = 54$) e de 28% para vacas ($n = 169$) após a inseminação com sêmen sexado em gado das raças Pardo Suíça e Holandesa Vermelho (BODMER et al., 2005).

DeJarnette et al. (2009) avaliaram os registros de 211 rebanhos leiteiros de fazendas americanas inseminados com sêmen sexado. As taxas de concepção no primeiro serviço foram em média 47% (31.815 serviços) para sêmen sexado ($2,1 \times 10^6$ espermatozoides por dose) em novilhas da raça Holandesa, e de 53% (2.064 serviços) em novilhas da raça Jersey (Tabela 1). Relataram, ademais, que a taxa de concepção obtida com inseminação artificial (IA) usando sêmen sexado foi de 80% daquela obtida com sêmen convencional no primeiro serviço. Nos rebanhos de novilhas da raça Holandesa que relataram ≥ 50 serviços para sêmen sexado e sêmen convencional, a taxa de concepção geral para sêmen sexado (para todos os serviços) foi em média 45% (variando de 27% a 70%), comparado com 56% (variando

Tabela 1. Taxa de concepção média obtidas com sêmen sexado de acordo com a raça, categoria animal e número de serviços (n = número total de animais avaliados).

Raça	Categoria	Rebanho	Número de serviços				Total
			1	2	≥ 3	Desconhecido	
Holandesa	Vaca	49	26% (1.173)	30% (449)	27% (632)	25% (44)	27% (2.298)
	Novilha	136	47% (31.815)	39% (8.255)	32% (3.918)	50% (4.212)	45% (48.200)
Jersey	Vaca	5	37% (929)	39% (452)	35% (204)	-	37% (1.585)
	Novilha	21	53% (2.064)	47% (628)	27% (143)	47% (275)	50% (3.110)

Fonte: DeJarnette et al. (2009).

de 34% a 83% para sêmen convencional). Esses resultados são similares a um estudo de campo anterior, conduzido na Itália, onde novilhas de raças leiteiras inseminadas com sêmen sexado comercial apresentaram taxa de concepção de 51% (CERCHIARO et al., 2007). No mesmo estudo, DeJarnette et al. (2009) relataram maior incidência de nascimento de natimortos de produtos de sexo masculino oriundos da inseminação artificial com sêmen sexado (19,9%). Contudo, como é esperada somente uma taxa de 10% de nascimentos de produtos masculinos, a incidência de natimortos nos rebanhos não é influenciada pelo tipo de sêmen utilizado. As causas biológicas da ocorrência ainda não estão esclarecidas, mas cogita-se que o processo de seleção espermática com a citometria de fluxo poderia contribuir com a ocorrência de aneuploidia dos espermatozoides carreadores do cromossoma Y.

A maioria dos estudos descreve uma garantia de 85% a 90% para a predeterminação do sexo dos terneiros nascidos (CERCHIARO et al., 2007; DEJARNETTE et al., 2009; SEIDEL JUNIOR; SCHENK, 2006; TUBMAN et al., 2004). Ademais, terneiros nascidos de sêmen sexado são normais, e não há relatos de diferença no peso ao nascimento, à desmama, no tempo de gestação ou na incidência de anomalias (TUBMAN et al., 2004).

Estudos de campo utilizando touros das raças Holandesa, Jersey e Dinamarquesa Vermelha, com sêmen convencional e sexado, em 63 rebanhos, com 2.087 doses de sêmen foram relatados pelos pesquisadores dinamarqueses Borchersen e Peacock (2009). Os autores relataram um decréscimo de 5%, 7% e 12% na taxa de prenhez em novilhas quando a inseminação foi efetuada com sêmen sexado (2 milhões de espermatozoides por dose), em comparação com o convencional (15 milhões de espermatozoides por dose) das raças Dinamarquesa Vermelha, Jersey e Holandesa, respectivamente. A percentagem de fêmeas nascidas variou de 89% a 93% entre as raças. Não foi observada diferença nas taxas de aborto entre o uso do sêmen sexado e do convencional (1%). Além disso, estudos anteriores indicam que o efeito negativo da separação espermática nas taxas de concepção não pode ser sempre compensado pelo aumento da dose inseminante (DEJARNETTE et al., 2008).

Segundo Norman et al. (2010), os produtores de leite nos Estados Unidos utilizam a inseminação com o sêmen sexado em 34,2% e 10,6% dos rebanhos de novilhas e vacas, respectivamente. Seu uso aumentou consideravelmente desde 2006, com a oferta comercial de sêmen sexado, sendo utilizado especialmente para animais com taxa de concepção tradicionalmente mais elevada, como novilhas e vacas de primeira cria. A taxa de concepção com sêmen sexado é afetada negativamente pela técnica de seleção espermática e correspondeu somente a 70% a 83% da obtida com o sêmen convencional. A taxa de concepção média para novilhas foi 56% de sêmen convencional e 39% de sêmen sexado; para vacas, foi de 30% e 25%, respectivamente. São necessários 2,6 serviços para novilhas e 4 serviços para vacas.

Conseqüentemente, o sêmen sexado deve ser usado preferencialmente para novilhas em virtude do custo financeiro. A grande percentagem de nascimento de fêmeas leva à redução de distocias e natimortos para novilhas e vacas, especialmente para partos gemelares.

Sá Filho et al. (2010) efetuaram um experimento com novilhas virgens, da raça Jersey, inseminadas com sêmen sexado após a detecção do comportamento de cio. Os autores não observaram efeito nas taxas de prenhez após a administração de 100 µg de hormônio liberador de gonadotrofinas (*gonadotropin-releasing hormone* – GnRH) no momento da detecção do início do cio e da inseminação 12 horas após (grupo GnRH: 47,2%, 100/212 versus grupo-controle: 51,7% 104/201; P = 0,38, com identificador de cio na cauda; e grupo GnRH:53: 1%, 137/258 versus grupo-controle: 48,6%, 122/251; P = 0,43, com sistema de observação constante HeatWatch®). Da mesma forma, o uso de dose dupla de sêmen sexado não influenciou os resultados. Uma única inseminação 12 horas após a observação do cio obteve 45,1% (87/193); e duas inseminações 12 horas depois obtiveram 44%, 85/193) de prenhez. Por sua vez, inseminações duplas não influenciaram os resultados: 12 horas obtiveram 44% (85/193) ou inseminações duplas 12/24 horas obtiveram 49,5% (94/190). No geral, novilhas inseminadas de 12 a 16 horas após o início do cio (observação constante HeatWatch®) têm menor chance de conceber do que aquelas inseminadas 16 a 24 horas após a observação do início do cio.

Os experimentos de Sales et al. (2011) com avaliação do momento da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), com sêmen convencional e sexado, indicaram algumas alternativas para a otimização da taxa de prenhez em novilhas da raça Jersey. Ao todo, 420 novilhas cíclicas foram inseminadas 54 horas ou 60 horas após a retirada do implante de progesterona com sêmen sexado ($2,1 \times 10^6$ espermatozoides por dose) e convencional (20×10^6 espermatozoides por dose) com três touros. A taxa de prenhez no grupo em que foi utilizado sêmen sexado, diagnosticada 30 a 40 dias, foi superior quando a inseminação foi efetuada 60 horas (31,4%, 32/102), comparando com 54 horas (16,2%, 17/105) após a retirada do implante. No entanto, no grupo no qual foi utilizado o sêmen convencional não foi observada a mesma diferença na taxa de prenhez (50,5%, 51/101 para 54 horas, versus 51,8%, 58/112 para 60 horas). Também nesse experimento foi observado um efeito marcado do touro utilizado no porcentual de prenhez obtido.

Conforme já relatado, o processo de sexagem altera características relacionadas à motilidade, à integridade da membrana, à acrossoma e à forma dos espermatozoides, induz a capacitação prematura com modificações em proteínas de membrana, e menor capacidade de se manter viável após a descongelação. Todos esses fatores se refletem na menor sobrevivência e, conseqüentemente, na menor capacidade de os espermatozoides

se manterem ligados às células da tuba uterina depois da formação dos reservatórios espermáticos. Baseado nesses dados, é possível sugerir que o melhor momento da IA com sêmen sexado seja mais próximo à ovulação. O atraso no momento da IA pode reduzir o momento de espera do espermatozoide no trato reprodutivo da fêmea, assegurando um maior número de espermatozoides sexados viáveis e ligados às células da tuba uterina no momento da ovulação (CARVALHO et al., 2014).

Os dados da inseminação com sêmen sexado em fêmeas da raça Girolanda e sua implicação econômica são relatados por Gerhardt et al. (2012). Foram comparadas as taxas de concepção com sêmen convencional (G1) e sêmen sexado (G2), com inseminações 12 horas após a observação de cio em 54 fêmeas. As taxas de concepção obtidas nos grupos G1 e G2 foram 53,85% e 17,86%, respectivamente ($P < 0,05$). Em sequência, no segundo experimento ($n = 55$), foram comparadas as taxas de concepção com sêmen sexado, utilizando-se dois horários de inseminação: tradicional (G3) – 12 horas após a observação de cio; e atrasada (G4) – 15 horas depois. As taxas de concepção obtidas foram de 37,04% e 50%, respectivamente ($P > 0,05$). No experimento 1, o custo da produção de fêmeas produzidas foi de R\$ 52,00 (G1) e R\$ 358,40 (G2); no experimento 2, de R\$ 172,80 (G3) e R\$ 128,00 (G4). O sêmen convencional apresentou resultado superior ao sexado quando utilizado 12 horas após a observação de cio e sem rigor no descongelamento. E o sêmen sexado apresentou resultados semelhantes ao convencional quando houve atraso das inseminações em três horas e mais o descongelamento em banho-maria a 35 °C.

Uso do sêmen sexado na produção de embriões in vitro

O uso do sêmen sexado encontra grandes vantagens na tecnologia de produção in vitro de embriões (PIV) principalmente porque na PIV com sêmen sexado o custo de produção é minimizado, visto que um maior número de ovócitos de diferentes doadoras pode ser fecundado com uma única dose. Além disso, na PIV, é possível avaliar características após a seleção espermática e corrigir eventuais problemas, como concentração e motilidade no momento da fecundação.

A técnica de produção in vitro de embriões, embora apresente algumas limitações de uso, tornou-se, no Brasil, uma prática comercial desde o início dos anos 2000. Atualmente, o Brasil ocupa a primeira posição com relação à PIV de embriões bovinos, e as estatísticas de 2011 indicam a transferência de 318.119 embriões produzidos in vitro, que representam

85% da produção mundial (STROUD, 2012). Esse número expressivo de embriões bovinos produzidos *in vitro* PIV foi realizado, na sua grande maioria, em gado de corte, como da raça Nelore. Entretanto, a PIV em gado de leite tem sido incrementada nos últimos anos.

Os resultados da utilização do sêmen sexado por citometria de fluxo na produção *in vitro* de embriões bovinos são descritos por diferentes equipes brasileiras, que já registraram índices de prenhez equivalentes à utilização de sêmen não sexado (BRUM et al., 2005; ERENO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2005; TONELLO et al., 2005). É importante salientar a grande variabilidade de resultados entre partidas e intrapartidas, indicando a necessidade de mais estudos que consigam padronizar a viabilidade dos espermatozoides sexados.

Recentes resultados de empresas comerciais brasileiras revelam o uso satisfatório do sêmen sexado na PIV em gado de origem europeia (*Bos taurus*), como o Holandês, e gado Zebu (*Bos indicus*), como o Gir e seus cruzamentos (Girolando). Pontes et al. (2010) relataram um total de 5.407 sessões de aspiração folicular (OPU) em vacas da raça Gir, 1.138 sessões de OPU em vacas da raça Holandesa, 267 sessões de OPU em vacas cruzadas ¼ raça Holandesa e ¾ raça Gir, e 224 sessões de OPU em vacas cruzadas ½ raça Holandesa e ½ raça Gir (Tabela 2).

A taxa média de prenhez descrita foi de 39% com sêmen sexado. Os autores observaram também um marcante efeito do touro sobre as taxas de desenvolvimento embrionário. As taxas de produção de blastocistos variaram de 35% a 59% (média de 46%) para sete touros diferentes da raça Holandesa, e de 13% a 59% (média de 45%) para oito touros diferentes da raça Gir.

Os experimentos conduzidos por Xu et al. (2009) sugerem que sejam feitas algumas modificações no sistema de produção *in vitro* de embriões no propósito de otimizar o uso do sêmen sexado. Algumas alterações – tais como adequação da concentração de heparina utilizada de acordo com o touro, modificações na concentração espermática no momento da fecundação e adição de frutose ao meio de cultivo – seriam benéficas ao desenvolvimento de embriões PIV com o sêmen sexado.

Uso do sêmen sexado na produção de embriões *in vivo*

O custo do uso do sêmen sexado também é minimizado pela tecnologia de produção *in vivo* de embriões, graças à geração de um elevado número de produtos por meio da

Tabela 2. Número de ovócitos totais e viáveis, produção embrionária considerando o número de ovócitos e, de acordo com as sessões de aspiração, taxa de prenhez por número de aspirações e de ovócitos segundo o grupo racial.

Tipo de raça doadora	Total ovócitos/ OPU (n)	Ovócitos viáveis OPU (n)	Embrões/Total de ovócitos n (%)	Embrões/ OPU-FIV n	Prenhez OPU-FIV ⁽¹⁾ N	Taxa de prenhez % ⁽¹⁾ (n)
Gir	17,1 ± 4,5a (64.617/3.778)	12,1 ± 3,9a (45.838/3.778)	18,9 (12.243/64.617)	3,2a (122.343/3.778)	1,2a (3.113/2.670)	40 (3.113/7.763)
Holandesa	11,4 ± 3,9b (12.997/1.138)	8,0 ± 2,7b (9.082/1.138)	18,7 (2.426/12.997)	2,1b (2.446/1.138)	0,7b (604/822)	36 (604/1.698)
1/4 Holandesa 3/4 Gir	20,4 ± 5,8c (5.457/267)	16,8 ± 5c (4.472/267)	18,9 (1.033/5.457)	3,9ac (1.033/267)	1,3ac (137/103)	37 (137/368)
1/2 Holandesa + 1/2 Gir	31,4 ± 5,6d (7.035/224)	24,3 ± 4,7d (5.434/224)	17,4 (1.222/7.035)	5,5c (1.222/224)	1,7c (82/47)	37 (82/220)
Total	16,7 ± 6,3 (90.086/5.407)	12,0 ± 4,4 (64.826/5.407)	18,8 (16.924/90.086)	3,1 (16.924/5.407)	1,1 (3.936/3.642)	39 (3.936/10.049)

⁽¹⁾ Dados de prenhez de 10.049 embriões de um total de 16.924 transferidos (resultados de 6.876 transferências de embriões não foram avaliados). Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa (P < 0,05).

Fonte: Pontes et al. (2010).

superestimulação ovariana. Na pecuária de leite, existe um grande interesse em produzir matrizes de reposição por meio da tecnologia de produção de embriões in vivo com sêmen sexado. Esse interesse decorre principalmente do fato de que os embriões assim gerados são mais resistentes aos processos de criopreservação do que os produzidos in vitro. No entanto, os resultados do uso de sêmen sexado na produção in vivo de embriões ainda não são satisfatórios.

Os experimentos iniciais efetuados por Sartori et al. (2004), utilizando a mesma quantidade de espermatozoides sexados e não sexados (10 milhões), na IA de novilhas da raça Holandesa superovuladas, concluíram que havia um menor número de estruturas viáveis quando era utilizado o sêmen sexado (2,3 versus 6,3 embriões viáveis). O aumento da dose para 20 milhões de espermatozoides sexados não promoveu alterações no número de embriões viáveis (1,9 embrião por coleta).

Outros autores relataram, porém, resultados mais animadores quanto ao uso do sêmen sexado e TE. Hayakawa et al. (2009) descreveram a obtenção de resultados similares das taxas de embriões viáveis (53,4% versus 68,1%), de degenerados (24,8% versus 26,6%), e de não fecundados (21,8% versus 5,3%) do uso de sêmen sexado e convencional, respectivamente, na coleta de embriões de novilhas da raça Holandesa superovuladas. Comparando o sêmen sexado criopreservado com o sêmen sexado fresco, no que se refere às taxas de embriões viáveis e não fertilizados, não observaram diferença. Os autores consideraram que o sêmen sexado é economicamente viável na tecnologia de produção de embriões in vivo. Nesse estudo, também é evidenciado o efeito individual dos touros utilizados, como demonstrado na Tabela 3.

Um dos maiores desafios ao uso do sêmen sexado na produção in vivo de embriões é saber como melhorar os aspectos relacionados ao transporte espermático do sêmen

Tabela 3. Produção de embriões em vacas superovuladas e inseminadas⁽¹⁾ com sêmen sexado e descongelado de quatro touros.

Identificação do touro	Número de coletas	Número total de estruturas	Porcentual de estruturas	
			Transferíveis ⁽²⁾	Não fecundados ⁽²⁾
A	5	17,2 ± 4,9	47,5 ± 13,1ab	26,0 ± 12,8ab
B	7	7,7 ± 1,4	71,2 ± 14,0b	12,2 ± 10,9ab
C	18	12,7 ± 2,4	24,2 ± 6,9a	45,8 ± 7,8a
D	15	8,3 ± 1,6	74,5 ± 12,2b	0b

⁽¹⁾Cada doadora recebeu duas inseminações com 5×10^6 espermatozoides. ⁽²⁾Valores (médias ± SEM) dentro das colunas com diferentes letras diferem estatisticamente (a x b P < 0,05).

sexado, com fertilidade alterada, em doadoras superovuladas. Aperfeiçoar a dose de sêmen sexado e identificar o momento mais adequado da IA após a superovulação (SOV) ovariana são questões a serem elucidadas para se conseguir maior difusão do sêmen após a sexagem. Os experimentos de Baruselli et al. (2008) indicaram que a IA, com sêmen sexado após a SOV, mais tardia (de 18 horas a 32 horas após a detecção do cio), e com a administração de GnRH, pode melhorar a percentagem de embriões transferíveis.

Considerações finais

O benefício econômico do uso de sêmen sexado depende, fundamentalmente, da condição de fertilidade do rebanho. Em rebanhos bovinos com baixa fertilidade, o custo de produção de terneiros é muito maior, já que exige um número maior de doses por terneiro. Para um pequeno número de rebanhos considerados de elite, sua utilização não depende necessariamente do aumento da eficiência do processo de produção de leite ou carne, mas, sim, de que esteja associada a certos fatores, como reduzido número de animais, competições em exposições de gado e biossegurança de rebanhos em desenvolvimento. Enquanto a eficiência do processo de separação de sêmen não for aperfeiçoada e o custo não for reduzido, o nicho da utilização do sêmen sexado ficará limitado basicamente a essas categorias. Quando forem atingidos índices de fertilidade normais e o preço da dose inseminante de sêmen sexado estiver próximo de US\$ 10,00, a utilização de sêmen sexado será benéfica, econômica e ambientalmente, para a maioria dos rebanhos bovinos (SEIDEL JUNIOR, 2003).

As implicações são óbvias: o uso do sêmen sexado é uma ferramenta valiosa quando é tolerada a diminuição de cerca de 20% da taxa de prenhez, como, por exemplo, em novilhas e vacas de primeira cria. No entanto, com o custo adicional de sêmen sexado, associado à baixa fertilidade, essa tecnologia tem de ser avaliada nas IA de vacas leiteiras de alta produção. O uso do sêmen sexado, aliado a outras biotécnicas, como a produção in vitro de embriões, apresenta grandes vantagens, a exemplo da redução de custos e dos resultados mais aplicáveis, como na multiplicação de animais superiores, graças à geração mais eficiente de fêmeas de reposição nos rebanhos leiteiros.

Referências

ALVAREZ, R. H. Dez perguntas e respostas sobre o uso do sêmen sexado dos bovinos. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 9, n. 1, Jan./Jun. 2012. Disponível em: <<http://www.aptaregional.sp.gov.br>>. Acesso em: 9 nov. 2012.

- ARRUDA, R. P.; CELEGHINI, E. C. C.; ALONSO, M. A.; CARVALHO, H. F.; LEMES, K. M.; SILVA, D. F.; RODRIGUEZ, S. A. F.; AFFONSO, F. J. Aspects related to the technique and the utilization of sexed semen *in vivo* and *in vitro*. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 345-353, July/Sept. 2012.
- BARUSELLI, P. S.; MARTINS, C. M.; SALLES, J. N. S.; FERREIRA, R. M. Recent advances in bovine superovulation. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, suppl. 2, p. 433-448, 2008.
- BEKMAN, H.; MEUWISSEN, T. H. E.; OLDENBROEK, J. K. Increasing beef production from dairy cows by implanting embryos from MOET nucleus breeding schemes for beef cattle. **Livestock Production Science**, v. 37, n. 3, p. 271-282, 1994.
- BODMER, M.; JANETT, F.; HÄSSIG, M.; DEN DAAS, N.; REICHERT, P.; THUN, R. Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and non-sorted sperm under field conditions. **Theriogenology**, v. 64, n. 7, p. 1647-1655, 2005.
- BORCHERSEN, S.; PEACOCK, M.; Danish A.I. field data with sexed semen. **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 59-63, 2009.
- BRUM, D. S.; LEIVAS, F. G.; SALIBA, W. P.; ALVIM, M. T. T. Espermatóides sexados na produção *in vitro* de embriões (PIV) bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 1, p. 348, 2005.
- CARVALHO, J. O.; SARTORI, R.; DODE, M. A. N. Different ways to evaluated sexed sperm *in vitro*. **Animal Reproduction**, v. 11, n. 3, p. 199-206, July/Sept. 2014.
- CERCHIARO, I.; CASSANDRO, M. R.; DAL ZOTTO, P.; CARNIER, P.; GALLO, L. A field study on fertility and purity of sex-sorted cattle sperm. **Journal of Dairy Sciences**, v. 90, n. 5, p. 2538-2542, 2007.
- CHEW, B. P.; MAIER, L. C.; HILLERS, J. K.; HODGSON, A. S. Relationship between calf birth weight and dam's subsequent 200- and 305-day yields of milk, fat, and total solids in Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 64, n. 12, p. 2401-2408, 1981.
- DEJARNETTE, J. M.; NEBEL, R. L.; MARSHALL, C. E. Evaluating the success of sex-sorted semen in US dairy herds from on farm records. **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 49-58, 2009.
- DEJARNETTE, J. M.; NEBEL, R. L.; MARSHALL, C. E.; MORENO, J. F.; MCCLEARY, C. R.; LENZ, R. W. Effect of sex-sorted sperm dosage on conception rates in Holstein heifers and lactating cows. **Journal of Dairy Sciences**, v. 91, n. 5, p. 1778-1785, 2008.
- DEMATAWEWA, C. M. B.; BERGER, P. J. Break-even cost of cloning in genetic improvement of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 4, p. 1136-1147, 1998.
- ERENO, A. F. C.; ANDRADE, R. F.; PONTES, J. H. F. Produção *in vitro* de embriões em diferentes raças zebuínas utilizando espermatóides sexados por citometria de fluxo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 1, p. 349, 2005.
- FRIJTERS, A. C. J.; MULLAART, E.; ROELOFS, R. M. G.; HOORNE, R. P. van; MORENO, J. F.; MORENO, O.; MERTON, J. S. What affects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process? **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 64-67, 2009.
- GARNER, D. L. Hoechst 33342: The dye that enabled differentiation of living X-and Y-chromosome bearing mammalian sperm. **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 11-21, 2009.
- GARNER, D. L.; GLEDHILL, B. L.; PINKEL, D.; LAKE, S.; STEPHENSON, D.; DILLA, M. A. van. Quantification of the X- and Y-chromosome-bearing spermatozoa of domestic animals by flow cytometry. **Biology of Reproduction**, v. 28, n. 2, p. 312-321, 1983.
- GERHARDT, B. T.; SINEDINO, L. D. P.; DOURADO, A. P.; ALVES, P. A. M.; NOGUEIRA, L. A. G. Taxa de concepção com sêmen sexado ou convencional e viabilidade econômica em vacas Girolandas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 36, n. 2, p. 128-132, abr./jun. 2012.
- GORDON, M. J. Control of sex ratio in rabbits by electrophoresis of spermatozoa. **Proceedings of National Academic Sciences**, v. 43, n. 10, p. 913-918, 1957.

- GOSÁLVEZ, J.; RAMIREZ, M. A.; LÓPEZ-FERNÁNDEZ, C.; CRESPO, F.; EVANS, K. M.; KJELLAND, M. E.; MORENO, J. F. Sex-sorted bovine spermatozoa and DNA damage: I. Static features. **Theriogenology**, v. 75, n. 2, p. 197-205, 2011a.
- GOSÁLVEZ, J.; RAMIREZ, M. A.; LÓPEZ-FERNÁNDEZ, C.; CRESPO, F.; EVANS, K. M.; KJELLAND, M. E.; MORENO, J. F. Sex-sorted bovine spermatozoa and DNA damage: II. Dynamic features. **Theriogenology**, v. 75, n. 2, p. 206-211, 2011b.
- GUILBAULT, L. A.; ROY, G. L.; BECKERS, J. F.; DUFOUR, J. J. Influence of breed of fetus on periparturient endocrine responses and subsequent milk production of Ayrshire dams. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 10, p. 2766-2773, 1990.
- HAYAKAWA, H.; HIRAI, T.; TAKIMOTO, A.; IDETA, A.; AOYAGI, Y. Superovulation and embryo transfer in Holstein cattle using sexed sperm. **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 68-73, 2009.
- HOHENBOKEN, W. D. Applications of sexed semen in cattle production. **Theriogenology**, v. 52, n. 8, p. 1421-1433, 1999.
- JOHNSON, L. A. Sexing mammalian sperm for production of offspring: the state of the art. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 93-107, 2000.
- JOHNSON, L. A.; FLOOK, J. P.; LOOK, M. V. Flow cytometry of X and Y chromosome - bearing sperm for DNA using an improved preparation method and staining with HOECHST 33342. **Gamete Research**, v. 17, n. 3, p. 203-212, 1987.
- JOHNSON, L. A.; PINKEL, D. Modification of a laser-based flow cytometer for high resolution DNA analysis of mammalian spermatozoa. **Cytometry**, v. 7, p. 268-273, 1986.
- KANEKO, S.; OSHIO, S.; KOBAYASHI, T.; IIZUKA, R.; MOHRI, H. Human X- and Y-bearing sperm differ in cell surface sialic acid content. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 124, n. 3, p. 950-955, 1984.
- KOO, G. C.; MITTL, L. R.; GOLDBERG, C. L. Expression of H-Y antigen during spermatogenesis. **Immunogenetics**, v. 9, n. 1, p. 293-296, 1979.
- MITTWOCH, U. Sex determination in mythology and history. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 49, n. 1, p. 7-13, 2005.
- MOCÉ, E.; GRAHAM, J. K.; SCHENK, J. L. Effect of sex-sorting on the ability of fresh and cryopreserved sperm to undergo an acrosome reaction. **Theriogenology**, v. 66, n. 4, p. 929-936, 2006.
- MORRIS, C. A.; BENNETT, G. L.; BAKER, R. L.; CARTER, A. H. Birth weight, dystocia and calf mortality in some New Zealand beef breeding herds. **Journal of Animal Sciences**, v. 62, n. 2, p. 327-343, 1986.
- NICHOLAS, F. W.; SMITH, C. Increased rates of genetic change in dairy cattle by embryo transfer and splitting. **Animal Production**, v. 36, n. 3, p. 341-353, 1983.
- NORMAN, H. D.; HUTCHISON, J. L.; MILLER, R. H. Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States. **Journal of Dairy Sciences**, v. 93, n. 8, p. 3880-3890, 2010.
- OLIVEIRA, K. M.; FRANCO, R. V. R.; DINIZ, E. G.; VIEIRA, F. V.; GALASSI, A. G.; TAVARES, M.; BRAGA, M. Q.; GALELI, G.; RODRIGUES, L. F. Primeiros resultados da FIV com espermatozoides sexados no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 1, p. 347, 2005.
- PENFOLD, L. M.; HOLT, C.; HOLT, W. V.; WELCH, G. R.; CRAN, D. G.; JOHNSON, L. A. Comparative motility of X and Y chromosome-bearing bovine sperm separated on the basis of DNA content by flow sorting. **Molecular Reproduction Development**, v. 50, n. 3, p. 323-327, 1998.
- PONTES, J. H. F.; SILVA, K. C. F.; BASSO, A. C.; RIGO, A. G.; FERREIRA, C. R.; SANTOS, G. M.; G.; SANCHES, B. V.; PORCIONATO, J. P. F.; VIEIRA, P. H. S.; FAIFER, F. S.; STERZA, F. A. M.; SCHENK, J. L.; SENEDA, M. M. Large-scale in vitro embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. **Theriogenology**, v. 74, n. 8, p. 1349-1355, 2010.

- RATH, D. G.; MOENCH-TEGEDER, G.; TAYLOR, U.; JOHNSON, L. A. Improved quality of sex-sorted sperm: a prerequisite for wider commercial application. **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 22-29, 2009.
- SÁ FILHO, M. F.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; NICHI, M.; FOSADO, M.; CAMPOS FILHO, E. P.; BARUSELLI, P. S. Strategies to improve pregnancy per insemination using sex-sorted semen in dairy heifers detected in estrus. **Theriogenology**, v. 74, n. 9, p. 1636-1642, 2010.
- SALES, J. N. S.; NEVES, K. A. L.; SOUZA, A. H.; CREPALDI, G. A.; SALA, R. V.; FOSADO, M.; CAMPOS FILHO, E. P.; FARIA, M. de; SÁ FILHO, M. F.; BARUSELLI, P. S. Timing of insemination and fertility in dairy and beef cattle receiving timed artificial insemination using sex-sorted sperm. **Theriogenology**, v. 76, n. 3, p. 427-435, 2011.
- SARTORI, R.; SOUZA, A. H.; GUENTHER, J. N.; CARAVIELLO, D. Z.; GEIGER, L. N.; SCHENK, J. L.; WILTBANK, M. C. Fertilization rate and embryo quality in superovulated Holstein heifers artificially inseminated with X-sorted or unsorted sperm. **Animal Reproduction**, v. 1, n. 1, p. 86-90, 2004.
- SCHENK, J. L.; CRAN, D. G.; EVERETT, R. W.; SEIDEL JUNIOR, G. E. Pregnancy rates in heifers and cows with cryopreserved sexed sperm: effects of sperm numbers per inseminate, sorting pressure and sperm storage before sorting. **Theriogenology**, v. 71, n. 5, p. 717-728, 2009.
- SEIDEL JUNIOR, G. E. Economics of selecting for sex: the most important genetic trait. **Theriogenology**, v. 59, n. 2, p. 585-598, 2003.
- SEIDEL JUNIOR, G. E.; SCHENK, J. L. Sex-selected semen. In: APPLIED REPRODUCTIVE STRATEGIES IN BEEF CATTLE, 2006, Rapid City. **Proceedings**... Brookings: South Dakota State University, 2006. p. 261-267.
- SHETTLES, L. B. Human spermatozoa shape in relation to sex ratio. **Fertility and Sterility**, v. 12, p. 502-508, 1961.
- STROUD, B. IETS 2012 statistics and data retrieval committee report. **Embryo Transfer Newsletter**, v. 29, n. 4, p. 14-23, 2012.
- SUH, T. K.; SHENK, J. L.; SEIDEL JUNIOR, G. E. High pressure flow cytometric sorting damages sperm. **Theriogenology**, v. 64, n. 5, p. 1035-1048, 2005.
- TONELLO, T. T. M.; ACCORSI, M. F.; FERRAZ, M. L.; WATANABE, M. R.; MEIRELLES, F. D. P.; MEIRELLES, F. V.; WATANABE, Y. F. Produção *in vitro* de embriões bovinos a partir de sêmen sexado. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 1, p. 350, 2005.
- TUBMAN, L. M.; BRINK, Z.; SUH, T. K.; SEIDEL JUNIOR, G. E. Characteristics of calves produced with sperm sexed by flow cytometry/cell sorting. **Journal of Animal Sciences**, v. 82, n. 4, p. 1029-1036, 2004.
- VAN VLECK, L. D. Potential genetic impact of artificial insemination, sex selection, embryo transfer, cloning and selfing in dairy cattle. In: BRACKETT, B. G.; SEIDEL JUNIOR, G. E.; SEIDEL, S. M. (Ed.). **New technologies in animal breeding**. New York: Academic Press, 1981. p. 221-242.
- VAN VLECK, L. D.; EVERETT, R. W. Genetic value of sexed semen to produce dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 59, n. 10, p. 1802-1807, 1976.
- VAN VLECK, L. D.; POLLAK, E. J.; BRANDFORD-OLTENACU, E. A. **Genetics for the animal science**. New York: W.H. Freeman, 1987. p. 287-313.
- WANG, H. X.; FLAHERTY, S. P.; SWANN, N. J.; MATTHEWS, C. D. Assessment of the separation of X- and Y- bearing sperm on albumin gradients using double-label fluorescence in situ hybridization. **Fertility and Sterility**, v. 61, n. 4, p. 720-726, 1994.
- WINDSOR, D. P.; EVANS, G.; WHITE, I. G. Sex predetermination by separation of X and Y chromosome- bearing sperm: a review. **Reproduction Fertility Development**, v. 5, n. 2, p. 155-171, 1993.
- XU, J.; CHAUBAL, S. A.; DU, F. Optimizing IVF with sexed sperm in cattle. **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 39-47, 2009.

BRUCELOSE

Claudiomar Soares Brod
Cláudia Pinho Hartleben

Introdução

A brucelose é uma doença infecciosa causada por bactérias do gênero *Brucella*. A infecção do rebanho bovino leiteiro tem sérias implicações econômicas, decorrentes de transtornos na reprodução entre os animais infectados. A *Brucella* infecta animais domésticos, silvestres (JORGE et al., 2008) e também o homem, sendo uma zoonose de distribuição mundial. No rebanho bovino, causa aborto, nascimento de terneiros fracos ou prematuros, esterilidade dos animais e baixa produção de leite.

Agente etiológico

O gênero *Brucella* é composto por sete espécies, cada uma das quais com seus hospedeiros preferenciais, ainda que não exclusivos, e em ordem cronológica de primeiro isolamento: *Brucella melitensis* (caprinos e ovinos – 1886, Malta), *Brucella abortus* (bovinos e bubalinos – 1887, Dinamarca), *Brucella suis* (suínos – 1914, USA), *Brucella ovis* (ovinos – 1953, Nova Zelândia), *Brucella neotomae* (rato-do-deserto – 1957, USA), *Brucella canis* (caninos – 1968, USA), e, mais recentemente, no Reino Unido, em 1994, foi isolado em mamíferos marinhos um grupo de brucela distinto daqueles das espécies conhecidas, que foi nomeado de *Brucella marinea* ou *maris* (PROGRAMA..., 2006).

A brucelose humana pode ser causada por uma das quatro espécies abaixo: *B. melitensis*, que ocorre mais frequentemente na população em geral, sendo a mais invasiva e patogênica, cujos reservatórios são os caprinos, os ovinos e os camelos; *B. abortus*, presente no gado bovino; *B. suis* e *B. canis*, que são transmitidas pelos suínos e pelos cães, respectivamente (PROGRAMA..., 2006; TRINDADE et al., 2008).

As bactérias do gênero *Brucella* são cocobacilos intracelulares facultativos, Gram-negativas, as quais infectam as células do sistema mononuclear fagocitário. Apresentam morfologia de colônias quando cultivadas em meio sólido, na forma de colônias lisas ou rugosas, conforme a composição do lipopolissacarídeo (LPS) de sua parede celular. A morfologia de colônias está associada à virulência da bactéria. As espécies *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis* crescem na forma de colônias do tipo lisa e, quando se apresentam na forma rugosa, são consideradas mutantes não virulentos. As espécies *B. ovis* e *B. canis* apresentam morfologia de colônia do tipo rugosa, também chamada mucoide (NIELSEN; DUNCAN, 1990).

Infecção em rebanhos bovinos

Os bovinos são suscetíveis à *B. suis* e à *B. melitensis*; contudo, a espécie mais prevalente nos rebanhos bovinos é a *B. abortus*. A via de penetração da brucela nos animais suscetíveis se dá pelas mucosas do trato digestivo, do trato genital ou pela mucosa nasal, e também pela conjuntiva ocular ou por soluções de continuidade da pele; contudo, a mucosa orofaríngea é considerada a principal para os bovinos.

Após a penetração no hospedeiro, a bactéria é fagocitada, chegando aos linfonodos regionais, onde se multiplica e pode permanecer por meses (NIELSEN; DUNCAN, 1990). Um importante fator determinante da virulência da *Brucella* é a produção de adenina e guanina monofosfato, que inibem a fusão do fagossoma com o lisossoma, a desgranulação, a ativação do sistema de Zn-Cu-superóxido dismutase e a produção de fator de necrose tumoral. Em seguida, podem ser liberadas na corrente sanguínea, livres ou dentro dos macrófagos. Dessa forma, vários períodos de bacteremia podem ocorrer e, via circulação sanguínea, a *Brucella* coloniza os tecidos do hospedeiro, principalmente aqueles que apresentam células do sistema mononuclear fagocitário, como o baço, o fígado e os linfonodos.

A colonização desses tecidos resulta em processos inflamatórios e alterações anatômicas, ocorrendo granulomas difusos e comprometimento dos órgãos afetados (esplenomegalia, hepatomegalia e hiperplasia linfoide). A *Brucella* coloniza os tecidos de maior disponibilidade metabólica e, por esse motivo, normalmente é encontrada no útero grávido, no tecido mamário, no ósseo e no articular, e também no sistema reprodutor masculino (AL DAHOUK et al., 2003; NIELSEN; DUNCAN, 1990).

A presença do álcool poli-hídrico (eritritol) é um fator determinante para a colonização do útero grávido. Na vaca, a partir do quinto mês de gestação, a concentração desse

metabólito aumenta até o parto, o que resulta na multiplicação da bactéria. Na fêmea prenhe, a infecção latente torna-se, então, aguda no terço final da gestação, caracterizada pela multiplicação bacteriana e por endotoxinas liberadas após a destruição bacteriana, o que acarreta lesões na placenta e um processo inflamatório dos tecidos e dos órgãos, causando placentite e descolamento de placenta. Todas essas lesões afetam a circulação materno-fetal, prejudicando a respiração e a alimentação fetal, e podendo causar a morte do feto.

O aborto por *Brucella* está diretamente associado à necrose dos tecidos placentários. Quadros subagudos resultam em abortos tardios, retenção de placenta, podendo a gestação chegar a termo, mas gerando terneiros fracos, que poderão morrer em alguns dias. Na fêmea bovina, a evolução do processo inflamatório pode resultar em metrite ou endometrite crônica e fertilidade reduzida, infertilidade ou esterilidade, com ou sem presença de corrimento vaginal (PROGRAMA..., 2006).

As vacas são mais suscetíveis à doença, principalmente quando prenhes, e estima-se que permanecerão cronicamente infectadas (SAMARTINO et al., 1999; TSCHOPP et al., 2013). Os touros também são suscetíveis e, quando infectados, eliminam a bactéria pelo sêmen (RECUERO et al., 2009). As fêmeas bovinas não gestantes, se expostas à bactéria, podem desenvolver infecção subclínica, sendo, então, consideradas assintomáticas. Os terneiros infectam-se na gestação ou pela ingestão do leite, e permanecem infectados pela bactéria, com colonização de linfonodos e tecido pulmonar. Assim, uma novilha infectada quando de sua prenhez apresenta título de anticorpos antibrucela durante a gestação (GODFROID et al., 2010).

Na espécie bovina, a *Brucella* é eliminada pelas descargas uterinas, pelo sêmen, pelo leite e pelas fezes. No parto ou aborto de uma fêmea infectada, são eliminadas grandes concentrações da bactéria, que podem contaminar o ambiente e infectar os animais suscetíveis (RECUERO et al., 2008).

A eliminação de brucelas pelo leite pode persistir por meses após o aborto. Na propriedade leiteira, a via de transmissão indireta deve ser considerada, sendo importantes vias de transmissão as pastagens e as águas contaminadas por brucelas, fômites e semens contaminados (RECUERO et al., 2009).

O período de incubação da brucelose pode ser de poucas semanas e até meses ou anos. Quanto mais adiantada estiver a gestação, menor será o período de incubação. Se a fêmea se infectar por via oral no momento do serviço, o período de incubação poderá se prolongar por até 200 dias. Se a fêmea se infectar 6 meses após a monta, a incubação se estenderá até 2 meses (OLSEN, 2013; TSCHOPP et al., 2013).

As perdas econômicas advindas da infecção brucélica representam: a) há aproximadamente 20% de perda na produção de leite (*PL*); b) cerca de 18% das fêmeas brucélicas prenhas correm o risco de abortar (*FBA*), tendo como consequência a perda de terneiros (*PT*); c) em torno de 10% das vacas infectadas tornam-se inférteis (perda de vacas – *PV*); e d) há perda de produção de carne (perda de carne – *PC*) em torno de 15% (*PMA* = 350 kg – peso médio ao abate).

Considerando uma propriedade com 100 vacas (*N*), com uma média de produção de leite por vaca por dia de 3,5 L, com um período médio de lactação de 270 dias, haveria uma produção de leite por vaca parida por ano (*PLVPA*) de 945 L de leite.

Considerando ainda uma taxa de natalidade (*TN*) de 80% e uma taxa de prevalência (*TP*) de brucelose de 15%, esses valores poderiam ser substituídos nas quatro fórmulas abaixo, para, em seguida, somarem-se as perdas.

$$PL = N \times TP \times TN \times PLVPA \times 20\% \therefore PL = 2.268 \text{ L de leite por ano.}$$

$$PT = N \times TP \times \%FBA (18\%) \therefore PT \therefore 3 \text{ terneiros abortados por ano.}$$

$$PV = N \times TP \times \%EFB (10\%) \therefore PV \therefore 2 \text{ vacas eliminadas por ano.}$$

$$PC = N \times TP \times PMA \times \%PCA (15\%) \therefore PC \therefore 788 \text{ kg de carne deixam de ser produzidas.}$$

Em que:

%EFB = percentual de esterilidade em fêmeas bovinas.

%PCA = percentual de produção de carne por animal.

Considerando o litro de leite produzido com R\$ 0,50, e R\$ 3,50 o valor do quilograma de carne em peso vivo, sem considerar os três terneiros abortados, tem-se um custo anual resultante de uma *TP* de 15%, de R\$ 6.342,00; isso sem considerar as perdas em saúde, caso algum funcionário, familiar ou o próprio produtor rural adquira brucelose.

Diagnóstico da brucelose bovina

Os bovinos infectados ou vacinados apresentam anticorpos contra os antígenos presentes na bactéria, os quais podem estar presentes no sangue e nas secreções, inclusive no leite (AL DAHOUK et al., 2003). Os anticorpos anti-*Brucella* detectados nos ensaios de

diagnóstico são das classes IgM e IgG. A IgM apresenta título máximo até 21 dias após a infecção, e a IgG é detectável no soro de animais em títulos máximos entre 30 e 42 dias após a infecção. Em bovinos infectados, os títulos de anticorpos IgM decrescem rapidamente; contudo, os anticorpos da classe IgG persistem por alguns meses, sendo a subclasse IgG1 a de maior ocorrência no soro de animais infectados (GODFROID et al., 2010). Experimentos em animais vacinados identificaram declínio acentuado de IgM, diminuição progressiva de IgG2 e manutenção ou aumento de IgG1 (NIELSEN; DUNCAN, 1990; PROGRAMA..., 2006).

O diagnóstico da brucelose bovina baseia-se principalmente na detecção de anticorpos gerados pelo animal quando da infecção por brucelas. A detecção dos anticorpos pode ser realizada no soro sanguíneo ou no leite, utilizando-se como antígeno específico a *B. abortus* cepa B19. Nos rebanhos bovinos leiteiros, o diagnóstico pode ser realizado no soro e em um *pool* de leite proveniente dos animais em lactação (AL DAHOUK et al., 2003; PROGRAMA..., 2006). Ademais, o diagnóstico direto pode ser feito por meio da detecção e do isolamento da bactéria, sendo restrita a laboratórios que atendam a condições de biossegurança compatíveis com esse microrganismo.

Diagnóstico indireto: detecção de anticorpos *anti-Brucella*

Teste do anel no leite

Esse teste utiliza a ligação das imunoglobulinas da classe IgA às moléculas de gordura do leite, em que o antígeno corado ligado ao anticorpo específico presente no leite (complexo antígeno/anticorpo) é carregado até a superfície dos tubos em virtude da sua baixa densidade de gordura. Quando há presença de anticorpos específicos, forma-se um anel colorido na superfície do tubo; quando negativo, o leite permanece azulado ou rosado (dependendo do corante ligado ao antígeno). Por esse motivo, o leite a ser testado deve estar íntegro, isto é, com gordura.

Esse diagnóstico aplica-se a rebanhos em lactação. É realizado em um *pool* de leite proveniente de até 700 vacas em lactação. O teste do anel no leite (TAL) deve ser utilizado periodicamente nos rebanhos em produção, pois se destina ao monitoramento da doença na população bovina de leite. No caso de reações positivas no TAL, faz-se necessária a coleta individual de sangue dos animais que produziram o leite testado, para identificar aqueles sororreagentes. Esse teste é de grande valia no monitoramento da presença de brucelose

em rebanhos leiteiros, sem precisar recorrer a um processo invasivo de coleta de sangue e manejo dos animais (RECUERO et al., 2009).

Algumas precauções para a execução do TAL, contidas no *Manual técnico do programa nacional de controle e erradicação da brucelose e da tuberculose animal* (PNCEBT), devem ser tomadas na coleta da amostra de leite para análise, tendo sido discutidas detalhadamente durante a realização de curso de treinamento, reconhecido pelo Mapa, ministrado por médicos-veterinários.

Teste do antígeno acidificado tamponado

O teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) é um teste de triagem, que deve ser confirmado caso apresente reações positivas. Esse teste é macroscópico e de fácil realização, exigindo, como instrumentos de laboratório, placas de vidro quadriculadas, micropipetas e caixa de luz indireta. O princípio do teste é a aglutinação do antígeno pelos anticorpos presentes no soro sanguíneo. Supõe-se que a IgG subclasse 1 seja o anticorpo detectável na reação, pois que o antígeno é acidificado para promover maior reatividade da IgG1. A detecção de IgM pode estar reduzida pelo pH, embora a literatura sugira que sua atividade permaneça nessas condições. Contudo, a não detecção de IgM pelo AAT não acarreta falsos negativos, já que os anticorpos IgG1 já estão presentes decorridas 2 semanas da infecção. A positividade do teste é considerada quando a reação do antígeno (*B. abortus*) corado com anticorpos específicos presentes no soro forma aglutinados visíveis a olho nu.

Soroaglutinação lenta em tubos

A soroaglutinação lenta em tubos (SAL) foi desenvolvida no ano de 1897, por Wright & Smith, tendo sido o primeiro ensaio de diagnóstico para brucelose. A sensibilidade e a especificidade dessa metodologia são consideradas baixas quando comparadas a metodologias mais modernas. Ela não é capaz de identificar anticorpos IgG de classe 1, que ocorrem em altos títulos na enfermidade.

Teste do mercaptoetanol

O teste do mercaptoetanol (2-ME) foi desenvolvido para aumentar a possibilidade de detecção de IgG1, pois que o tratamento do soro a ser testado com mercaptoetanol inviabiliza a conformação pentamérica da imunoglobulina de classe M, por destruição das

ligações bissulfídicas da IgM. O tratamento do soro a ser testado com 2-ME melhora as reações da IgG1.

Fixação de complemento

O teste de fixação de complemento é um ensaio confirmatório para brucelose, por meio de imunodiagnóstico. A avaliação desse teste em animais infectados, experimental ou artificialmente, demonstrou uma forte correlação de positividade e isolamento de *B. abortus* nesses animais. Essa técnica é uma exigência do mercado externo para o trânsito de animais. É laboriosa e realizada em laboratórios de maior complexidade.

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Os ensaios imunoenzimáticos, nos formatos indireto e competitivo, parecem ser os mais utilizados na América do Norte e na Europa. A acurácia desses testes é considerada muito boa; ademais, eles são de fácil execução e a possibilidade de leitura em um espectrofotômetro (máquina leitora de ELISA) diminui os erros de interpretação. Esses ensaios estão disponíveis nos formatos indireto (IELISA) e competitivo (CELISA) – ambos detectam anticorpos presentes no soro dos animais. Os dois ensaios baseiam-se na utilização de um antígeno de *B. abortus* imobilizado em uma placa de poliestireno, e na detecção dos anticorpos ligados ao antígeno, presentes em amostras de animais infectados, utilizando-se um segundo anticorpo conjugado a uma enzima. Esses ensaios têm sido utilizados em países europeus, em substituição ao AAT, para triagem e fixação do complemento, ou 2-ME, para confirmação. Apresentam como desvantagem a necessidade do emprego de espectrofotômetros leitores de placas, normalmente disponíveis em laboratórios de maior complexidade.

Fluorescence polarization assay (FPA)

O ensaio de polarização da fluorescência está baseado na utilização do fluoróforo fluoresceína (FITC) ligado ao antígeno lipopolissacarídeo (LPS) de *B. abortus*, o qual vai se ligar aos anticorpos antígeno específicos presentes no soro de animais positivos para brucelose (NIELSEN et al., 2001; SAMARTINO et al., 1999). No caso da presença de anticorpos anti-*B. abortus*, o complexo antígeno/anticorpo acarretará maior despolarização da luz em comparação com o antígeno/fluoresceína não ligado a anticorpos. Dessa forma, o LPS/FITC girará em alta velocidade (menor despolarização da luz) e, quando ligado aos anticorpos presentes no soro, girará lentamente (maior despolarização da luz).

O ensaio requer uma máquina analisadora da despolarização da luz. O leitor para polarização da fluorescência pode ser leitor de placas de 96 cavidades ou polarizadores portáteis para uma amostra; este último é indicado para laboratórios de baixa complexidade. O teste é sensível e específico e possui a vantagem de ser de fácil execução, sendo necessária somente a diluição dos soros testados e a adição do antígeno conjugado (PROGRAMA..., 2006). Essa metodologia já foi testada em amostras de soro no Brasil (COLLARES et al., 2011; LUIZ et al., 2010) e pode vir a ser um diagnóstico de rotina para brucelose.

Diagnóstico direto: detecção e cultivo de *Brucella abortus*

B. abortus pode ser identificada em amostras biológicas de animais suspeitos da infecção, utilizando-se meios de cultivo específicos, como Farrel e Brodie-Sinton. A bactéria, quando cultivada em meio sólido, apresenta-se em colônias pequenas, translúcidas, brilhantes, convexas, de bordos arredondados e bem definidos e, geralmente, de coloração leitosa. Desde a inoculação da amostra no meio de cultivo até a visualização de colônias, são necessários de 7 a 21 dias. Após o isolamento, é possível fazer a coloração pelos métodos de Ziehl-Neelsen e Koster modificados, sendo considerada Gram-negativa, e também é possível fazer a identificação bioquímica, como requerimento de CO₂, e também da produção de H₂S, da atividade urease e do crescimento em presença de tionina e fucsina (NIELSEN; DUNCAN, 1990).

Apesar de ser possível cultivar *in vitro*, para, em seguida, fazer a identificação, o cultivo desse microrganismo requer laboratórios que atendam ao nível de biossegurança III. Para detectar *Brucella* em amostras é possível proceder à reação em cadeia da polimerase (PCR), a qual se baseia na amplificação de sequências exclusivas da bactéria, diretamente da amostra biológica, dispensando, assim, seu cultivo em laboratório.

Vacinação contra brucelose bovina

No Brasil, a vacinação dos bovinos contra a brucelose é realizada com a cepa B19, que é formulada com brucelas vivas atenuadas (há risco de provocar a doença no homem e em animais se for mal manuseada). A escolha dessa cepa decorre de sua maior capacidade de ativação de macrófagos, da não multiplicação na presença de eritritol e de baixas reações locais e sistêmicas após a inoculação nos animais (NIELSEN; DUNCAN, 1990).

A imunidade conferida pela vacina B19 depende da idade da fêmea vacinada e do meio de aplicação. Confere proteção de até 75% contra o abortamento causado pela infecção. A eficácia da vacina, quando observada a idade correta para inoculação, é de 7 anos pós-vacinação.

A vacina formulada com a cepa B19 contém bactérias vivas, as quais, embora atenuadas, podem causar infecção em fêmeas vacinadas em período reprodutivo e em machos da espécie bovina. Ademais, acidentes vacinais podem infectar o homem. Em virtude de suas características, a vacina B19 (vacina viva atenuada) é recomendada para inoculação em fêmeas com idade entre 3 e 8 meses, devendo, porém, ser considerada a precocidade de algumas espécies quanto ao amadurecimento reprodutivo (OLSEN; TATUM, 2010). No caso de rebanhos de amadurecimento precoce (gado raça Jersey), o período máximo recomendado para a vacinação é de 6 meses de idade; dessa forma, espera-se um baixo título de anticorpos detectáveis no teste de diagnóstico prévio à estação reprodutiva.

A vacinação com *Brucella abortus* cepa B19 visa diminuir a infecção dos bovinos estabelecidos em áreas geográficas onde há alta prevalência da doença. Estudos epidemiológicos sugerem a aplicação sistemática da vacina B19 até a cobertura vacinal de 80% da população bovina, situação na qual a doença manifestará prevalência abaixo de 2% (PROGRAMA..., 2006).

Embora seja conhecida a importância de vacinar terneiras ainda jovens, muitas vezes, por motivos diversos, não é possível realizar esse procedimento, principalmente em situações em que o proprietário adquire as terneiras com idade superior à recomendada para a vacinação, ficando, nessas circunstâncias, os animais expostos a elevado risco de contrair a enfermidade. Nesses casos, é permitida a vacinação com a cepa RB51 (LORD et al., 1998), mas, em hipótese nenhuma, a vacinação com B19 pode ser realizada em fêmeas com idade superior a 8 meses (PROGRAMA..., 2006).

Considerações finais

A gravidade da presença da brucelose nos rebanhos bovinos advém não só das perdas econômicas que a doença implica para o criador, mas também do caráter zoonótico da enfermidade.

O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT) foi instituído em 2001, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), com o objetivo de diminuir o impacto negativo dessas zoonoses sobre a saúde

humana e a animal, e também no intuito de promover a competitividade da pecuária nacional. O PNCEBT introduziu a vacinação obrigatória contra a brucelose bovina e bubalina em todo o território nacional e definiu estratégias de certificação de propriedades livres ou monitoradas.

Inquéritos soroepidemiológicos realizados no período de 2001 a 2004 em 12 estados (BA, ES, GO, MG, MT, PR, SC, RJ, RS, SP, SE, TO) e no Distrito Federal mostram que a doença está disseminada em todas as áreas estudadas e que a situação é heterogênea entre estados e mesmo entre regiões de um mesmo estado. A baixa prevalência da doença em Santa Catarina permitiu ao estado implementar uma estratégia de erradicação da doença (ALVES; VILLAR, 2011). No Estado do Rio Grande do Sul, a prevalência tem se mantido baixa desde os inquéritos da década de 1970 e foram diminuindo como resultado do maior controle da doença em propriedades leiteiras. Os estudos de Marvulo et al. (2009) revelaram a situação epidemiológica da brucelose no Estado do Rio Grande do Sul.

Nesse estado, que foi dividido em sete circuitos produtores, as prevalências de focos e animais foram, respectivamente: circuito 1 (Sul) – 3,06% [1,40%–5,73%] e 0,95% [0,00%–1,97%]; circuito 2 (Fronteira Oeste) – 7,71% [4,95%–11,35%] e 1,04% [0,40–1,68%]; circuito 3 (Missões Central) – 5,66% [3,38%–8,79%] e 2,12% [0,41%–3,83%]; circuito 4 (Norte) – 0,66% [0,08%–2,37%] e 0,66% [0,00%–1,81%]; circuito 5 (Serra) – 0,66% [0,08%–2,38%] e 0,05% [0,00%–0,13%]; circuito 6 (Metropolitana) – 0,00% [0,00%–1,30%] e 0,00% [0,00%–0,25%]; e circuito 7 (Litoral Norte) – 5,45% [2,52%–10,10%] e 2,88% [0,49%–5,27%]. Os fatores de risco nesse estado foram exploração de corte e aborto.

Os objetivos específicos do programa de controle da brucelose são:

- Reduzir a prevalência e a incidência de novos focos de brucelose e tuberculose.
- Criar um número significativo de propriedades certificadas como livres de brucelose e tuberculose ou monitoradas para brucelose e tuberculose, e que ofereçam ao consumidor produtos de baixo risco sanitário.

Para garantir a qualidade técnica das ações do programa, foi elaborada uma série de medidas que visam a:

- Capacitar médicos-veterinários e laboratórios, tanto oficiais quanto privados.
- Padronizar os métodos de diagnóstico utilizados.
- Permitir ações de fiscalização e monitoramento que couberem ao serviço oficial de defesa sanitária animal.

- Melhorar a integração desse serviço de defesa sanitária com o serviço oficial de inspeção de produtos de origem animal.

Pelo exposto, conclui-se que a instituição da vacinação e o monitoramento dos rebanhos leiteiros por meio de imunodiagnóstico resultarão na diminuição da prevalência da infecção por *B. abortus* nessa população animal.

Referências

- AL DAHOUK, S.; TOMASO, H.; NÖCKLER, K.; NEUBAUER, H.; FRANGOULIDIS, D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis: a review of the literature: part II: serological tests for brucellosis. **Clinical Laboratory**, v. 49, n. 11-12, p. 577-589, 2003.
- ALVES, A. J. S.; VILLAR, K. S. Brucelose bovina e sua situação sanitária no Brasil: revisão de literatura. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 9, n. 2, p. 12-17, 2011.
- COLLARES, T. F.; LEAL, F. A.; SINNOTT, F.; SÁ, G. L.; BROD, C. S.; SAMARTINO, L. E.; MOREIRA, C. N.; HARTLEBEN, C. P. Utilização do ensaio de polarização da fluorescência (FPA) para detecção de anticorpos anti-*Brucella abortus* em soros de cães errantes. In: SIMPÓSIO SUL DE IMUNOLOGIA, 4.; ENCONTRO GAÚCHO DE IMUNOLOGIA, 22., 2011, Bento Gonçalves, 2011. **Anais...** [S.l.: s.n.], 2011. 1 CD-ROM.
- GODFROID, J.; NIELSEN, K.; SAEGERMAN, C. Diagnosis of brucellosis in livestock and wildlife. **Croatian Medical Journal**, v. 51, n. 4, p. 296-305, 2010.
- JORGE, S.; STARK, C. B.; RECUERO, A. L.; HARTLEBEN, C. P. Investigação de anticorpos anti-*Brucella abortus* em mamíferos silvestres *Leopardus geoffroyi* e *Cerdocyon thous*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado. **Anais...** [S.l.: s.n.], 2008. 1 CD-ROM.
- LORD, V. R.; SCHURIG, G. G.; CHERWONOGRODZKY, J. W.; MARCANO, M. J.; MELENDEZ, G. E. Field study of vaccination of cattle with *Brucella abortus* strains RB51 and 19 under high and low disease prevalence. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, n. 8, p. 1016-1020, 1998.
- LUIZ, J. P.; LEAL, F. A.; SINNOTT, F.; BROD, C. S.; HARTLEBEN, C. P. Avaliação do ensaio de polarização da fluorescência para o diagnóstico de brucelose bovina. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 19.; ENCONTRO DE PÓS GRADUAÇÃO, 12.; MOSTRA CIENTÍFICA, 2., 2010, Pelotas. **Anais...** [S.l.: s.n.], 2010. 1 CD-ROM.
- MARVULO, M. F. V.; FERREIRA, F.; DIAS, R. A.; AMAKU, M.; GROFF, A. C. M.; GONÇALVES, V. S. P.; FIGUEIREDO, V. C. F.; LÔBO, J. R.; FERREIRA NETO, J. S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 93-102, 2009. Suplemento 1.
- NIELSEN, K.; DUNCAN, J. R. **Animal brucellosis**. Boca Raton: CRC Press, 1990. 453 p.
- NIELSEN, K.; GALL, D.; SMITH, P.; KELLY, W.; YEO, J.; KENNY, K.; HENEGHAN, T.; MCNAMARA, S.; MAHER, P.; O'CONNOR, J.; WALSH, B.; CARROLL, J.; ROJAS, X.; ROJAS, F.; PEREZ, B.; WULFF, O.; BUFFONI, L.; SALUSTIO, E.; GREGORET, R.; SAMARTINO, L.; DAJER, A. ; LUNA-MARTINEZ, E. Fluorescence polarization assay for the diagnosis of bovine brucellosis: adaptation to field use. **Veterinary Microbiology**, v. 80, n. 2, p. 163-170, 2001.
- OLSEN, S. C. Recent developments in livestock and wildlife brucellosis vaccination. **Revue Scientifique Et Technique**, v. 32, n. 1, p. 207-217, 2013.
- OLSEN, S.; TATUM, F. Bovine brucellosis. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 26, n. 1, p. 15-27, 2010.
- PROGRAMA Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT): manual técnico. Brasília: MAPA-SDA-DSA, 2006. 188 p. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 4 nov. 2013.

RECUERO, A. L.; RADIN, J.; HERNANDEZ, J.; PRESTES, L.; NASCIMENTO, I.; QUINHONES, L. T.; FERNANDES, C. P. Brucelose bovina: diagnósticos realizados para o PNCBT no ano de 2008, na região sul do RS. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18.; ENCONTRO DE PÓS GRADUAÇÃO, 11.; MOSTRA CIENTÍFICA, 1., 2009, Pelotas. **Anais...** [S.l.: s.n.], 2009. 1 CD-ROM.

RECUERO, A. L.; STARK, C. B.; HENTGES, A.; MARTINS, P.; BANDEIRA, F.; HARTLEBEN, C. P.; BROD, C. S. Anticorpo anti-*Brucella* em terneiros de gado leiteiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado. **Anais...** [S.l.: s.n.], 2008. 1 CD-ROM.

SAMARTINO, L.; GREGORET, R.; GALL, D.; NIELSEN, K. Fluorescence polarization assay: application to the diagnosis of bovine brucellosis in Argentina. **Journal of Immunoassay and Immunochemistry**, v. 20, n. 3, p. 115-126, 1999.

TRINDADE, P. S.; STARK, C. B.; RECUERO, A. L.; JORGE, S.; HARTLEBEN, C. P.; BROD, C. S.; SILVA, C. M. Anticorpo anti-*Brucella abortus* em humanos expostos a fator de risco ocupacional. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado. **Anais...** [S.l.: s.n.], 2008. 1 CD-ROM.

TSCHOPP, R.; ABERA, B.; SOUROU, S. Y.; GUERNE-BLEICH, E.; ASEFFA, A.; WUBETE, A.; ZINSSTAG, J.; YOUNG, D. Bovine tuberculosis and brucellosis prevalence in cattle from selected milk cooperatives in Arsi zone, Oromia region, Ethiopia. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 9, p. 163, 2013.

LEPTOSPIROSE

Cláudia Pinho Hartleben
Claudiomar Soares Brod

Introdução

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial, causada pela infecção por qualquer um dos vários sorovares de *Leptospira*. Todos os mamíferos são suscetíveis à infecção por leptospiros patogênicas. A doença pode ocorrer na forma de infecção leve, subclínica ou, então, pode provocar a falência de múltiplos órgãos, resultando na morte do animal (ADLER; PEÑA, 2010). Entre os animais de companhia e os animais de produção, a leptospirose ocorre frequentemente em bovinos, suínos, cães e cavalos (FAINE et al., 1999). Em animais selvagens, a infecção também é comum, podendo esses animais servir como fonte de infecção para os animais domésticos e até mesmo para os humanos (JORGE et al., 2012a, 2012b). Embora a leptospirose ocorra em todo o mundo, é mais comum em climas quentes e úmidos, sendo endêmica em grande parte dos trópicos. Em climas temperados, a doença apresenta-se sazonal, com maior incidência em períodos de chuva. Atualmente, em torno de 300 sorovariantes (sorovares) de leptospiros patogênicas foram descritos, mas alguns sorovares predominam em determinadas regiões ou ecossistemas específicos e estão associados a um ou mais hospedeiros, os quais servem como reservatórios da infecção (ADLER; PEÑA, 2010).

Em bovinos, a leptospirose está associada à diminuição na produção animal e a transtornos reprodutivos, acarretando, conseqüentemente, perdas econômicas importantes na bovinocultura. Além disso, a doença é transmissível a humanos e a outros animais, tornando-se imperativo o controle dessa infecção na propriedade leiteira.

Agente etiológico da leptospirose

Bactérias do gênero *Leptospira* são espiroquetas aeróbias, Gram-negativas, e lembram a forma de um saca-rolha. A taxonomia da *Leptospira* é tão complexa que pode causar

confusão aos estudiosos. Até pouco tempo, o gênero *Leptospira* era dividido em dois grupos, sendo as leptospiros patogênicas classificadas como membros da espécie *L. interrogans*, e as não patogênicas ou saprófitas classificadas como *L. biflexa* (FAINE et al., 1999). Com o advento da informação genômica para a classificação de bactérias, o gênero *Leptospira* foi reorganizado, e as leptospiros agora são identificadas em 21 espécies de *Leptospira*, tendo sido os diversos sorovares distribuídos entre essas espécies (ADLER; PEÑA, 2010).

Dentro de cada uma dessas espécies, os sorovares são identificados pelos antígenos presentes em sua superfície e por técnicas moleculares. Assim, algumas espécies de sorovares de *Leptospira* que infectam animais domésticos ganharam um nome diferente. Por exemplo, a bactéria *L. interrogans* sorotipo (sorovar) Grippotyphosa é agora conhecida como *L. kirschneri* sorotipo Grippotyphosa. Os dois tipos de sorovar Hardjo foram formalmente divididos em duas espécies: o sorotipo Hardjo cepa hardjobovis (encontrado em grande parte do mundo) é agora *L. borgpetersenii* sorovar Hardjo (Hardjobovis); e o sorovar Hardjo cepa Hardjoprajitno (encontrado principalmente no Reino Unido) foi classificado como *L. interrogans* sorovar Hardjo (ADLER et al., 2011).

Além disso, a literatura pode citar a espécie *L. interrogans lato sensu* (leptospiros patogênicas) e a *L. interrogans stricto sensu* (espécie genômica). A mudança na nomenclatura refletiu na literatura científica da enfermidade, mas não em rótulos de vacinas e produtos farmacêuticos. Os nomes sorovar, sorotipo ou sorovariante permanecem, pois são importantes quando se discute sobre a epidemiologia, as características clínicas, o tratamento e a prevenção da leptospirose.

Os seguintes sorovares são de grande importância no rebanho bovino: o Hardjo, tanto o representante *L. interrogans* quanto o *L. borgpetersenii*, e o Pomona. Já os sorovares Grippotyphosa, Bratislava, Icterohaemorrhagiae e Canicola são ocasionalmente considerados causadores da enfermidade em bovinos. O sorovar Hardjo é o mais relatado como causador de leptospirose em bovinos no mundo, sendo os bovinos, aliás, considerados os hospedeiros de manutenção desse sorovar (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2008). Ademais, a infecção pelo sorovar Hardjo independe de estações chuvosas e do sistema de criação utilizado. Uma particularidade importante de leptospiros patogênicas é a sua capacidade de sobreviver fora do hospedeiro, o que contribui para a manutenção do ciclo epidemiológico da doença (FORSTER et al., 2013b). Assim, a infecção em reservatórios, tanto em animais domésticos quanto em silvestres, aumenta o risco da infecção de hospedeiros acidentais ou da infecção do rebanho leiteiro por leptospiros mantidas por hospedeiros de manutenção (FAINE et al., 1999). Esses hospedeiros de manutenção são muitas vezes espécies selvagens e às vezes outros animais domésticos. Dentro de suas

espécies hospedeiras de manutenção, cada sorotipo se comporta de forma diferente do comportamento das outras espécies de hospedeiros acidentais. Em hospedeiros de manutenção, a leptospirose é geralmente caracterizada por uma alta prevalência de infecção, sinais clínicos agudos relativamente leves e infecção persistente no rim e, por vezes, no trato genital (BHARTI et al., 2003).

Infecção em rebanhos bovinos

Muitas das infecções por *Leptospira* em bovinos são subclínicas, principalmente em animais não gestantes e não lactantes. A leptospirose aguda ou subaguda é comumente associada a infecções por sorovares mantidos por outros hospedeiros, sendo, então, os bovinos hospedeiros acidentais. Os sinais clínicos de infecção crônica manifestos no rebanho são normalmente associados com a perda reprodutiva, decorrente de aborto e natimortos (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2008). A infecção persistente do útero e dos ovidutos pela colonização desses tecidos pelo sorovar Hardjo pode provocar infertilidade, que, conseqüentemente, vai resultar na diminuição da concepção e no aumento do intervalo entre partos.

A leptospirose em sua forma aguda pode, raramente, ocorrer em terneiros infectados com sorovares mantidos por outros hospedeiros mamíferos (sorovares acidentais), como, por exemplo, a infecção pelo sorovar Pomona (um sorovar comumente mantido pela espécie suína). Os sinais clínicos dessa forma de infecção consistem em: febre alta, icterícia, congestão pulmonar, anemia hemolítica e hemoglobinúria. Com menor frequência, pode ocorrer meningite e morte.

Nas vacas em lactação, as infecções por sorovares acidentais, que podem ocorrer dependendo dos animais domésticos ou sinantrópicos instalados na propriedade leiteira, podem estar associadas à agalactia, com a presença de pequena quantidade de leite e sangue (FAINE et al., 1999).

Uma forma mais branda desse quadro de estagnação da produção de leite pode ocorrer em vacas lactantes infectadas com o sorovar Hardjo quando, então, não estão presentes outras evidências clínicas de infecção. A fase crônica da doença caracteriza-se pela infecção do feto em vacas prenhes, o que vai resultar em aborto, natimortos ou no nascimento de terneiros prematuros, fracos e infectados. O nascimento de terneiros aparentemente saudáveis, porém infectados, também pode ocorrer.

Em um rebanho leiteiro, a leptospirose pode se manifestar unicamente pela ocorrência de abortos e natimortos, fato que pode estar relacionado a infecções das vacas ocorridas até 12 semanas antes do parto. Os abortos decorrentes da infecção de fêmeas por sorovares acidentais, mantidos por outros hospedeiros, costumam ocorrer no final da gestação e em grupos de vacas, enquanto os abortos relacionados à infecção por sorovares do sorogrupo Hardjo ocorrem de forma esporádica, geralmente no terço final da gestação. Estima-se que, quando da introdução da *Leptospira* em uma propriedade bovina sem experiência imunitária prévia, pode-se esperar até 30% de abortos (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2008).

Diagnóstico da leptospirose bovina

O diagnóstico da infecção no rebanho por sorovares acidentais não é motivo de preocupação, já que os animais infectados desenvolvem anticorpos contra o sorovar infectante. Os títulos de anticorpos maiores que 800, identificados por soroaglutinação microscópica (MAT) no momento do aborto, são evidências da leptospirose causada por um sorovar acidental.

A presença de leptospiros no feto e na placenta pode ser comprovada, em alguns casos, por imunofluorescência, reação em cadeia da polimerase (PCR) ou imuno-histoquímica (FAINE et al., 1999; HAMOND et al., 2014). Contudo, o diagnóstico da infecção de um rebanho leiteiro por leptospiros adaptadas a essa espécie animal é difícil e, por isso, é preciso combinar mais de uma abordagem para diagnosticá-la. O diagnóstico realizado pela sorologia, que busca detectar anticorpos contra o sorovar da bactéria causadora da infecção, nem sempre identifica anticorpos contra o sorovar Hardjo, porque vacas infectadas, e até mesmo aquelas que estão eliminando leptospiros na urina, podem ser soronegativas no diagnóstico (BOLIN et al., 1991). Portanto, caso o diagnóstico sorológico seja negativo, é preciso confirmar se a bactéria foi realmente eliminada através da urina. Para tanto, são recomendados os testes de PCR, separação imunomagnética associada a PCR (IMS/PCR) ou imunofluorescência, ou ambos, seguidos de uma nova coleta de sangue para a sorologia através da MAT.

O diagnóstico de infecções em hospedeiros de manutenção é difícil, em virtude dos baixos títulos de anticorpos. Exemplos desse tipo de infecção são a infecção de suínos pelo sorovar Bratislava e a infecção de bovinos pelo sorovar Hardjo (PINNA et al., 2014). Em hospedeiros acidentais, a leptospirose é caracterizada por uma baixa prevalência de infecção, mas com sinais clínicos graves e uma fase de infecção renal curta. O diagnóstico de infecções acidentais é mais fácil de ser feito em virtude do alto título de anticorpos e da presença

de um grande número de bactérias nos tecidos dos animais infectados. Como exemplo desse tipo de infecção pode-se citar a infecção de caninos com o sorovar Grippotyphosa e a infecção de bovinos com o sorovar Icterohaemorrhagiae. Contudo, a caracterização de um hospedeiro de manutenção não é absoluta, pois o sorovar Pomona pode ocorrer em bovinos com persistência renal, mas acompanhada de títulos de anticorpos detectáveis na MAT (FAINE et al., 1999).

O diagnóstico da leptospirose em uma propriedade leiteira depende da história clínica, da vacinação e do teste diagnóstico. Os testes de diagnóstico para leptospirose abrangem aqueles que detectam anticorpos contra a bactéria e aqueles que detectam o próprio microrganismo em tecidos ou fluidos corporais. O teste sorológico é recomendado em todos os casos, podendo ser combinado com uma ou mais técnicas para a identificação da bactéria em tecidos ou fluidos biológicos. Os ensaios sorológicos são a técnica mais utilizada para o diagnóstico de leptospirose em animais; o teste de aglutinação microscópica (MAT) é o mais frequentemente utilizado e ainda é considerado o padrão para o diagnóstico da doença (FAINE et al., 1999; WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2008).

A MAT baseia-se na mistura de diluições apropriadas de soro, a ser testado com leptospiras vivas de sorovares prevalentes na região de ocorrência dos casos, detectados por reações positivas prévias na MAT, e na inclusão de possíveis sorovares de *Leptospira* isolados na região de origem dos soros bovinos a serem testados. A presença de anticorpos é identificada pela aglutinação de cada sorovar testado.

Na Tabela 1, estão relacionados os sorovares de *Leptospira* comumente utilizados para diagnóstico da leptospirose bovina utilizando a MAT. Observa-se que, na nomenclatura do sorovar, a grafia em itálico foi abolida. Os nomes do sorovar, do sorogrupo e da cepa (amostra), são escritos com letra inicial maiúscula. A descrição da espécie genômica deve ser em itálico. O gênero deve ser escrito com letra inicial maiúscula, e a espécie deve ser grafada com letras minúsculas.

Testes de diagnóstico alternativos têm sido desenvolvidos, entre os quais os imunoenaios enzimáticos (ELISA), que podem utilizar como antígenos extratos bacterianos, proteínas bacterianas purificadas ou antígenos recombinantes (HARTLEBEN et al., 2013). Esses ensaios são úteis como testes de triagem em grandes populações, podendo as reações positivas ser confirmadas pela MAT.

A interpretação dos testes sorológicos é influenciada por alguns fatores, como a reatividade cruzada de anticorpos, os títulos de anticorpos induzidos pela vacinação e a falta de consenso sobre qual dos títulos de anticorpos indicaria infecção.

Tabela 1. Sorovares de *Leptospira* comumente utilizados para diagnóstico da leptose bovina, utilizando a soroaglutinação microscópica (MAT).

Sorovar	Sorogrupo	Amostra	Espécie genômica
Castellonis	Ballum	Castellon	<i>L. borgpetersenii</i>
Bataviae	Bataviae	Van Tienem	<i>L. interrogans</i>
Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV	<i>L. interrogans</i>
Cynopteri	Cynopteri	3522C	<i>L. kirshneri</i>
Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva IV	<i>L. kirshneri</i>
Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis	<i>L. interrogans</i>
Copenhageni	Icterohaemorrhagiae	M 20	<i>L. interrogans</i>
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA	<i>L. interrogans</i>
Javanica	Javanica	Veldrat Batavia 46	<i>L. borgpetersenii</i>
Panamá	Panamá	CZ 214 K	<i>L. noguchii</i>
Pomona	Pomona	Pomona	<i>L. interrogans</i>
Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem	<i>L. interrogans</i>
Wolffi	Sejroe	3705	<i>L. interrogans</i>
Hardjo	Sejroe	Hardjoprajitno	<i>L. interrogans</i>
Sejroe	Sejroe	M 84	<i>L. Interrogans</i>
Hardjo	Sejroe	Lely 607	<i>L. interrogans</i>
Tarassovi	Tarassovi	Prelepelitsin	<i>L. borgpetersenii</i>
Patoc	Semarang	Patoc I	<i>L. biflexa</i>

Os anticorpos produzidos em resposta à infecção por um sorovar de *Leptospira* podem reagir de forma cruzada com outros sorovares. No entanto, se aceita como sorovar infectante aquele contra o qual o animal desenvolve o maior título de anticorpos. As reações ditas paradoxais podem ocorrer com o teste de aglutinação no início de uma infecção aguda, sendo que uma resposta de anticorpos aglutinantes maior pode ocorrer contra um sorovar diferente do sorovar infectante.

A vacinação do rebanho também deve ser feita, pois animais vacinados desenvolvem títulos de anticorpos detectáveis até 3 meses após a vacinação, com títulos de anticorpos que variam de 100 a 400, o que deve ser considerado na interpretação dos resultados da MAT. Em relação a baixos títulos de anticorpos presentes em um rebanho leiteiro, com manifestação crônica da doença, deve-se considerar a presença de um sorovar associado a esse hospedeiro de manutenção, ou seja, à própria espécie bovina.

No caso de leptospirose aguda, o aumento, em quatro vezes, do título de anticorpos é frequentemente observado em amostras de soro coletadas dos animais a intervalos de 7 a 10 dias. É importante salientar que o diagnóstico da leptospirose baseado em uma única amostra de soro deve ser feito com cautela, considerando-se as condições clínica e histórica de vacinação do animal. Em geral, com uma história clínica compatível e tendo a vacinação sido realizada há mais de 3 meses, um título de anticorpos de 800 a 1.600 é uma boa evidência presuntiva de leptospirose, mas é preciso recorrer ao laboratório para a interpretação do título. Os títulos de anticorpos podem persistir por meses após a infecção e a recuperação, mas geralmente diminuem gradualmente ao longo dos meses.

Além dos testes de diagnóstico que identificam anticorpos gerados durante a infecção, testes de diagnóstico desenvolvidos para a identificação da bactéria em tecidos, sangue, urina ou sêmen são indicados para a confirmação de portadores crônicos de *Leptospira* e para a confirmação da presença do agente em tecidos (FERNANDES et al., 2007; MONTE et al., 2011). Entre esses, podem ser citados: a) imunofluorescência: é um teste rápido, tem boa sensibilidade e possui grande valor de diagnóstico quando é preciso identificar portadores renais; b) imuno-histoquímica: é um teste útil para identificar leptospiros em tecidos, mas requer um grande número de bactérias no tecido analisado; c) PCR: é um teste que permite a detecção da bactéria, sendo útil para a identificação de animais portadores renais; contudo, não identifica o sorovar infectante (a reação de PCR pode ser associada à metodologia de separação magnética, com vista a aumentar a sensibilidade da técnica; e d) cultura de sangue, urina ou tecidos: é o método definitivo para a identificação do sorovar infectante.

Geralmente, considera-se que cultivos podem ser obtidos do sangue no início do curso clínico; e da urina, de 7 a 10 dias após o início dos sinais clínicos. Infelizmente, a obtenção de cultivos é difícil e demorada, em virtude das características da bactéria, além de requerer meios de cultivo especializados e de só poder ser realizada em laboratórios de diagnóstico especializados (JORGE et al., 2012a; MONTE et al., 2013).

Novas estratégias têm sido utilizadas visando melhorar as taxas de isolamento e cultivo de leptospiros ou mesmo sua identificação por PCR, podendo-se citar, entre elas, a imunoseparação magnética (IMS). A técnica de IMS baseia-se na utilização de um anticorpo específico contra leptospiros patogênicos, independentemente do sorovar, o qual está ligado a microesferas magnéticas (FERNANDES et al., 2008; MONTE et al., 2012). A adição desse anticorpo ligado a microesferas possibilita a captura de leptospiros em fluidos biológicos (sangue, urina, líquido, leite, sêmen), resultando na concentração de leptospiros a serem semeadas em meio de cultivo ou a serem identificadas por PCR.

Vacinação e tratamento da leptospirose bovina

O tratamento de bovinos acometidos de leptospirose aguda pode ser feito com tetraciclina, oxitetraciclina, ceftiofur e tilmicosina. Bactérias do gênero *Leptospira* são altamente suscetíveis a eritromicina, tiamulina e tilosina; contudo, esses antibióticos não são capazes de eliminar o estado de portador renal. A oxitetraciclina injetável de longa duração, na dose de 20 mg kg⁻¹, e o ceftiofur demonstraram ser eficazes em eliminar leptospiros quando de sua colonização renal em bovinos infectados pelo sorovar Hardjo (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2008). Recomenda-se, ademais, durante um surto de leptospirose, combinar a vacinação com o tratamento com antibiótico. É importante, porém, salientar que a vacinação isolada não reduz a eliminação da bactéria através da urina, no caso da infecção (FAINE et al., 1999).

As vacinas para a leptospirose bovina disponíveis no Brasil, da mesma forma como aquelas usadas em outros países, contêm os sorovares comumente associados à infecção dos bovinos, identificados diretamente pelo isolamento da bactéria, ou indiretamente pela presença de anticorpos nos soros bovinos contra esses sorovares, identificados em levantamentos soroepidemiológicos no País. Os sorovares Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippothyphosa e Pomona são os mais comumente encontrados nas formulações vacinais; em algumas dessas formulações vacinais, também são incluídos os sorovares Bratislava, Wolffii e Tarassovi (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2008).

As vacinas contra leptospirose dos bovinos atualmente disponíveis são preparadas com leptospiros inativas, associadas a adjuvantes. Essas vacinas conferem proteção imunitária contra a infecção causada pelos sorovares presentes na vacina. Contudo, a possibilidade de baixa proteção conferida pela vacina, no caso de infecções pelo sorovar Hardjo, já foi relatada por infecções experimentais e em condições de campo em que as vacinas comerciais não conferiram boa proteção contra a infecção por Hardjo.

A vacinação contra a leptospirose deve ser anual e aplicada em todo o rebanho em áreas de baixa prevalência da doença, mas, em regiões de alta prevalência, pode ser realizada a cada 6 meses. A vacinação é uma estratégia eficiente de controle da leptospirose bovina, sendo, a propósito, recomendada a vacinação de outros animais domésticos que vivam na propriedade leiteira.

Em virtude da dinâmica da infecção por leptospiros e da necessidade do cultivo de sorovares em larga escala para a produção da vacina atualmente utilizada, novas abordagens vacinais têm sido relatadas na literatura (DELLAGOSTIN et al., 2011; FORSTER et al., 2013a). Entretanto, essas vacinas necessitam ser testadas nas populações suscetíveis.

Considerações finais

A leptospirose é uma enfermidade preocupante quando acomete o rebanho leiteiro. É causada principalmente por leptospiras adaptadas a essa espécie animal. A adaptação das espécies de *Leptospira* e, conseqüentemente, dos sorovares distribuídos nessas espécies a novos hospedeiros merece muita atenção e cuidados, pois seu ciclo biológico é complexo e dinâmico (ADLER; PEÑA, 2010). A pressão causada pela vacinação também pode alterar a distribuição dos sorovares nas espécies animais. Desse modo, sorovares de *Leptospira* podem adaptar-se a mais de um hospedeiro, e um hospedeiro pode manter-se infectado por mais de um sorovar. Portanto, isolar leptospiras identificados em amostras clínicas é fundamental para o acompanhamento da dinâmica de sorovares e hospedeiros que participem do ciclo da doença em diferentes regiões geográficas.

A vacinação com preparações de células inteiras inativadas (bacterianas) possui eficácia limitada, por conta da grande variação antigênica do patógeno. Intensos esforços no sentido de desenvolver melhores vacinas recombinantes estão em andamento (DELLAGOSTIN et al., 2011). Durante a última década, numerosos relatos foram publicados descrevendo o desenvolvimento de vacinas recombinantes. Esses antígenos (proteínas recombinantes) obtiveram sucesso parcial quando foram utilizadas proteínas de superfície de *Leptospira* patogênica. A combinação dessas proteínas recombinantes com novos adjuvantes e sistemas de apresentação de antígeno pode resultar em vacina muito eficaz, necessária e muito esperada pelo setor produtivo leiteiro.

Considerando o exposto, conclui-se que a vacinação, associada ao diagnóstico clínico e à identificação de anticorpos, permanece como ferramenta de controle dessa enfermidade.

Referências

- ADLER, B.; LO, M.; SEEMANN, T.; MURRAY, G. L. Pathogenesis of leptospirosis: the influence of genomics. **Veterinary Microbiology**, v. 153, n. 1-2, p. 73-81, 2011.
- ADLER, B.; PEÑA, M. A. de la. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. 3-4, p. 287-296, 2010.
- BHARTI, A. R.; NALLY, J. E.; RICARDI, J. N.; MATTHIAS, M. A.; DIAZ, M. M.; LOVETT, M. A.; LEVETT, P. N.; GILMAN, R. H.; WILLIG, M. R.; GOTUZZO, E.; VINETZ, J. M. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Lancet Infectious Diseases**, v. 3, n. 12, p. 757-771, 2003.
- BOLIN, C. A.; CASSELLS, J. A.; ZUERNER, R. L.; TRUEBA, G. Effect of vaccination with a monovalent *Leptospira interrogans* serovar hardjo type hardjo-bovis vaccine on type hardjo-bovis infection of cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v. 52, n. 10, p. 1639-1643, 1991.

- DELLAGOSTIN, O. A.; GRASSMANN, A. A.; HARTWIG, D. D.; FELIX, S. R.; SILVA, E. F. da; MCBRIDE, A. J. Recombinant vaccines against leptospirosis. **Human Vaccines**, v. 7, n. 11, p. 1215-1224, 2011.
- FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and Leptospirosis**. 2nd ed. Melbourne: MedSci, 1999. 272 p.
- FERNANDES, C. P.; SEIXAS, F. K.; COUTINHO, M. L.; VASCONCELLOS, F. A.; SEYFFERT, N.; CRODA, J.; MCBRIDE, A. J.; KO, A. I.; DELLAGOSTIN, O. A.; ALEIXO, J. A. Monoclonal antibodies against LipL32, the major outer membrane protein of pathogenic *Leptospira*: production, characterization, and testing in diagnostic applications. **Hybridoma**, v. 26, n. 1, p. 35-41, 2007.
- FERNANDES, C. P.; SEIXAS, F. K.; COUTINHO, M. L.; VASCONCELLOS, F. A.; MOREIRA, A. N.; CONCEIÇÃO, F. R.; DELLAGOSTIN, O. A.; ALEIXO, J. A. An immunomagnetic separation-PCR method for detection of pathogenic *Leptospira* in biological fluids. **Hybridoma**, v. 27, n. 5, p. 381-386, 2008.
- FORSTER, K. M.; HARTWIG, D. D.; SEIXAS, F. K.; BACELO, K. L.; AMARAL, M.; HARTLEBEN, C. P.; DELLAGOSTIN, O. A. A conserved region of leptospiral immunoglobulin-like A and B proteins as a DNA vaccine elicits a prophylactic immune response against leptospirosis. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 20, n. 5, p. 725-731, 2013a.
- FORSTER, K. M.; HARTWIG, D. D.; SEIXAS, F. K.; MCBRIDE, A. J.; MONTE, L. G.; RECUERO, A. L.; BROD, C. S.; HARTLEBEN, C. P.; AMARAL, M.; DELLAGOSTIN, O. A. Characterization of a virulent *Leptospira interrogans* strain isolated from an abandoned swimming pool. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 1, p. 165-170, 2013b.
- HAMOND, C.; MARTINS, G.; LOUREIRO, A. P.; PESTANA, C.; LAWSON-FERREIRA, R.; MEDEIROS, M. A.; LILENBAUM, W. Urinary PCR as an increasingly useful tool for an accurate diagnosis of leptospirosis in livestock. **Veterinary Research Communications**, v. 38, n. 1, p. 81-85, 2014.
- HARTLEBEN, C. P.; LEAL, F. M.; MONTE, L. G.; HARTWIG, D. D.; SEIXAS, F. K.; VASCONCELLOS, S. A.; BRIHUEGA, B.; DELLAGOSTIN, O. A. Serological analysis by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant antigen LipL32 for the diagnosis of swine leptospirosis. **Current Microbiology**, v. 66, n. 2, p. 106-109, 2013.
- JORGE, S.; HARTLEBEN, C. P.; SEIXAS, F. K.; COIMBRA, M. A.; STARK, C. B.; LARRONDO, A. G.; AMARAL, M. G.; ALBANO, A. P.; MINELLO, L. F.; DELLAGOSTIN, O. A.; BROD, C. S. *Leptospira borgpetersenii* from free-living white-eared opossum (*Didelphis albiventris*): first isolation in Brazil. **Acta Tropica**, v. 124, n. 2, p. 147-151, 2012a.
- JORGE, S.; MONTE, L. G.; COIMBRA, M. A.; ALBANO, A. P.; HARTWIG, D. D.; LUCAS, C.; SEIXAS, F. K.; DELLAGOSTIN, O. A.; HARTLEBEN, C. P. Detection of virulence factors and molecular typing of pathogenic *Leptospira* from capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*). **Current Microbiology**, v. 65, n. 4, p. 461-464, 2012b.
- MONTE, L. G.; CONCEIÇÃO, F. R.; COUTINHO, M. L.; SEIXAS, F. K.; SILVA, E. F. da; VASCONCELLOS, F. A.; DECASTRO, L. A.; HARTLEBEN, C. P.; DELLAGOSTIN, O. A.; ALEIXO, J. A. Monoclonal antibodies against the leptospiral immunoglobulin-like proteins A and B conserved regions. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 34, n. 5, p. 441-446, 2011.
- MONTE, L. G.; JORGE, S.; LUIZ, J. P.; SINNOTT, F.; SEIXAS, F. K.; ALEIXO, J. A.; SAMARTINO, L. E.; CONCEIÇÃO, F. R.; HARTLEBEN, C. P. Diagnosis of canine leptospirosis using an immunomagnetic separation-PCR method. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 2, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822012000200023>>. Acesso em: 26 mar. 2015.
- MONTE, L. G.; JORGE, S.; XAVIER, M. A.; LEAL, F. M.; AMARAL, M. G.; SEIXAS, F. K.; DELLAGOSTIN, O. A.; HARTLEBEN, C. P. Molecular characterization of virulent *Leptospira interrogans* serogroup Icterohaemorrhagiae isolated from *Cavia aperea*. **Acta Tropica**, v. 126, n. 2, p. 164-166, 2013.
- PINNA, A.; MARTINS, G.; HAMOND, C.; MEDEIROS, M. A.; SOUZA, G. N. de; LILENBAUM, W. Potential differences between *Leptospira* serovars, host-adapted (Bratislava) and incidental (Copenhageni), in determining reproductive disorders in embryo transfer recipient mares in Brazil. **Veterinary Record**, v. 174, n. 21, p. 531-534, 2014.
- WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**. 2008. Disponível em: <<http://www.oie.int/>>. Acesso em: 10 fev. 2015.

DOENÇAS VIRAIS NA REPRODUÇÃO DE BOVINOS LEITEIROS

Geferson Fischer
Marcelo de Lima

Introdução

Em 2011, o rebanho bovino brasileiro foi estimado em 212,9 milhões de cabeças. Nesse mesmo ano, o Brasil destacou-se como o segundo maior exportador mundial, atrás apenas dos Estados Unidos (POLL et al., 2012). No entanto, o País contabiliza perdas econômicas relacionadas a patologias que atingem os rebanhos e que podem prejudicar o ganho de peso e os índices reprodutivos, e até mesmo ocasionar a morte de animais.

Nesse contexto, as doenças infecciosas do trato reprodutivo são motivo de grande preocupação para proprietários e criadores de bovinos, pois, ao contraírem certas enfermidades, os animais perdem a capacidade de gerar novas crias, provocando, com isso, a queda na taxa de natalidade e diminuindo a eficiência reprodutiva. Diversos são os agentes etiológicos que causam enfermidades relacionadas ao sistema reprodutivo dos bovinos, como bactérias, fungos e parasitas. No grupo dos vírus, destacam-se os herpesvírus bovinos (*Bovine herpes virus* – BoHV) e o vírus da diarreia viral bovina (*Bovine viral diarrhea virus* – BVDV).

Herpesvírus dos bovinos

Os herpesvírus bovinos estão amplamente disseminados em países em que a bovinocultura, de corte e de leite, é explorada intensivamente. Esses vírus provocam infecções respiratórias (rinotraqueíte infecciosa bovina – IBR), vulvovaginite pustular infecciosa (IPV), balanopostite pustular infecciosa (IPB), conjuntivite, infertilidade, abortos, infecção multisistêmica fatal de neonatos e meningoencefalite, que são responsáveis por vultosos prejuízos econômicos à bovinocultura de corte e leite (KAHRS, 2001; FINO et al., 2012).

O agente

O genoma dos herpesvírus bovinos (BoHV), da família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirinae, gênero Varicellovirus, é constituído por uma molécula de DNA fita dupla, linear. O herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) está associado a doença respiratória, genital e aborto; o BoHV-2 é o agente da mamilite herpética, enquanto o BoHV-5 tem sido relacionado à encefalite herpética dos bovinos (ANZILIERO et al., 2011; FRANCO et al., 2012).

A estrutura e a organização genômica, a expressão gênica, a replicação do genoma e a função dos genes do BoHV-1 e do BoHV-5 são virtualmente idênticas. Os dois vírus apresentam homologia superior a 85% em seus nucleotídeos e aminoácidos. Com base nessas observações, utilizam-se a morfologia e a estrutura do BoHV-1 para descrever as propriedades do BoHV-5 (FLORES et al., 1998).

Os herpesvírus são sensíveis aos solventes lipídicos, como éter, acetona, deoxicolato de sódio e clorofórmio, que os tornam não infecciosos. São também sensíveis ao álcool etílico, ao éter etílico e a enzimas proteolíticas. O BoHV-1 é estável a uma faixa de pH entre 6,0 e 9,0, mas lábil a pH 4,5 a 5,0. É inativado por raios gama ou radiações ultravioletas (UV) (GUSTAFSON, 1981).

Epidemiologia e patogenia

A distribuição dos herpesvírus é mundial, com relato de casos em todos os continentes (TIKKO et al., 1995). Alguns países, em decorrência da identificação e da eliminação de animais positivos, são considerados livres da infecção, como Dinamarca e Suécia. No Brasil, o primeiro relato de isolamento ocorreu na Bahia, em um caso de vulvovaginite (ALICE, 1978). Desde então, o diagnóstico da infecção pelos BoHV tem sido feito pelo isolamento viral e pela detecção de anticorpos produzidos contra o vírus. Dados sobre infecções pelo BoHV-1 demonstram que a prevalência do vírus nos rebanhos varia de 8% a 82% em várias regiões do País (ALICE, 1978; VIDOR et al., 1995). Em levantamento sorológico realizado no extremo sul do Rio Grande do Sul, nos municípios de Santa Vitória do Palmar e Chuí, 31,14% das amostras analisadas (540/1.734) foram consideradas positivas para o BoHV-1. No mesmo estudo, foram detectados bovinos sorologicamente positivos para o BoHV-1 em 84,70% das propriedades (72/85) (QUINCOZES, 2005). A real prevalência de infecções pelo BoHV-5 não é conhecida, uma vez que a maioria dos estudos utiliza técnicas sorológicas, como a soroneutralização, que não permite distinguir resposta do sistema imune entre o BoHV-1 e o BoHV-5.

Bovinos são os principais reservatórios do BoHV-1. Entretanto, espécies de ruminantes silvestres, bubalinos, ovinos e caprinos já foram infectados experimentalmente pelo vírus (MOLLEMA et al., 2005; SIX et al., 2001) e podem representar fonte de infecção para a espécie bovina. Bovinos de todas as idades são suscetíveis a infecções experimentais, mas, em condições naturais, os animais jovens são mais suscetíveis (KAHRS, 1977; SCHUDEL et al., 1986). A doença geralmente ocorre em bovinos jovens, preferencialmente confinados, nas estações de outono e inverno (GUSTAFSON, 1981; SCHUDEL et al., 1986). Embora animais com idade superior a 6 meses sejam os mais comumente afetados, quando acometidos antes dos 6 meses desenvolvem doença mais severa (KAHRS, 1977). Surtos da doença podem aparecer quando animais portadores são colocados em rebanhos suscetíveis (GUSTAFSON, 1981). Não existem diferenças de suscetibilidade aos BoHV no que se refere a sexo e raça (KAHRS, 1977).

Uma característica epidemiológica muito importante dos herpesvírus é a sua capacidade de estabelecer latência em células ganglionares do animal infectado. Durante a latência, o genoma viral mantém-se na forma circular episomal, e a expressão gênica ocorre de forma limitada ou pode estar ausente. Quando os animais são expostos a fatores estressantes ou sua imunidade é suprimida, criam-se condições ideais para a reativação viral, que cursa com síntese e excreção de progênie infecciosa (JONES, 2003). Pronunciada recrudescência clínica durante o período de reativação viral e reexcreção do BoHV-1 nas secreções vaginais em títulos moderados já foram observadas (HENZEL et al., 2008), o que parece ser suficiente para manter a circulação do vírus em rebanhos.

A transmissão do BoHV-1 ocorre por meio de contato direto ou indireto entre animais, já que o vírus é disseminado através de secreções nasais, oculares e genitais, sêmen e anexos fetais de animais infectados ou por inalação de aerossóis contaminados. O contato direto é mais relevante na epidemiologia da doença, principalmente em rebanhos criados de modo intensivo ou semi-intensivo. A transmissão transplacentária já foi relatada e está condicionada ao estado imunológico da fêmea no momento da infecção (RADOSTITS et al., 2007).

As principais portas de entrada dos herpesvírus bovinos são as mucosas respiratória e genital. A replicação primária do vírus ocorre nas células epiteliais, bem como em células da submucosa e tecido conjuntivo, podendo permanecer nas secreções nasais e linfonodos do trato respiratório por mais de 9 dias. A primeira replicação provoca a lise celular, levando ao aparecimento dos primeiros sinais clínicos (congestão local, presença de secreções, lesões vesiculares ou erosivas) (FRANCO et al., 2012). Após a infecção primária, ocorre uma viremia transitória, raramente detectada, que precede o aparecimento de anticorpos específicos no animal (GIBBS; RWEYEMAMU, 1977).

O sêmen contaminado é responsável pela infecção venérea de fêmeas submetidas à inseminação artificial (IA) ou à monta natural. Durante a ejaculação, o sêmen entra em contato com a mucosa prepucial e a uretra, locais onde há maciça replicação viral (ENGELBURG et al., 1993; MÉDICO ZAJAC et al., 2006). Dessa forma, centrais de inseminação artificial podem ser propagadoras do patógeno, pois o BoHV-1 mantém sua viabilidade em amostras criopreservadas por até 1 ano (ROCHA et al., 1999). O sêmen de animais com balanopostite pustular infecciosa apresenta redução da mobilidade e anormalidades morfológicas dos espermatozoides.

Algumas características nos rebanhos podem influenciar na ocorrência da enfermidade: o constante ingresso de bovinos de diferentes origens, a presença de animais mais velhos, a aptidão leiteira e o maior número de cabeças por rebanho. Todos eles são fatores de risco para a ocorrência do BoHV-1 (BOELAERT et al., 2005). Dados obtidos por Dias et al. (2008) confirmam esses fatores de risco e incluem a compra de reprodutores e o uso de pastagens comuns.

Sinais clínicos e patologia

Forma respiratória e conjuntivite

A IBR pode apresentar-se de forma subclínica, leve ou severa, com cerca de 100% de morbidade, podendo chegar, embora raramente, a cerca de 5% a 10% de mortalidade. Os sinais clínicos iniciais são: depressão, inapetência, febre e descarga nasal, inicialmente serosa e posteriormente mucopurulenta, em virtude da infecção secundária por bactérias. A mucosa nasal se torna hiperêmica. As lesões, que podem ser de difícil visualização, progredem de pústulas locais a grandes áreas superficiais, hemorrágicas, cobertas por uma membrana diftérica. Pode haver dispneia, respiração pela boca, salivação e um profundo ruído brônquico. Casos agudos podem durar de 5 a 10 dias (FENNER et al., 1993).

A conjuntivite causada pelo BoHV-1, geralmente acompanhada da forma respiratória, caracteriza-se por secreção ocular profusa, inicialmente serosa e posteriormente mucopurulenta, e pela opacidade da córnea na região próxima à conjuntiva. Ocasionalmente, na conjuntiva, observam-se pústulas e placas de material necrótico. A evolução é de 5 a 10 dias (RIET-CORREA et al., 1996).

Forma reprodutiva

Os sinais clínicos que levam o produtor e o técnico a suspeitar de herpes-virose bovina são: infertilidade temporária, repetição deaios, morte embrionária, abortamento e natimortalidade. As maiores perdas econômicas estão associadas aos abortos e às repetições de cio.

A forma genital da infecção pelo BoHV-1 manifesta-se nas fêmeas por vulvovaginite pustular infecciosa (IPV). Os primeiros sinais são micção frequente, com elevação e movimentação da cauda para evitar o contato com a vulva edematosa e hiperêmica, e pequenas pústulas distribuídas na superfície da mucosa (FENNER et al., 1993). As pústulas possuem de 1 mm a 2 mm de diâmetro, e as lesões cicatrizam-se em torno de 10 a 14 dias (GIBBS; RWEYEMAMU, 1977).

Segundo Lovato et al. (1995), o sêmen contaminado, quando introduzido no útero, causa endometrite necrosante, que pode produzir infertilidade temporária. O vírus também causa severa lesão necrosante nos ovários, principalmente se a infecção ocorre na época da ovulação. O desenvolvimento do corpo lúteo pode ser prejudicado, interrompendo os ciclos estrais subsequentes, que voltam ao normal em torno de 2 meses após a infecção. Esse processo tem uma evolução de 4 a 7 dias (RIET-CORREA et al., 1996).

Nos machos, a balanopostite pustular infecciosa (IPB) manifesta-se de forma clínica ou subclínica. Após um período de incubação de 1 a 3 dias, a mucosa do pênis e a do prepúcio tornam-se hiperêmicas. Surgem pontos vermelho-escuros, que tendem a formar nódulos, vesículas e pústulas. Essas lesões podem coalescer, formando placas, úlceras e infecções bacterianas secundárias, que resultam em uma descarga prepucial purulenta. A IPB pode ser acompanhada por febre, depressão e perda de apetite (OIRSCHOT, 1995).

O aborto é uma possível seqüela de qualquer uma das formas da enfermidade por BoHV-1, inclusive de infecções subclínicas. Geralmente a taxa de aborto não supera 25%. Após a infecção, os abortos podem ocorrer em qualquer período da gestação, variando de 8 dias a vários meses, embora sejam mais frequentes no terço final da gestação (WEIBLEN, 1992). O aborto é frequentemente seguido por retenção de placenta.

Dependendo do período de gestação, as infecções por BoHV-1 podem determinar quadros de endometrite, ooforite, mortalidade embrionária com retorno ao cio, mortalidade fetal com aborto, mumificação (raramente), natimorto, nascimento de animais fracos e mortalidade neonatal (ALFIERI, 2003).

Forma sistêmica neonatal

Essa forma da doença manifesta-se em terneiros recém-nascidos, infectados no útero no final da gestação, durante o parto ou em seguida ao nascimento, sendo invariavelmente fatal (KAHRS, 1977). Os animais infectados desenvolvem lesões necróticas no sistema digestório, principalmente no fígado, e também linfonodos. Frequentemente há comprometimento do trato respiratório, com sinais clínicos e lesões típicas da forma respiratória (GIBBS; RWEYEMAMU, 1977).

Diagnóstico

Para garantir o correto diagnóstico laboratorial é preciso dar atenção especial ao material recolhido e à forma como ele é remetido ao laboratório. Para o isolamento viral e PCR, podem ser enviados: suabe nasal, suabe e raspado vaginal, sêmen fresco ou congelado, fragmentos de tecidos de fetos abortados e gânglios dos nervos sacral e trigêmio. Para a pesquisa de anticorpos, deve-se enviar soro sanguíneo, colhido de forma asséptica, ou sangue. Todo o material deve ser enviado sob refrigeração, devidamente identificado e acompanhado de um breve histórico e das alterações encontradas.

O diagnóstico virológico de infecções por BoHV-1 e BoHV-5 é feito pela identificação de antígenos virais em secreções ou tecidos de animais infectados, pelo isolamento do vírus em cultivos celulares, por lesões histopatológicas ou, então, recorrendo a métodos moleculares de diagnóstico (ROEHE et al., 1997).

O isolamento viral é a técnica-padrão para a detecção do BoHV-1 e do BoHV-5 (ROEHE et al., 1997). Para sua execução, suspensões à base de tecidos infectados ou de secreções são colocadas sobre cultivos primários de células ou linhagens celulares contínuas. Decorrido um período de incubação, que varia de 1 a 5 dias, a presença de vírus é detectada pelo efeito citopático (ECP) característico (arredondamento celular, vacuolização, agrupamento das células e desprendimento do tapete celular) (WEIBLEN et al., 1992). Nesse momento, o isolamento viral pode ser confirmado, mas a identificação dos herpesvírus deve ser feita por técnica diagnóstica auxiliar, geralmente a imunofluorescência direta (ID) ou a imunoperoxidase (IPX).

O teste sorológico padrão para a detecção de anticorpos anti-BoHV é a prova de soro-neutralização. Os animais positivos apresentam títulos médios entre 8 e 64. Ocasionalmente são detectados títulos mais altos, e alguns animais desenvolvem títulos muito baixos ou não detectáveis. A coleta pareada de soro (no início do quadro clínico e após 2 a 4 semanas)

dos animais pode auxiliar o diagnóstico (SCHILD et al., 1994). É importante destacar, no entanto, que essa técnica é incapaz de diferenciar os títulos provenientes da exposição ao vírus vacinal daqueles oriundos da exposição natural ao vírus de campo.

Testes imunoenzimáticos (ELISA) têm sido empregados no diagnóstico sorológico de infecções pelo herpesvírus bovino, em razão da sua sensibilidade e da rapidez de execução. Além disso, a técnica de PCR é sensível e específica. Outras técnicas são citadas, como hemaglutinação passiva, gel difusão e fixação de complemento, embora sejam menos utilizadas na rotina de laboratório (ROEHE et al., 1997).

Profilaxia e controle

Entre os principais fatores que vêm contribuindo para a disseminação das herpes-viroses figuram: a introdução nos rebanhos de animais sem exigências sanitárias necessárias para prevenir a infecção, a crescente utilização de confinamentos para a engorda de animais e, principalmente, a falta de informação dos criadores, das autoridades e dos veterinários sobre essas viroses. Em razão desses fatores, a infecção pelos herpesvírus bovinos tem sido controlada e prevenida por meio da combinação de uma variedade de práticas de manejo e pela execução de programas de vacinação (DONKERSGOED; BABIUK, 1991).

O controle de um surto pode ser garantido se forem adotadas medidas de higiene e se os animais enfermos forem isolados, embora seu sucesso também dependa da distribuição geográfica da enfermidade. A vacinação é recomendada em locais onde a infecção por herpesvírus é endêmica, bem como em propriedades que apresentem condições favoráveis para a transmissão viral. Nos estágios iniciais de um surto, a vacinação dos animais expostos pode diminuir o número de novos casos. Além disso, os surtos ocorrem mais frequentemente em rebanhos não vacinados, após situações de estresse.

A vacinação contra os herpesvírus bovinos tipo 1 e tipo 5 não previne a infecção, mas protege os animais contra as perdas econômicas das formas clínicas causadas pelos vírus. No Brasil, a vacinação é realizada com vacinas convencionais (inativadas ou viva atenuada). A utilização de vacinas recombinantes pode ser uma escolha acertada em locais que precisem diminuir a ocorrência da infecção para, posteriormente, erradicar o agente viral. Esse tipo de imunógeno permite a diferenciação entre cepas vacinais e não vacinais, por meio de um teste ELISA, que diagnostica anticorpos contra uma glicoproteína presente apenas nos isolados de campo. Contudo, apesar de inúmeros estudos em curso, não há vacinas recombinantes comerciais disponíveis no Brasil.

Segundo Fino et al. (2012), os veterinários devem levar em consideração alguns fatores antes de se decidirem por um programa de vacinação. Inicialmente, deve ser realizada uma análise de custo financeiro, levando-se em conta o valor cobrado pelo produto biológico e também os custos relativos ao manejo. Também deve ser feito um amplo diagnóstico diferencial, de forma a excluir outros agentes de problemas reprodutivos para o rebanho. Por último, deve ser feita uma avaliação rigorosa do manejo implementado no rebanho, de maneira a minimizar o estresse e a evitar a expressão de herpesvírus latentes. O estresse será sempre um complicador; por isso, a utilização exclusiva de produtos biológicos (vacinas) pode não resolver determinadas situações de surtos causados por herpesvírus.

Além das práticas já citadas, durante o surto os animais doentes devem ser isolados e tratados com antibióticos de largo espectro, visando prevenir infecções secundárias (FENNER et al., 1993). Além disso, a maior incidência da encefalite em rebanhos confinados sugere que a densidade populacional é um fator crítico na disseminação viral. Portanto, a redução da densidade populacional nesses rebanhos pode prevenir a transmissão da doença entre os animais.

Diarreia viral bovina

○ agente e a enfermidade

A diarreia viral bovina (*Bovine viral diarrhea virus* – BVDV) é uma enfermidade infecciosa transmissível, que foi descrita por pesquisadores da Universidade de Cornell, EUA, em 1946. É uma doença aguda, caracterizada por leucopenia, febre alta e diarreia, além de erosões no trato gastrointestinal e hemorragias (BAKER, 1995). Atualmente, a DVB é considerada uma das principais enfermidades virais de bovinos, sendo associada a várias manifestações clínicas e perdas econômicas importantes em rebanhos de corte e leite, em todo o mundo (LINDBERG, 2003).

A doença é causada por um vírus (*Bovine viral diarrhea virus* – BVDV), classificado na família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus* (HORZINEK, 1991). Uma característica importante entre os isolados do BVDV é a grande variabilidade genética e antigênica, que resultou na divisão em dois grupos principais – BVDV-1 e BVDV-2 –, além de diversos subgrupos (RIDPATH et al., 1994).

Embora a maioria das infecções pelo BVDV curse de forma inaparente, várias manifestações clínicas, incluindo doença aguda fatal, têm sido descritas em bovinos (BAKER, 1995).

Enfermidade gastroentérica aguda ou crônica, doença respiratória em bezerros, síndrome hemorrágica, patologias cutâneas, imunossupressão e infertilidade temporária estão entre as consequências clínicas mais frequentes da infecção pós-natal pelo BVDV em animais soronegativos. No entanto, as maiores consequências da infecção pelo vírus parecem estar relacionadas com as perdas reprodutivas em bovinos de corte e leite (BAKER, 1995).

Epidemiologia

Conquanto os bovinos sejam considerados os hospedeiros naturais, o BVDV é capaz de infectar uma ampla variedade de ruminantes domésticos e silvestres, além de suínos (RIDPATH; FLORES, 2012). Cabe ressaltar que vírus pertencentes a ambos os grupos (BVDV-1 e BVDV-2) têm sido isolados em ruminantes, em todos os continentes, com exceção da Antártida (RIDPATH et al., 2010).

A infecção pelo BVDV possui distribuição mundial, com uma prevalência de anticorpos entre 70% a 80% dos animais e até 80% dos rebanhos bovinos na América do Norte e na Europa (FLORES et al., 2005). No Brasil, o primeiro relato associado ao BVDV foi uma descrição de doença gastroentérica com aspectos clínicos e patológicos compatíveis com a forma clássica da infecção (CORRÊA et al., 1968). Entretanto, o primeiro isolamento e a posterior identificação do vírus no País foram realizados utilizando soro de bezerros coletado para a utilização em cultivos celulares (VIDOR, 1974). Desde então, relatos de isolamento viral e sorologia positiva têm sido feitos em várias regiões, comprovando a ampla difusão do BVDV no rebanho bovino brasileiro (FLORES et al., 2005).

O vírus é transmitido entre animais pelo contato direto ou indireto, ou ainda pode ser disseminado de forma iatrogênica (por meio de agulhas, material cirúrgico, luvas de palpação, entre outros), ou, então, pelo sêmen contaminado. Entretanto, um aspecto de grande importância epidemiológica é a presença de animais persistentemente infectados (PI) pelo vírus durante o período de gestação. Esses animais podem ser clinicamente saudáveis, mas constituem a principal forma de disseminação da infecção nos rebanhos, pela eliminação constante do vírus em secreções e excreções corporais (BAKER, 1995).

A infecção pelo BVDV em animais soronegativos pode ter consequências epidemiológicas distintas. Geralmente a enfermidade é autolimitante em animais com infecção aguda, embora possa ter consequências clínicas distintas. Animais não prenhes e infectados, na forma aguda, geralmente excretam o vírus por um período de 3 a 10 dias e soroconvertem entre 10 e 14 dias após a infecção inicial. Entretanto, a infecção de fêmeas prenhes entre os

dias 40 e 120 dias de gestação pode resultar no estabelecimento de infecção persistente no feto (RIDPATH; FLORES, 2012).

A introdução de animais PI ou em fase aguda da infecção e a presença de fêmeas que estejam gestando fetos PI constituem as formas mais comuns de introdução do BVDV em rebanhos soronegativos (BAKER, 1995).

Patogenia e sinais clínicos

Geralmente a maioria das infecções pelo BVDV é assintomática em animais imunocompetentes. No entanto, as consequências da infecção e a severidade da doença dependem fundamentalmente do status imunológico e reprodutivo dos animais, além da cepa viral envolvida e da ocorrência de infecções secundárias (RIDPATH; FLORES, 2012). O BVDV ainda é considerado um agente imunossupressor, podendo predispor animais infectados a outras infecções virais e/ou bacterianas (BAKER, 1995).

Enfermidade gastroentérica aguda ou crônica, doença respiratória em bezerros, síndrome hemorrágica, quadros persistentes de dermatite, imunossupressão e infertilidade temporária são exemplos de enfermidades frequentemente descritas e estão entre as consequências clínicas mais comuns da infecção pós-natal pelo BVDV em animais soronegativos. Entretanto, as maiores consequências da infecção pelo BVDV parecem estar relacionadas com as perdas reprodutivas que o vírus determina, embora seja identificado originalmente em casos de doença gastroentérica e frequentemente associado a esse tipo de enfermidade (BAKER, 1995).

A forma aguda severa da infecção normalmente está associada a altas taxas de morbidade e a baixas taxas de mortalidade nos animais afetados. Porém, numa outra forma clínica da enfermidade, conhecida como “doença das mucosas” (DM), baixa morbidade e alta mortalidade são comumente observadas (RIDPATH; FLORES, 2012). A DM ocorre em animais PI, geralmente em animais entre 6 meses e 2 anos de idade, e invariavelmente leva à morte do animal, causada por uma enfermidade gastroentérica grave (HOUE, 1999). É importante ressaltar que bezerros PI podem ser clinicamente saudáveis, mas geralmente são fracos e apresentam crescimento e desempenho inferiores aos dos outros animais do rebanho da mesma faixa etária.

A infecção de fêmeas prenhes resulta na transmissão transplacentária do vírus ao feto ou embrião, e a consequência clínica depende do período gestacional. De um modo geral, infecções nos primeiros 40 dias de gestação resultam em problemas na fertilização

e/ou na implantação do embrião, com subsequente retorno ao cio. Vencido esse período, podem ocorrer abortamento, mumificação fetal, malformação fetal, natimortalidade, nascimento de bezerras fracas, e também podem ser gerados animais PI. Infecções no terço final de gestação podem também resultar no nascimento de animais saudáveis e soropositivos (BAKER, 1995).

Diagnóstico

Considerando que essa ampla variedade de manifestações clínicas, associada à infecção pelo BVDV em bovinos, possa ser confundida com outras enfermidades, a suspeita clínica deve ser confirmada por testes laboratoriais de diagnóstico. A infecção pelo BVDV deve ser considerada, particularmente em casos de doença respiratória e/ou reprodutiva nos rebanhos (FLORES et al., 2005).

O diagnóstico laboratorial pode ser realizado pelo isolamento e pela identificação do vírus em amostras clínicas, ou, ainda, pela detecção de anticorpos específicos (BROCK, 1995). O isolamento viral no laboratório pode ser feito em amostras de sangue total, soro, secreções e tecidos (baço, timo, linfonodos e pulmão) coletados de animais com infecção aguda e/ou fetos abortados (DUBOVI, 2013). A detecção de anticorpos específicos no soro serve como um indicativo de exposição prévia ao agente em animais não vacinados; entretanto, a soroconversão detectada em amostras pareadas (coletadas em um intervalo de 3 a 4 semanas) pode confirmar a suspeita clínica. Todo o material suspeito deve ser bem acondicionado e permanecer refrigerado até a chegada ao laboratório.

O diagnóstico no rebanho pode ser feito por amostragem, isto é, sem testar cada um dos animais, e envolve várias estratégias. Uma alternativa aplicável a rebanhos leiteiros consiste na detecção de anticorpos em amostras individuais de leite ou em tanques coletivos (HOUE et al., 2006; SCHERER et al., 2002). A triagem de rebanhos leiteiros por essa metodologia é um método eficiente para conhecer o status dos rebanhos e é um bom indicativo de atividade viral (BRUM et al., 2004; DIÉGUEZ et al., 2008; LINDBERG; ALENIUS, 1999; STURZA et al., 2012).

Profilaxia e controle

A escolha das estratégias mais adequadas para a profilaxia e o controle da infecção pelo vírus da diarréia viral bovina depende fundamentalmente das condições específicas de cada rebanho (HOUE, 2003).

Em casos de suspeita de infecção pelo BVDV, é fundamental a avaliação da condição do rebanho para que as medidas mais adequadas sejam tomadas. Basicamente o controle sem vacinação é recomendado para propriedades fechadas (com ausência ou ingresso pouco frequente de animais) e que não tenham histórico clínico e/ou índices reprodutivos sugestivos de infecção pelo BVDV. Nesses casos, a manutenção do rebanho livre da infecção pelo BVDV implica a adoção de medidas gerais de biossegurança e a certificação de que todos os animais que venham a ingressar na propriedade sejam soronegativos. Já o controle pelo uso de vacinas é indicado para as seguintes situações: a) para rebanhos com histórico da infecção ou com sorologia positiva; b) para rebanhos com rotatividade de animais; e c) para propriedades que costumeiramente introduzam reprodutores e matrizes de diferentes procedências.

Em propriedades com histórico de infecção, as ações principais devem ser direcionadas à detecção e à eliminação dos animais PI, além da prática de vacinação sistemática de fêmeas soronegativas, para prevenir a infecção fetal e a consequente geração de animais PI (FULTON; BURGE, 2000; OIRSCHOT et al., 1999). Geralmente vacinas multivalentes são utilizadas para a prevenção e o controle de doenças respiratórias em bovinos. As formulações mais comuns consistem em combinações de antígenos do BVDV, herpesvírus bovino tipo-1 (BoHV-1), vírus sincicial respiratório bovino (BRSV), parainfluenza-3 (PI-3) e, em alguns casos, antígenos bacterianos (FLORES et al., 2005; OIRSCHOT et al., 1999).

No Brasil, somente são comercializadas vacinas inativadas, e muitas delas contêm apenas cepas americanas do BVDV. Acredita-se, ademais, que a vacinação contra o BVDV no nosso país seja praticada em uma parcela relativamente pequena de rebanhos (SCHERER et al., 2002). Apesar de apresentarem resultados superiores em comparação com as vacinas inativadas, principalmente no que se refere à proteção fetal e à prevenção do abortamento em vacas gestantes, as vacinas atenuadas ainda não estão disponíveis no mercado brasileiro (ARENHART et al., 2008; LIMA et al., 2004, 2005).

Referências

- ALFIERI, A. A. Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR): epidemiologia, imunologia e imunoprofilaxia. In: ENCONTRO DE PRODUTORES DE LEITE DA ZONA DA MATA MINEIRA, 1., 2003, Londrina. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. p. 79-88. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 92).
- ALICE, J. F. Isolamento do vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) no Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 38, n. 4, p. 919-920, 1978.
- ANZILIERO, D.; SANTOS, C. M. B.; BRUM, C. S.; WEIBLEN, R.; CHOWDHURY, S. I.; FLORES, E. F. A recombinant bovine herpesvirus 5 defective in thymidine kinase and glycoprotein E is immunogenic for calves and confers protection upon homologous challenge and BoHV-1 challenge. **Veterinary Microbiology**, v. 154, n. 1-2, p. 14-22, 2011.

- ARENHART, S.; SILVA, L. F. da; HENZEL, A.; FERREIRA, R.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Proteção fetal contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em vacas prenhes previamente imunizadas com uma vacina experimental atenuada. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 10, p. 461-470, 2008.
- BAKER, J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. **Veterinary Clinics of North America**, v. 11, n. 3, p. 425-445, 1995.
- BOELAERT, F.; SPEYBROECK, N.; KRUIT, A.; AERTS, M.; BURZYKOWSKI, T.; MOLENBERGHS, G.; BERKVEN, D. L. Risk factors for bovine herpesvirus-1 seropositivity. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 69, n. 3-4, p. 285-295, 2005.
- BROCK, K. V. Diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. **Veterinary Clinics of North America**, v. 11, n. 3, p. 549-561, 1995.
- BRUM, L. P. B.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; SCHERER, C. F. C.; KREUTZ, L. C.; DÜRR, J. W.; QUADROS, V. L. de; LIMA, M. de; MAZZUTTI, K. C.; PAN, K. A. Detecção de anticorpos contra o vírus da diarreia viral bovina (BVDV) em amostras de tanques de leite de rebanhos leiteiros do Rio Grande do Sul, RS. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 11, n. 1-2, p. 84-87, 2004.
- CORRÊA, W. V.; NETTO, L. Z.; BARROS, H. M. Nota clínico-patológica de uma enfermidade das mucosas em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 35, n. 4, p. 141-151, 1968.
- DIAS, J. A.; ALFIERI, A. A.; MÉDICI, K. C.; FREITAS, J. C.; FERREIRA NETO, J. S.; MÜLLER, E. E. Fatores de risco associados à infecção pelo herpesvírus bovino 1 em rebanhos bovinos da região Oeste do Estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 161-168, 2008.
- DIÉGUEZ, F. J.; YUS, E.; SANJUÁN, M. L.; VILAR, M. J.; ARNAIZ, I. Monitoring bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection status in dairy herds. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 12, p. 588-592, 2008.
- DONKERSGOED, J. V.; BABIUK, L. A. Diagnosis and managing the respiratory form of infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Medicine**, v. 86, n. 1, p. 86-94, 1991.
- DUBOVI, E. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea virus. **Biologicals**, v. 41, n. 1, p. 8-13, 2013.
- ENGELENBURG, F. A. C. van; MAES, R. K.; OIRSCHOT, J. T. van; RIJSEWIJK, F. A. M. Development of a rapid and sensitive polymerase chain reaction assay for detection of bovine herpesvirus type 1 in bovine semen. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 12, p. 3129-3135, 1993.
- FENNER, F. J.; GIBBS, E. P. J.; MURPHY, F. A.; ROTT, R.; STUDERT, M. J.; WHITE, D. O. **Veterinary virology**. San Diego: Academic Press, 1993. 666 p.
- FINO, T. C. M.; MELO, C. B.; RAMOS, A. F.; LEITE, R. C. Infecções por herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e suas implicações na reprodução bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 36, n. 2, p. 122-127, 2012.
- FLORES, E. F.; SILVA, A. M.; WEIBLEN, R. Neuropatogenicidade do herpesvírus bovino tipo 5 (HVB-5). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE HERPESVÍRUS BOVINO (TIPO 1 E 5) E VÍRUS DA DIARRÉIA VIRAL BOVINA (BVDV), 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Pallotti, 1998. p. 127-136.
- FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F. S. F.; ROEHE, P. M.; ALFIERI, A. A.; PITUCO, E. M. A infecção pelo vírus da diarreia viral bovina (BVDV) no Brasil: histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 125-134, 2005.
- FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M.; VARELA, A. P. M. Herpesviridae. In: FLORES, E. F. **Virologia veterinária: virologia geral e doenças víricas**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2012. p. 503-570.
- FULTON, R. W.; BURGE, L. J. Bovine viral diarrhea virus types 1 and 2 antibody response in calves receiving modified live virus or inactivated vaccines. **Vaccine**, v. 19, n. 2-3, p. 264-274, 2000.
- GIBBS, E. P.; RWEYEMAMU, M. M. Bovine herpesviruses: part 1: bovine herpesvirus 1. **Veterinary Bulletin**, v. 47, n. 5, p. 317-343, 1977.

- GUSTAFSON, D. P. Herpesvirus disease of mammals and birds: comparative aspects and diagnosis. In: KURSTAK, E.; KURSTAK, C. (Ed.). **Comparative diagnosis of viral disease**. New York: Academic Press, 1981. v. 3, p. 205-263.
- HENZEL, A.; DIEL, D. G.; ARENHART, S.; VOGEL, F. S. F.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Aspectos virológicos e clínico-patológicos da infecção genital aguda e latente pelo herpesvírus bovino tipo 1.2 em bezerras experimentalmente infectadas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 140-148, 2008.
- HORZINEK, M. C. Pestivirus-taxonomic perspectives. **Archives of Virology**, v. 3, p. 1-5, 1991. Supplementum.
- HOUE, H. Economic impact of BVDV infections in dairies. **Biologicals**, v. 31, p. 137-143, 2003.
- HOUE, H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. **Veterinary Microbiology**, v. 64, p. 89-107, 1999.
- HOUE, H.; LINDBERG, A.; MOENNIG, V. Test strategies in bovine viral diarrhoea virus control and eradication campaigns in Europe. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 18, n. 5, p. 427-436, 2006.
- JONES, C. Herpes simplex virus type 1 and bovine herpesvirus 1 latency. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 1, p. 79-95, 2003.
- KAHRS, R. F. Infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustularvulvovaginitis. In: KAHRS, R. F. **Viral diseases of cattle**. Ames: Iowa State University Press, 2001. p. 159-170.
- KAHRS, R. F. Infectious bovine rhinotracheitis: a review and update. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 171, n. 12, p. 1055-1064, 1977.
- LIMA, M.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F. S. F.; ARENHART, S. Caracterização de amostras atenuadas do vírus da diarréia viral bovina (BVDV) tipos 1 e 2 para uso em vacinas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 1, p. 35-42, 2004.
- LIMA, M.; VOGEL, F. S. F.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R. Anticorpos neutralizantes contra o vírus da diarréia viral bovina (BVDV): comparação entre um imunógeno experimental atenuado e três vacinas comerciais inativadas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 1, p. 230-234, 2005.
- LINDBERG, A. L. Bovine viral diarrhoea virus infections and its control: a review. **Veterinary Quarterly**, v. 25, n. 1, p. 1-16, 2003.
- LINDBERG, A. L.; ALENIUS, S. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. **Veterinary Microbiology**, v. 64, n. 2-3, p. 197-222, 1999.
- LOVATO, L. T.; WEIBLEN, R.; RABUSKE, M.; MORAES, M. P.; HÜBNER, S. O. Herpesvírus bovino tipo 1: isolamento de casos de vulvovaginite. **Semina**, v. 16, n. 1, p. 156-157, 1995.
- MÉDICO ZAJAC, M. M. del; PUNEL, M.; ZAMORANO, P. I.; SADIR, A. M.; ROMERA, S. A. BHV-1 vaccine induces cross-protection against BHV-5 disease in cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 81, n. 3, p. 327-334, 2006.
- MOLLEMA, L.; RIJSEWIJK, F. A.; NODELIJK, G.; JONG, M. C. Quantification of the transmission of bovine herpesvirus 1 among red deer (*Cervuselaphus*) under experimental conditions. **Veterinary Microbiology**, v. 111, n. 1-2, p. 25-34, 2005.
- OIRSCHOT, J. T. Bovine herpesvirus 1 in semen of bulls and the risk of transmission: a brief review. **Veterinary Quarterly**, v. 17, n. 1, p. 29-33, 1995.
- OIRSCHOT, J. T.; BRUSCHKE, C. J.; RIJN, P. A. van. Vaccination of cattle against bovine viral diarrhoea. **Veterinary Microbiology**, v. 64, n. 2-3, p. 169-183, 1999.
- POLL, H.; SANTOS, C.; REETZ, E. R. **Anuário brasileiro de pecuária 2012**. Santa Cruz: Gazeta, 2012. 128 p.
- QUINCOZES, C. G. **Prevalência e fatores de risco associados às infecções pelos herpesvírus bovino tipo 1 e 5 (BHV-1 e 5) e pelo vírus da diarréia viral bovina (BVDV) nos rebanhos dos municípios de Santa Vitória do Palmar e Chuí**. 2005. 117 f. Dissertação (Mestrado em Veterinária) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Veterinary medicine**: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Philadelphia: Saunders-Elsevier, 2007. 2156 p.

RIDPATH, J. F.; BOLIN, S. R.; DUBOVI, E. J. Segregation of bovine viral diarrhoea virus into genotypes. **Virology**, v. 205, n. 1, p. 66-74, 1994.

RIDPATH, J. F.; FULTON, R. W.; KIRKLAND, P. D.; NEILL, J. D. Prevalence and antigenic differences observed between Bovine viral diarrhoea virus subgenotypes isolated from cattle in Australia and feedlots in the southwestern United States. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 22, n. 2, p. 184-191, 2010.

RIDPATH, J.; FLORES, E. F. Flaviviridae. In: FLORES, E. F. (Org.). **Virologia veterinária: virologia geral e doenças víricas**. 2. ed. Santa Maria: Ed UFSM, 2012. p. 657-690.

RIET-CORREA, F.; MOOJEN, V.; ROEHE, P.M.; WEIBLEN, R. Víruses confundíveis com febre aftosa: revisão bibliográfica. **Ciência Rural**, v. 26, n. 2, p. 323-332, 1996.

ROCHA, M. A.; GOUVEIA, A. M. G.; LEITE, R. C. Herpesvírus bovino tipo 1 no sêmen. **Ciência Rural**, v. 29, n. 2, p. 373-380, 1999.

ROEHE, P. M.; ALMEIDA, R. S.; TEIXEIRA, M. F. B.; ESTEVES, P. A.; OLIVEIRA, E. A. S.; PETZOLD, S. A.; SILVA, T. C. Atualização no diagnóstico e controle de infecções por herpesvírus bovinos tipos 1 (BHV-1) e 5 (BHV-5). **Biológico**, v. 59, n. 2, p. 27-32, 1997.

SCHERER, C. F. C.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; KREUTZ, L. C.; DÜRR, J. W.; BRUM, L. P.; QUADROS, V. L.; LIMA, M. de. Técnica rápida de neutralização viral para a detecção de anticorpos contra o vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) no leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 45-50, 2002.

SCHILD, A. L.; RIET-CORREA, F.; PEREIRA, D. B.; LADEIRA, S.; RAFFI, M. B.; ANDRADE, G. B.; SCHUCH, L. F. Doenças diagnosticadas pelo Laboratório Regional de Diagnóstico no ano de 1993 e comentários sobre algumas doenças. **Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico**, v. 14, p. 20-22, 1994.

SCHUDEL, A. A.; CARRILLO, B. J.; WYLER, R.; METZLER, A. E. Infections of calves with antigenic variants of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) and neurological diseases. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 33, n. 4, p. 303-310, 1986.

SIX, A.; BANKS, M.; ENGELS, M.; BASCUNANA, C. R.; ACKERMANN, M. Latency and reactivation of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) in goats and of caprine herpesvirus 1 (CapHV-1) in calves. **Archives of Virology**, v. 146, p. 1325-1335, 2001.

STURZA, D. A. F.; ANZILIERO, D.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Testes de ELISA e vírus-neutralização na detecção de anticorpos contra o vírus da diarréia viral bovina no leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 11, p. 985-990, 2011.

TIKOO, S. K.; CAMPOS, M.; BABIUK, L. A. Bovine herpesvirus 1 (BHV-1): biology, pathogenesis, and control. **Advances in Virus Research**, v. 45, p. 191-223, 1995.

VIDOR, T. Isolamento e identificação do vírus da doença das mucosas no Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desiderio Finamor**, v. 2, p. 51-58, 1974. Suplemento especial.

VIDOR, T.; HALFEN, D. C.; LEITE, T. E.; COSWIG, L. T. Herpes vírus bovino tipo 1 (BHV-1): sorologia de rebanhos com problemas reprodutivos. **Ciência Rural**, v. 25, n. 3, p. 421-424, 1995.

WEIBLEN, R. Doenças víricas que interferem na produção leiteira. In: CHARLES, T. P.; FURLONG, J. **Doenças dos bovinos de leite adultos**. Coronel Pacheco: Embrapa-CNPGL, 1992. p. 45-62.

NEOSPOROSE

Nara Amélia Farias

Introdução

Neosporose é uma doença causada pelo *Neospora caninum*, um protozoário intracelular obrigatório, formador de cistos, que foi confundido com *Toxoplasma gondii* até 1984, tendo sido isolado e descrito como novo gênero e espécie por Dubey et al. (1988). Pode infectar vários hospedeiros, domésticos e silvestres, principalmente bovinos e cães. O grau de patogenicidade varia com a espécie de hospedeiro, sendo os bovinos os mais sensíveis. Essa doença é considerada uma das maiores causas de aborto e mortalidade neonatal em bovinos do mundo inteiro, podendo ainda levar ao nascimento de terneiros aparentemente saudáveis, porém infectados, responsáveis pela manutenção da infecção no rebanho. No Brasil, o primeiro relato de aborto bovino foi feito por Gondim et al. (1999).

O impacto econômico da neosporose bovina está relacionado ao valor dos fetos abortados, à redução da vida produtiva da vaca, ao aumento do intervalo entre partos, a possíveis quedas na produção de leite e a custos com profissionais e técnicas de diagnóstico (THURMOND; HIETALA, 1997). As estimativas feitas revelam perdas anuais de milhões de dólares em vários países. Cerca de 2/3 dessas perdas ocorrem na criação de bovinos de leite, enquanto 1/3, na de gado de corte (REICHEL et al., 2013).

A elevada frequência do parasito e as conseqüentes elevadas perdas ocorridas na bovinocultura leiteira devem possivelmente estar relacionadas à maior proximidade entre esses bovinos e o hospedeiro definitivo (cão) do protozoário, e ao maior estresse a que são submetidos esses animais pelo manejo diário, que pode levar à imunodepressão, que, por sua vez, pode induzir a reativação de infecções preexistentes (MOORE, 2005).

O potencial zoonótico é incerto, pois, embora tenham sido detectados anticorpos específicos em humanos (CUNHA, 2013; LOBATO et al., 2006), nunca foi detectado o parasito, nem seu DNA, em tecidos humanos. Mas o fato de macacos rhesus (*Macaca mulatta*) serem

infectados experimentalmente reforça a hipótese de que humanos possam ser hospedeiros ocasionais do parasito (BARR et al., 1994).

Ciclo biológico e transmissão

Ciclo biológico

Neospora caninum é um parasito heteroxeno que tem, como hospedeiros definitivos, o cão doméstico (*Canis familiaris*), o coiote (*Canis latrans*), o dingo australiano (*Canis lupus dingo*) e o lobo-cinza (*Canis lupus*), os quais eliminam oocistos nas fezes (DUBEY et al., 2011; GONDIN et al., 2004; KING et al., 2010; MCALLISTER et al., 1998). Os bovinos e outras espécies, como ovinos, equinos, bubalinos, cães, bisões e veados-da-cauda-branca, atuam como hospedeiros intermediários, formando cistos em seus tecidos (DUBEY; SCHARES, 2011). O ciclo biológico é composto por três fases: 1) fase de multiplicação rápida, com formação de taquizoítos; 2) fase de multiplicação lenta, com formação de bradizoítos no interior de cistos teciduais; e 3) fase sexuada (no intestino do hospedeiro definitivo), com posterior eliminação de oocistos (ATKINSON et al., 2000).

Evidências sorológicas sugerem que outros canídeos silvestres, como graxains ou sorros, comuns no Rio Grande do Sul, graxaim-do-campo (*Pseudalopex gymnocercus*), graxaim-do-mato (*Cerdocyon thous*), além de outros, como lobo-guará (*Chrysocium brachyurus*) e raposinha-do-nordeste ou raposinha-do-campo (*Dusicyon vetulus*), também possam ser responsáveis pela disseminação de oocistos, com consequente envolvimento na transmissão horizontal de *N. caninum* em propriedades rurais (BUXTON et al., 2002; CAÑÓN-FRANCO et al., 2004; DUBEY, 2003).

Durante algumas semanas, os cães eliminam oocistos não esporulados nas fezes, após terem ingerido tecidos infectados pelo agente, o que demonstra sua importância na transmissão horizontal da neosporose. Apenas 300 oocistos são suficientes para causar infecção em um bovino. Em condições ambientais favoráveis, os oocistos podem esporular (tornarem-se infectantes) dentro de 24 horas, sendo bastante resistentes aos efeitos ambientais e permanecendo viáveis, por longos períodos, no solo, na água e em fontes alimentares dos hospedeiros intermediários (ALVES NETO et al., 2011). Os oocistos esporulados de *N. caninum* contêm dois esporocistos, com quatro esporozoítos cada um.

Diferentemente do que ocorre com gatos, que normalmente só eliminam oocistos após a primeira infecção por *Toxoplasma gondii*, tornando-se, a partir de então, resistentes a infecções futuras, os cães podem se infectar e eliminar oocistos de *N. caninum* várias vezes ao longo de sua vida, embora, em infecções subsequentes, exista uma tendência de redução do número de oocistos eliminados (GONDIM et al., 2005).

O hospedeiro intermediário infecta-se ao ingerir oocistos esporulados presentes na água ou em alimentos. Após a ingestão, são liberadas as formas infectantes (esporozoítos), que atravessam a parede intestinal e alcançam a corrente sanguínea ou linfática, onde sofrem multiplicação rápida (taquizoítos). Os taquizoítos penetram ativamente nas células, dividem-se rapidamente e têm preferência por células nervosas, mas podem se multiplicar em diferentes tipos celulares (DUBEY et al., 2007). Nesses tecidos formam cistos, no interior dos quais se multiplicam lentamente (bradizoítos), e não são atingidos pelo sistema imunológico do hospedeiro, o que pode torná-lo portador infectado por toda a vida (DUBEY et al., 2006).

Ao ocorrer a ruptura de algum desses cistos teciduais, em decorrência, por exemplo, da imunodepressão gestacional, as formas liberadas tornam-se muito móveis e podem, pela corrente sanguínea, atingir a placenta e o feto, causando uma infecção que pode ser fatal (abortos ou natimortos). Podem também causar o nascimento de terneiros debilitados, animais com lesões aparentes, nervosas ou opacidade córnea (CUNHA FILHO, 2013), ou clinicamente saudáveis, porém portadores da infecção.

Os cães se infectam ao ingerir restos de placenta, fetos abortados, carcaças de natimortos ou de bovinos adultos, contaminados com cistos. Nas células epiteliais de seu intestino, ocorre a fase sexuada do ciclo do protozoário, gerando oocistos que são eliminados com as fezes. Dessa forma, é fechado o ciclo biológico de transmissão doméstica do parasito.

Segundo Gondim (2006), cervídeos são presas naturais de canídeos silvestres e suscetíveis à infecção por *N. caninum*, evidenciando a possibilidade de um ciclo de transmissão silvestre, que pode se mesclar e também contribuir para a contaminação de animais domésticos.

Transmissão

Os bovinos podem adquirir a infecção por transmissão horizontal, que ocorre quando ingerem oocistos do parasito, eliminados nas fezes dos canídeos, ou pela transmissão

vertical (transplacentária), que é a principal forma de disseminação e manutenção desse protozoário nos rebanhos, sendo perpetuada por várias gerações. A transmissão vertical pode ser exógena, quando a infecção da matriz se dá durante a prenhez, ou endógena, quando cistos preexistentes se rompem durante o período gestacional, liberando formas capazes de atingir o feto (TREES; WILLIAMS, 2005). Esse mecanismo de reativação da infecção ainda é pouco conhecido. *Neospora caninum* é um dos parasitos mais eficientes na transmissão transplacentária em bovinos, entre todos os microrganismos conhecidos.

Estudos epidemiológicos mostram que, em casos de aborto epidêmico por *N. caninum*, a infecção dos bovinos é pós-natal, pela ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos (DUBEY; SCHARES, 2006). Nesses casos, não há associação entre o status sorológico das matrizes e suas progênes, e as fêmeas apresentam anticorpos com baixa avidéz logo após o aborto, indicando uma exposição recente ao agente (BJÖRKMAN et al., 2006).

Em rebanhos com histórico de abortamento endêmico, a principal rota de infecção é a vertical, de mãe para filho (SCHARES et al., 2002). A transmissão vertical ocorre porque a infecção fetal frequentemente não resulta em aborto, podendo se tornar persistentemente infectado o terneiro que sobrevive. Alguns fatores vão acarretar alterações no feto, como: a) o período da gestação em que o parasito é transmitido; b) a reativação da infecção crônica; c) a magnitude da parasitemia; e d) características patogênicas da cepa atuante. Esses fetos podem morrer no útero, ser reabsorvidos, mumificados ou autolisados, podem ser natimortos, ou, então, podem ter nascido vivos, doentes ou clinicamente sadios, mas cronicamente infectados (DUBEY, 2003).

A probabilidade de nascimento de terneiros clinicamente normais, porém infectados, varia de 60% a 95%. Cunha Filho (2013) avaliou um rebanho de corte da região sul do Rio Grande do Sul cujas matrizes apresentavam 32,2% de soropositividade para *N. caninum* e constatou uma taxa de transmissão transplacentária de 75,8%, detectada em exame do soro de terneiros, coletado ao nascerem, antes da ingestão de colostro. Como não há passagem de anticorpos através da placenta, a presença desses nos referidos animais indica a ocorrência de transmissão transplacentária e a formação de anticorpos pelo feto. No entanto, o fato de um terneiro nascer soronegativo não descarta a possibilidade dessa transmissão, que pode ter ocorrido na fase final da gestação, não tendo, porém, havido tempo suficiente para a formação de anticorpos. Nesse estudo, o autor também constatou, por meio do acompanhamento sorológico durante o primeiro ano de vida desses terneiros, que 12,5% dos nascidos soronegativos soroconverteram no segundo semestre de vida, indicando a ocorrência de transmissão horizontal na propriedade.

Em propriedades consideradas endêmicas para essa protozoose, as soroprevalências geralmente são idênticas entre matrizes e crias, não há diferença de prevalência entre as faixas etárias (LUCAS, 2007; PAPPEN et al., 2005; ROMERO et al., 2002), e vacas recém-abortadas apresentam anticorpos específicos com alta avidéz, indicando que a exposição ao agente tinha ocorrido fazia algum tempo.

A despeito de reconhecer-se a importância da transmissão vertical, estudos epidemiológicos revelam que é necessária a infecção horizontal para se manter o parasito em um rebanho durante longos períodos. Isso evidencia que a presença de canídeos na propriedade é um importante fator de risco para a neosporose bovina (CORBELLINI et al., 2006; GUIMARÃES JÚNIOR et al., 2004; ROMERO et al., 2005).

Em propriedades leiteiras de duas regiões distintas (noroeste e sudoeste) do Rio Grande do Sul, Corbellini et al. (2006) constataram forte associação entre soropositividade dos rebanhos para *N. caninum* e a presença de cães, além da influência do tamanho da área da propriedade (quanto menor, maior a prevalência). Esses autores não encontraram nenhuma associação entre a idade das vacas e a infecção com o parasito. Na bacia leiteira da região sul do estado, Lucas (2007) constatou situação epidemiológica similar.

O risco de aborto decresce com o avançar da idade das vacas infectadas, com o número de lactações e com gestações consecutivas, indicando o desenvolvimento de alguns níveis de imunidade protetora nos animais cronicamente infectados (DIJKSTRA et al., 2003).

É muito importante a análise sorológica de matrizes antes de introduzi-las no rebanho, para evitar a entrada de animais infectados. Na Suíça, em estudo feito em propriedade leiteira cujos animais apresentavam problemas reprodutivos, Björkman et al. (1996) constataram que todos os animais infectados por *N. caninum* faziam parte da progênie de duas vacas compradas fazia 16 anos, quando foi formado o rebanho. Resultado similar foi verificado por Pappen et al. (2005) em propriedade leiteira de Pelotas (sul do Rio Grande do Sul), em que a maioria dos soropositivos eram descendentes de matrizes compradas no Paraná havia mais de 10 anos.

Soroprevalência e abortos

A soroprevalência de bovinos para *N. caninum* é variável entre países, regiões de um mesmo país, tipo de exploração dos bovinos, sistema de produção, entre outros, embora o agente esteja presente em todos os rebanhos estudados no mundo. O tamanho da amostra e a técnica sorológica utilizada também interferem (DUBEY et al., 2007).

As prevalências variam de 10% a 65,5% nos grupos bovinos estudados. As maiores prevalências geralmente são encontradas em animais de propriedades que enfrentam situações de aborto (GONZÁLES-WARLETA et al., 2008). Deve-se levar em conta que, embora os anticorpos durem por toda a vida do animal, seus níveis podem flutuar, caindo, às vezes, a níveis não detectáveis pelas técnicas sorológicas (DUBEY; SCHARES, 2006).

Em vários estudos, foi verificado que o risco de aborto de vacas soropositivas é de 3 a 37,8 vezes maior do que o das não infectadas (DUBEY; SCHARES, 2011). A soroprevalência e o nível de anticorpos das matrizes estão diretamente relacionados ao risco de aborto em virtude da possibilidade de ocorrerem maiores lesões histológicas nos feto (DE MEERSCHMAN et al., 2002).

No Rio Grande do Sul, em rebanhos leiteiros, a soroprevalência é de 17,8% em matrizes leiteiras das regiões sudoeste e noroeste, e de 12% da região sul. Em propriedades com histórico de abortos, a prevalência geralmente é mais alta. Em rebanho leiteiro da região sul do Rio Grande do Sul, com índices anuais de aborto de 25% a 35%, a soroprevalência para *N. caninum* foi de 31,3%, sendo que 100% das fêmeas que abortaram eram soropositivas para o agente (PAPPEN et al., 2005).

Corbellini et al. (2002) constataram o parasito, por meio de imuno-histoquímica, em 47,8% dos fetos provenientes de propriedades leiteiras do Rio Grande do Sul, o que comprova que o agente é um importante causador de abortos nesses rebanhos. Esses estudos mostram, pois, que *N. caninum* está presente em grande parte do rebanho bovino gaúcho, assim como em outras regiões, sendo provavelmente uma importante causa de abortamento e de consequentes perdas econômicas na bovinocultura leiteira desse estado.

Patogenia e sinais clínicos

A infecção pelo protozoário é comum em várias espécies hospedeiras, mas a doença, em sua forma clínica, é rara. Existem grandes variações entre cepas, quanto à virulência, que, embora evidentes, ainda não estão bem esclarecidas (DUBEY; SCHARES, 2011). Os testes in vivo com bovinos são economicamente proibitivos, e os com camundongos ou in vitro nem sempre refletem o comportamento real da cepa nos bovinos.

A neosporose bovina é principalmente uma patogenia que acomete feto e placenta. O risco de transmissão do protozoário ao feto aumenta à medida que avança a idade gestacional. Isso se deve à maior vascularização da placenta, o que a torna mais permeável ao final da gestação (DUBEY et al., 2007).

O processo inicia-se com uma parasitemia materna; em seguida, taquizoítos estabelecem-se nas criptas carunculares antes de invadir as vilosidades da placenta. Quando causa danos à placenta ou ao feto, que o tornem inviável, ocorre o aborto (GIBNEY et al., 2008). O dano inicial da placenta pode inviabilizar diretamente o feto, ou causar liberação de prostaglandinas maternas, que levarão à luteólise e conseqüente aborto. O feto morre por lesões causadas pelo parasito em seus tecidos, ou devido à insuficiente oxigenação e/ou nutrição pelas lesões causadas na placenta.

Como *N. caninum* é um protozoário intracelular obrigatório, a principal resposta imune protetora contra a infecção por esse parasito é mediada por células, associadas a linfócitos T helper tipo 1, que estimulam a produção de gama interferon (INF_{γ}), interleucinas (IL-2 e IL-12) (INNES et al., 2002). Durante a gestação, o aumento da concentração de IL-10, que regula (diminui) a produção de INF_{γ} , gera a diminuição da resposta imune entre o 4º e o 6º mês de prenhez, favorecendo, dessa maneira, a multiplicação e a transmissão vertical do parasito (ALMERÍA et al., 2010).

Vacas infectadas por *N. caninum* podem ter abortos ou transmitir a infecção para o feto em subseqüentes gestações, não necessitando de reinfecções para que ocorra essa transmissão vertical (ANDERSON et al., 2000).

Geralmente, ocorrem abortos repetidos (WOUDA et al., 1998) ou alternados com o nascimento de terneiros infectados congenitamente, clinicamente saudáveis, que são uma importante forma de manutenção da doença dentro do rebanho (ANDERSON et al., 2000; BARR et al., 1993). A ocorrência de abortos repetidos indica que a imunidade ou a resistência adquirida em vacas infectadas naturalmente, em alguns casos, não é suficiente para prevenir a infecção fetal durante as gestações subseqüentes (VENTURINI et al., 1999). No entanto, existe uma tendência de redução desse risco com o avançar da idade, pois, em novilhas infectadas congenitamente, o índice de abortos foi 7,4 vezes maior do que em novilhas soronegativas, ocorrendo, porém, uma redução significativa nas gestações subseqüentes (THURMOND; HIETALA, 1997). Isso sugere que bovinos podem, eventualmente, desenvolver um grau de imunidade capaz de dificultar a transmissão transplacentária endógena.

O aborto pode ocorrer do terceiro ao último mês de prenhez, mas é mais comum se dar entre o 4º e o 6º mês (CONRAD et al., 1993). No terço médio da gestação, o feto possui uma resposta imune rudimentar, evidenciada pela presença de anticorpos no soro de fetos abortados. Na maioria dos casos, essa resposta é insuficiente, explicando o motivo pelo qual a maioria dos abortos ocorre nesse período (BUXTON et al., 2002).

Os fetos abortados infectados com *N. caninum* são geralmente autolíticos e sem lesões macroscópicas consideráveis. Ademais, a placenta não é retida. As principais lesões são produzidas no sistema nervoso central (SNC), onde se evidencia uma encefalite. Microscopicamente, apresentam infiltrações celulares e áreas de necrose em muitos tecidos (DUBEY, 2003). Lesões inflamatórias degenerativas, causadas pela infecção por *N. caninum* em fetos abortados ou natimortos, podem ser encontradas na maioria dos tecidos fetais, mas são mais comuns no SNC, no coração e no fígado (DUBEY et al., 2006).

Na placenta, as lesões são tipicamente localizadas nos cotilédones. Consistem de área focal de necrose e inflamação não supurativa, com taquizoítos presentes nos trofoblastos (DUBEY; SCHARES, 2006).

Nos terneiros, os sinais clínicos são mais aparentes nos primeiros 5 dias de vida, mas, em alguns casos, podem ser observados até 2 semanas após o nascimento. Esses animais podem nascer débeis. Costumam apresentar baixo peso, membros posteriores e anteriores hiperestendidos ou flexionados, diminuição do reflexo patelar, ataxia, perda da propriocepção, exoftalmia ou assimetria dos olhos e, ocasionalmente, defeitos congênitos, incluindo hidrocefalia e estreitamento do canal medular (DUBEY; SCHARES, 2011). A maioria dos terneiros com neosporose clínica morre dentro das quatro primeiras semanas de vida; porém, Cunha Filho (2013) relata o caso de nascimento de terneiro com opacidade córnea unilateral, com altos títulos de anticorpos para *N. caninum* e diagnóstico positivo por PCR que, surpreendentemente, atingiu a idade adulta sem outros sinais clínicos da doença.

Diagnóstico

O diagnóstico de *N. caninum* como causador de abortos em um rebanho é bastante complexo, por vários fatores: a) as infecções congênitas assintomáticas são comuns; b) a presença do parasito ou de seu DNA nos tecidos do feto abortado não significa que foi o causador do aborto, pois muitos podem nascer infectados, mas assintomáticos (é preciso excluir outras possíveis causas); c) o nível de anticorpos pode oscilar, chegando a ficar abaixo do ponto de corte dos testes sorológicos, resultando em diagnósticos de falsos negativos; e d) anticorpos colostrais podem ser detectados em terneiros até 6 a 7 meses de idade (CARDOSO et al., 2009). Além disso, seu custo ainda é alto.

Para um diagnóstico de certeza, é fundamental associar dados epidemiológicos, provas sorológicas, a técnica da imuno-histoquímica e outros métodos para demonstrar a infecção na mãe e no feto abortado (DUBEY; SCHARES, 2006). Além disso, é importante

encontrar e identificar taquizoítos de *N. caninum* nas lesões e excluir outras possíveis causas de aborto. Provas soropositivas para *N. caninum* indicam somente a exposição ao agente (WILLIAMS et al., 2000). A sequência de informações necessárias para confirmar o protozoário como causa dos abortos em um rebanho está na Figura 1.

Testes sorológicos são utilizados para diagnosticar *N. caninum* como possível causa de abortamento, na seleção de bovinos para compra e venda (para prevenir a introdução de animais infectados no rebanho) e na verificação da prevalência de determinada região (BAILLARGEON et al., 2001). Esses são mais bem utilizados na detecção de bovinos infectados dentro do rebanho do que como um diagnóstico individual de um animal que abortou (ANDERSON et al., 2000). Nesse caso, devem ser utilizadas provas de avidéz dos anticorpos: alta avidéz indica infecções crônicas, enquanto baixa avidéz indica infecção aguda, provável causa do aborto, que só se mantém baixa durante poucas semanas após a infecção (BASSO et al., 2010).

Existem vários testes sorológicos, como: a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), o teste de aglutinação direta (NAT) e vários ensaios imunoenzimáticos (ELISA) e Western-Blotting. Todas essas técnicas são baseadas em antígenos de taquizoítos. Ultimamente, têm sido utilizados antígenos recombinantes para esse diagnóstico (BORSUK et al., 2011).

Em caso de rebanhos com histórico de aborto epidêmico ou endêmico, com ocorrência no último trimestre da gestação, e em fêmeas consideradas de risco, não devem ser utilizados métodos diagnósticos de baixa sensibilidade na detecção de anticorpos para *N. caninum*, pois podem implicar resultado falso negativo (DUBEY; SCHARES, 2006). Nesses casos, torna-se necessário realizar análises complementares para identificar a rota principal de infecção no rebanho. Para esse propósito, o teste de ELISA de avidéz é muito útil.

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é utilizada em diagnósticos e estudos epidemiológicos de neosporose para a detecção de: a) DNA de *N. caninum* em tecidos de fetos bovinos abortados ou de outros hospedeiros intermediários; b) líquido amniótico e cefalorraquidiano; c) placenta; d) leite; e) amostras de fezes de cães e possíveis hospedeiros silvestres; f) comida; e g) água (GONDIM et al., 2004; SCHARES et al., 2005).

As desvantagens dessa técnica são o elevado custo, o tempo de execução, os equipamentos necessários para a sua aplicação e a necessidade de emprego de mão de obra especializada. O tecido cerebral é o mais apropriado para a detecção do DNA de *N. caninum* por PCR, seguido dos tecidos do coração, do pulmão e do fígado (COLLANTES-FERNÁNDEZ et al., 2006).

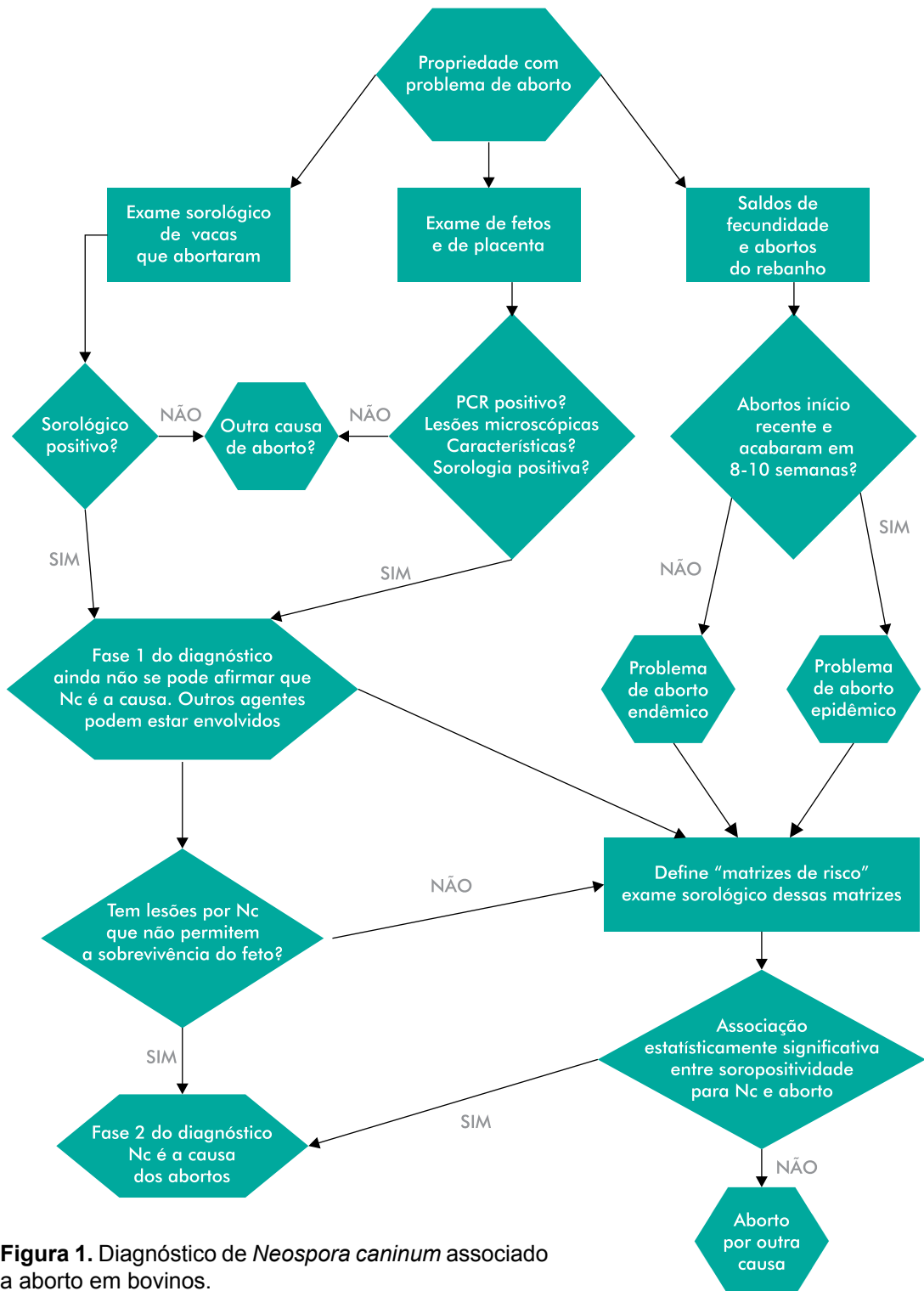


Figura 1. Diagnóstico de *Neospora caninum* associado a aborto em bovinos.

Fonte: adaptado de Dubey e Schares (2006).

O exame histopatológico de um feto abortado permite realizar o diagnóstico definitivo de neosporose. Para estabelecer esse tipo de diagnóstico, devem-se considerar as lesões características de um feto, encontrar o parasito nas lesões e avaliar em conjunto a sorologia materna e a fetal.

Taquizoítos são raramente observados em cortes histológicos corados pela hematoxilina e pela eosina, sendo que a técnica de imuno-histoquímica facilita sua visualização. Pela técnica imuno-histoquímica, *N. caninum* é mais frequentemente demonstrado no cérebro e no coração, e raramente em outros órgãos, incluindo a placenta (DUBEY; SCHARES, 2006).

Na prática, é difícil encontrar fetos abortados, já que são destruídos por predadores, e, quando encontrados, já estão muito autolisados, o que impede a realização de exames para detectar o parasito. Diante de suspeita de aborto por *N. caninum* em uma propriedade, após descartarem-se todas as outras possíveis causas, recomenda-se a realização de exames sorológicos de dois grupos: um de vacas com histórico de aborto e outro de animais sem esse histórico. Ao comparar estatisticamente a soroprevalência para o agente entre esses dois grupos, a diferença significativa entre ambos, ou seja, a maior prevalência entre as abortadas vai indicar que a neosporose é a causa dos abortos naquele rebanho.

Controle

Até o momento, não existe nenhum tratamento eficaz para a neosporose bovina, ou que possa prevenir a transmissão vertical do parasito nessa espécie.

As estratégias de controle estão baseadas em dois grandes objetivos: reduzir os riscos de transmissão vertical e de transmissão horizontal no rebanho.

Para reduzir o risco de transmissão vertical, é preciso:

- Providenciar a sorologia inicial de todas as fêmeas do rebanho.
- Eliminar gradativamente as matrizes soropositivas (procedimento eficaz, mas nem sempre economicamente viável), já que o animal tem grandes chances de abortar e/ou transmitir o agente à progênie. Esses animais devem ser encaminhados para o abate, pois o consumo de sua carne não representa riscos à saúde humana. Em propriedades leiteiras com alta soroprevalência, uma alternativa temporária é inseminar essas matrizes com sêmen de touros de raças de corte.

- Introduzir no rebanho apenas animais soronegativos para o agente e oriundos de rebanhos de alta performance reprodutiva.
- Utilizar matrizes soropositivas, de alto valor zootécnico, como doadoras de embriões, que devem ser implantados em receptoras soronegativas. Os embriões bovinos na fase de pré-implantação são protegidos contra a invasão de *N. caninum* pela zona pelúcida (BIELANSKI et al., 2002).

Para reduzir o risco de transmissão horizontal, é preciso:

- Controlar o número de cães nas propriedades.
- Utilizar instalações adequadas, que dificultem o acesso de cães domésticos e canídeos silvestres a alimentos armazenados e à água fornecida aos bovinos, a fim de evitar a contaminação dos bovinos com as fezes daqueles animais.
- Alimentar os cães somente com carne ou vísceras cozidas ou rações comerciais.
- Eliminar fetos abortados, restos e envoltórios fetais e carcaças de bovinos mortos (de qualquer idade), para impedir a infecção de cães e outros canídeos.
- Controlar a presença de roedores porque podem ser reservatório do agente e, assim, potenciais infectores dos cães que os predem, os quais, por sua vez, poderão infectar os bovinos.

Esse conjunto de medidas pode ser de grande valia para reduzir a incidência de aborto nos rebanhos bovinos, pois que reduz a infecção dos canídeos e, conseqüentemente, a eliminação fecal de oocistos infectantes aos bovinos (DUBEY; SCHARES, 2011).

No Brasil e em outros países, está sendo comercializada uma vacina contra a neosporose bovina, produzida com a cultura in vitro de taquizoítos inativados e um adjuvante comercial. Uma desvantagem da aplicação dessa vacina é a dificuldade de interpretar os resultados sorológicos do rebanho (DUBEY; SCHARES, 2006). Os resultados de avaliações científicas dessa vacina são contraditórios quanto à sua capacidade de reduzir a incidência de abortos (de 0% a 50% de redução), e todos os autores confirmam que a vacina não gera proteção contra a transmissão vertical do parasito (MONNEY et al., 2011; ROMERO et al., 2004; WESTON et al., 2012).

Referências

- ALMERÍA, S.; ARAUJO, R.; TUO, W.; LÓPEZ-GATIUS, F.; DUBEY, J. P.; GASBARRE, L. C. Fetal death in cows experimentally infected with *Neospora caninum* at 110 days of gestation. **Veterinary Parasitology**, v. 169, n. 3-4, p. 304-311, 2010.
- ALVES NETO, A. F.; BANDINI, L. A.; NISHI, S. M.; SOARES, R. M.; DRIEMEIER, D.; ANTONIASSI, N. A. B.; SCHARES, G.; GENNARI, S. M. Viability of sporulated oocysts of *Neospora caninum* after exposure to different physical and chemical treatments. **Journal of Parasitology**, v. 97, n. 1, p. 135-139, 2011.
- ANDERSON, M. L.; ANDRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 417-431, 2000.
- ATKINSON, R. A.; COOK, R. W.; REDDAKLIFF, L. A.; ROTHWELL, J.; BROADY, K. W.; HARPER, P. A. W.; ELLIS, J. T. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection following an abortion outbreak in a dairy cattle herd. **Australian Veterinary Journal**, v. 78, n. 4, p. 262-266, 2000.
- BAILLARGEON, P.; FECTEAU, G.; PARÉ, J.; LAMOTHE, P.; SAUVÉ, R. Evaluation of the embryo transfer society as a method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 218, n. 11, p. 1803-1806, 2001.
- BARR, B. C.; CONRAD, P. A.; BREITMEYER, R. E.; SVERLOW, K.; ANDERSON, M. L.; REYNOLD, J. V.; CHAUVET, A. E.; DUBEY, J. P.; ARDANS, A. A. Congenital *Neospora* infection in calves born from cows that had previously aborted *Neospora*-infected fetuses: four cases (1990-1992). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 202, n. 1, p. 113-117, 1993.
- BARR, B. C.; CONRAD, P. A.; SVERLOW, K. W.; TARANTAL, A. F.; HENDRICKX, A. G. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. **Laboratory Investigation**, v. 71, n. 2, p. 236-242, 1994.
- BASSO, W.; SCHARES, S.; MINKE, L.; BARWALD, A.; MAKSIMOV, A.; PETERS, M.; SCHULZE, C.; MULLER, M.; CONRATHS, F. J.; SCHARES, G.. Microsatellite typing and avidity analysis suggest a common source of infection in herds with epidemic *Neospora caninum*-associated bovine abortion. **Veterinary Parasitology**, v. 173, n. 1-2, p. 24-31, 2010.
- BIELANSKI, A. J.; ROBINSON, J.; PHIPPS-TODD, B. Effect of *Neospora caninum* on in vitro development of preimplantation stage bovine embryos and adherence to the zona pellucida. **Veterinary Record**, v. 150, p. 316-318, 2002.
- BJÖRKMAN, C.; ALVAREZ-GARCIA, G.; CONRATHS, F. J.; MATTSSON, J. G.; ORTEGA-MORA, L. M.; SAGER, H.; SCHARES, G. *Neospora caninum* IgG avidity tests: an interlaboratory comparison. **Veterinary Parasitology**, v. 140, n. 3-4, p. 273-280, 2006.
- BJÖRKMAN, C.; JOHANSSON, O.; STENLUND, S.; HOLMDAHL, O. J. M.; UGGLA, A. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 208, n. 9, p. 1441-1444, 1996.
- BORSUK, S.; ANDREOTTI, R.; LEITE, F. P.; PINTO, L. S.; SIMIONATTO, S.; HARTLEBEN, C. P.; GOETZE, M.; OSHIRO, L. M.; MATOS, M. D.; BERNE, M. E. Development of an indirect ELISA-NcSRS2 for detection of *Neospora caninum* antibodies in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 177, n. 1-2, p. 33-38, 2011.
- BUXTON, D.; MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P. The comparative pathogenesis of neosporosis. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 12, p. 125-131, 2002.
- CAÑÓN-FRANCO, W. A.; YAI, L. E. O.; SOUZA, S. L. P.; SANTOS, L. C.; FARIAS, N. A. R.; RUAS, J.; ROSSI, F. W.; GOMES, A. A. B.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Detection of antibodies to *Neospora caninum* in two species of wild canids, *Lycalopex gymnocercus* and *Cerdocyon thous* from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 123, n. 3-4, p. 275-277, 2004.

CARDOSO, J. M. S.; NISHI, S. M.; FUNADA, M. R.; AMAKU, M.; GUIMARÃES JUNIOR, J. S.; GENNARI, S. M. Antibody dynamics during gestation cows naturally infected with *Neospora caninum* from four dairy herds in Brazil.

Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 46, n. 5, p. 395-399, 2009.

COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; RODRIGUEZ-BERTOS, A.; ARNAIZ-SECO, I.; MORENO, B.; ADURIZ, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Influence of the stage of pregnancy on *Neospora caninum* distribution, parasite loads and lesions in aborted bovine fetuses. **Theriogenology**, v. 65, n. 3, p. 629-641, 2006.

CONRAD, P. A.; SVERLOW, K.; ANDERSON, M.; ROWE, J.; BONDURANT, R.; TUTER, G.; BREITMEYER, R.; PALMER, C.; THURMOND, M.; ARDANS, A.; DUBEY, J. P.; DUHAMEL, G.; BARR, B. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 5, n. 4, p. 572-578, 1993.

CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C. F. E.; GONDIM, L. F. P.; WALD, V. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 103, n. 3, p. 195-202, 2002.

CORBELLINI, L. G.; SMITH, D. R.; PESCADOR, C. A.; SCHMITZ, M.; CORREA, A.; STEFFEN, D. J.; DRIEMEIER, D. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. **Preventive Veterinary Med.**, v. 74, n. 2-3, p. 130-141, 2006.

CUNHA FILHO, N. A. **Avaliação da transmissão vertical e horizontal de *Neospora caninum* (Long, 1990) em bovinos de criação extensiva, cronicamente infectados, no Brasil**. 2013. 67 f. Tese (Doutorado em Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

CUNHA, C. L. G. A. **Investigação de anticorpos para *Neospora caninum* em humanos e sua relação com a infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana**. 2013. 42 f. Dissertação (Mestrado em Veterinária Preventiva) – Programa de Pós Graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

DE MEERSCHMAN, F.; SPEYBROECK, N.; CASSART, D.; LOSSON, B. Fetal infection with *Neospora caninum* in dairy and beef cattle in Belgium. **Theriogenology**, v. 58, n. 5, p. 933-945, 2002.

DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H. V.; EYSKER, M.; BEIBOER, M. L.; WOUDA, W. Evaluation of a single serological screening of dairy herds for *Neospora caninum* antibodies. **Veterinary Parasitology**, v. 110, n. 3-4, p. 161-169, 2003.

DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle. **Journal of Parasitology**, v. 89, p. 42-56, 2003. Supplement.

DUBEY, J. P.; BUXTON, D.; WOUDA, W. Pathogenesis of bovine neosporosis. **Journal of Comparative Pathology**, v. 134, n. 4, p. 267-289, 2006.

DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, C. A.; TOPPER, M. J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Association**, v. 192, n. 9, p. 1269-1285, 1988.

DUBEY, J. P.; JENKINS, M. C.; RAJENDRAN, C.; MISKA, K.; FERREIRA, L. R.; MARTINS, J.; KWOK, O. C. H.; CHOUDHARY, S. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 181, n. 2-4, p. 382-387, 2011.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 140, n. 1-2, p. 1-34, 2006.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals: the last five years. **Veterinary Parasitology**, v. 180, n. 1-2, p. 90-108, 2011.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Review**, v. 20, n. 2, p. 323-367, 2007.

GIBNEY, E. H.; KIPAR, A.; ROSBOTTOM, A.; GUY, C. S.; SMITH, R. F.; HETZEL, U.; TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. L. The extent of parasite-associated necrosis in the placenta and foetal tissues of cattle following *Neospora caninum* infection in early and late gestation correlates with foetal death. **International Journal of Parasitology**, v. 38, n. 5, p. 579-588, 2008.

GONDIM, L. F. P. *Neospora caninum* in wildlife. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 6, p. 247-252, 2006.

- GONDIM, L. F. P.; MCALLISTER, M. M.; GAO, L. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 134, n. 1-2, p. 33-39, 2005.
- GONDIM, L. F. P.; MCALLISTER, M. M.; PITT, W. C.; ZEMLIČKA, D. E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 2, p. 159-161, 2004.
- GONDIM, L. F. P.; SARTOR, I. F.; MONTEIRO JUNIOR, L. A.; HARITANI, M. *Neospora caninum* infection in a aborted bovine foetus in Brazil. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 47, p. 35, 1999.
- GONZÁLEZ-WARLETA, M.; CASTRO-HERMIDA, J. A.; CARRO-CORRAL, C.; CORTIZO-MELLA, J.; MEZO, M. Epidemiology of neosporosis in dairy cattle in Galicia (NW Spain). **Parasitology Research**, v. 102, p. 243-249, 2008.
- GUIMARÃES JUNIOR, J. S.; SOUZA, S. L. P.; BERGAMASCHI, D. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, n. 1-2, p. 1-8, 2004.
- INNES, E.; ANDRIANARIVO, A.; BJÖRKMAN, C.; WILLIAMS, D.; CONRAD, A. Immune response to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 11, p. 497-504, 2002.
- KING, J. S.; SLAPETA, J.; JENKINS, D. J.; AL-QASSAB, S. E.; ELLIS, J. T.; WINDSOR, P. A. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 40, n. 8, p. 945-950, 2010.
- LOBATO, J.; SILVA, D. A. O.; MINEO, T. W. P.; AMARAL, J. D. H. F.; SILVA SEGUNDO, G. R.; COSTA-CRUZ, J. M.; FERREIRA, M. S.; BORGES, A. S.; MINEO, J. R. Detection of immunoglobulin G antibodies to *Neospora caninum* in humans: high seropositivity rates in patients who are infected by Human Immunodeficiency Virus or Have Neurological Disorders. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 13, n. 1, p. 84-89, 2006.
- LUCAS, A. da S. *Neospora caninum* em bovinos da bacia leiteira da região de Pelotas, RS: soroprevalência e associação com fatores de risco. 2007. 84 f. Dissertação (Mestrado em Veterinária) – Programa de Pós-graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; MCGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal of Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1473-1478, 1998.
- MONNEY, T.; DEBACHE, K.; HEMPHILL, A. Vaccines against a major cause of abortion in cattle, *Neospora caninum* infection. **Animals**, v. 1, n. 3, p. 306-325, 2011.
- MOORE, D. P. Neosporosis in South America. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 87-97, 2005.
- PAPPEN, F.; CUNHA, N. A.; RUAS, J. L.; FARIAS, N. A. R. Relação entre a ocorrência de aborto e a soroprevalência de *Neospora caninum* em rebanho bovino leiteiro no sul do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 14., 2006, Pelotas. **Anais... Pelotas: UFPel**, 2006. 1 CD-ROM.
- REICHEL, M. P.; AYANEGUI-ALCÉRRECA, A. M.; GONDIM, L. F. P.; ELLIS, J. T. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle: the billion dollar question. **International Journal for Parasitology**, v. 43, n. 2, p. 133-142, 2013.
- ROMERO, J. J.; BREDÁ, S. VAN; VARGAS, B.; DOLZ, G.; FRANKENA, K. Effect of neosporosis on productive and reproductive performance of dairy cattle in Costa Rica. **Theriogenology**, v. 64, n. 9, p. 1928-1939, 2005.
- ROMERO, J. J.; PÉREZ, E.; DOLZ, G.; FRANKENA, K. Factors associated with *Neospora caninum* serostatus in cattle of 20 specialised Costa Rican dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 53, n. 4, p. 263-273, 2002.
- ROMERO, J. J.; PÉREZ, E.; FRANKENA, K. Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rica dairy cows under field conditions. **Veterinary Parasitology**, v. 123, n. 3-4, p. 149-159, 2004.
- SCHARES, G.; BÄRWALD, A.; CONRATHS, F. J. Adaptation of a surface antigen-based ELISA for the detection of antibodies against *Neospora caninum* in bovine milk. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 52, n. 1, p. 45-48, 2005.

SCHARES, G.; BÄRWALD, A.; STAUBACH, C.; SÖNDGEN, P.; RAUSER, M.; SCHRÖDER, R.; PETERS, M.; WURM, R.; SELHORST, T.; CONRATHS, F. J. p38-avidity-ELISA: examination of herds experiencing epidemic or endemic *Neospora caninum*-associated bovine abortion. **Veterinary Parasitology**, v. 106, n. 4, p. 293-305, 2002.

THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, n. 12, p. 1381-1385, 1997.

TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. L. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 12, p. 558-561, 2005.

VENTURINI, M. C.; VENTURINI, L.; BACIGALUPE, D.; MACHUCA, M.; ECHAIDE, I.; BASSO, W.; UNZAGA, J. M.; DI LORENZO, C.; GUGLIELMONE, A.; JENKINS, M. C.; DUBEY, J. P. *Neospora caninum* infections in bovine fetuses and dairy cows with abortions in Argentina. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1705-1708, 1999.

WESTON, J. F.; HEUER, C.; WILLIAMSON, N. B. Efficacy of a *Neospora caninum* killed tachyzoite vaccine in preventing abortion and vertical transmission in dairy cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 103, n. 2-3, p. 136-144, 2012.

WILLIAMS, D. J. L.; GUY, C. S.; MCGARRY, J. W.; GUY, F.; TASKER, L.; SMITH, R. F.; MACEACHERN, K.; CRIPPS, P. J.; KELLY, D. F.; TREES, A. J. *Neospora caninum*-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitemia during gestation determines foetal survival. **Parasitology**, v. 121, p. 347-358, 2000.

WOUDA, W.; MOEN, A. R.; SCHUKKEN, Y. H. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. **Theriogenology**, v. 49, n. 7, p. 1311-1316, 1998.

IMPACTO DA ALIMENTAÇÃO SOBRE A ESTABILIDADE DO LEITE BOVINO

Vivian Fischer
Alexandre Gabbi
Marcelo Tempel Stumpf
Maira Balbinotti Zanela

Introdução

Segundo o último levantamento do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), de dezembro de 2011, o Brasil produziu cerca de 32 bilhões de litros de leite, com uma produtividade média de 1.382 L de leite por vaca por ano (IBGE, 2011). Uma das principais características dos sistemas produtivos leiteiros no Brasil é sua heterogeneidade (BODENMÜLLER FILHO et al., 2010). As regiões do Brasil diferem entre si no que respeita ao volume de leite produzido e, até mesmo dentro delas, as unidades produtoras produzem quantidades variáveis de leite. Unidades de produção especializadas convivem, no mesmo mercado de produção, com outras nas quais o leite é explorado de forma extrativa, havendo, ademais, vários sistemas intermediários entre esses extremos.

Essa heterogeneidade, associada a práticas de alimentação, atendimento nutricional, higiene na ordenha e na conservação do leite, e raças de animais usadas, pode se refletir na obtenção de leite com diferentes características, como concentração dos componentes lácteos e estabilidade térmica (MARTINS et al., 2007).

Para Horne e Parker (1979), a estabilidade do leite medida pelo teste do álcool é avaliada pela concentração de etanol capaz de coagular instantaneamente a proteína do leite. Esse teste estima a resistência do leite ao tratamento térmico ao qual será submetido (HORNE; MUIR, 1990; SINGH, 2004), embora a correlação entre a estabilidade térmica e o teste do álcool não esteja completamente elucidada. O equilíbrio de minerais no leite (CHAVEZ et al., 2004; TSILOULPAS et al., 2007), a presença de alto conteúdo de fibra na dieta

dos animais (BARCHIESI-FERRARI et al., 2007) e a época do ano (BOTARO et al., 2007) são alguns dos fatores que influenciam a estabilidade do leite. No entanto, outros fatores foram pouco avaliados quanto ao seu efeito negativo sobre a estabilidade do leite, como a contagem de células somáticas (OLIVEIRA et al., 2011) e a contaminação bacteriana (MOLINA et al., 2001).

A reduzida estabilidade do leite é um problema sério que prevalece em diversas bacias leiteiras do Brasil, sobretudo durante períodos de carência alimentar (MARQUES et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2011; ZANELA et al., 2009). Conjectura-se que sua ocorrência se dê em situações de exposição dos animais ao estresse, como em restrição alimentar e manifestação de claudicação, como parcialmente demonstrado por Stumpf et al. (2013). Períodos de déficit hídrico no período quente do ano, uso inadequado de alternativas forrageiras para a estação fria e falta de gerenciamento das propriedades são as principais causas da restrição alimentar entre rebanhos leiteiros nas regiões tropicais e subtropicais (FERNANDES et al., 2004; NJARUI et al., 2011; VERKERK, 2003).

A relação entre a alimentação e as características do leite é objeto de estudo de longa data, especialmente no que se refere à composição química, como a concentração de proteína e gordura. Entretanto, o efeito nutricional sobre as características físicas, como a estabilidade, é bem menos estudado (FRUSCALSO et al., 2013). Existem duas abordagens nesse propósito: a) avaliar o efeito da restrição alimentar e/ou o desequilíbrio; e b) avaliar o efeito da correção da alimentação em relação a um nível previamente deficiente. Os resultados obtidos de acordo com essas duas abordagens serão descritos a seguir.

Restrição alimentar

A restrição alimentar exerce efeitos negativos sobre o desempenho reprodutivo e produtivo (BURKE et al., 2010; COLAZO et al., 2009), a produção leiteira (BURKE et al., 2010), o sistema hormonal e enzimático (KUHLA et al., 2007; RADCLIFF et al., 2006; VELEZ; DONKIN, 2005), os metabólitos circulantes no plasma (LAEGER et al., 2012) e a modulação de nutrientes na glândula mamária (BOUTINAUD et al., 2008).

Para Gross et al. (2011), situações nas quais ocorre restrição à quantidade ou à qualidade de alimento levam vacas em lactação a um quadro de balanço de energia líquida negativo, que afeta o desempenho do animal e o obriga a adaptações necessárias à manutenção de sua homeostase. Redução na produção de leite, imunossupressão e desordens metabólicas são consideradas por Ingvarsen e Friggens (2005) como consequências de

um desequilíbrio fisiológico, que, para Bjerre-Harpøth et al. (2012), pode ser causado pela restrição alimentar.

A severidade e a duração da restrição alimentar são atributos que vão alterar os índices produtivos dos animais (TROCCON; PETIT, 1989). A redução do volume de leite produzido e dos percentuais de proteína (BURKE et al., 2010; DRACKLEY et al., 1992) são citados por diversos autores. Os últimos autores destacam que a restrição alimentar severa (cerca de 45% da quantidade total de matéria seca previamente oferecida), mesmo durante um período relativamente curto (14 dias), pode acarretar distúrbios produtivos e reprodutivos, que só seriam restabelecidos aos níveis das vacas que não foram submetidas à restrição após um período de 6 semanas.

A baixa disponibilidade de matéria seca na pastagem ou a restrição do tempo de pastejo também são consideradas formas de restrição alimentar. A redução em 50% da oferta de pasto (Tifton 85) diminuiu a concentração mínima de álcool necessária para de-sestabilizar as amostras de 75,8 °GL para 69 °GL (FRUSCALSO et al., 2013); todavia, a redução da oferta de pasto (azevém perene), de 24 kg para 20 kg de matéria seca, e depois para 16 kg por dia, não afetou a estabilidade do leite (O'BRIEN et al., 1997).

As principais consequências da restrição alimentar sobre a produção de leite e os componentes lácteos são a redução do aporte de nutrientes para a glândula mamária e a alteração na função mamária. Para Guinard-Flament et al. (2006), existem três efeitos principais da restrição alimentar sobre a regulação mamária, cuja intensidade depende da severidade e da duração da restrição: a) tendência de redução do fluxo arterial de glicose na glândula mamária; b) extração da glicose, pois se percebe uma diferença na concentração arteriovenosa de glicose no úbere durante o evento da restrição; c) mudanças nas atividades metabólicas e secretoras, nas quais a síntese de lactose diminui consideravelmente sem a alteração observada na atividade da galactosiltransferase.

Na França, Dessauge et al. (2011) investigaram o efeito da restrição alimentar em vacas cruza Holandês x Normando sobre a morfologia do tecido mamário. Testando um grupo-controle, que recebia 55% de silagem de milho, 15% de alfafa desidratada e 30% de concentrado, contra um grupo sob restrição, que recebia 60% de silagem de gramínea e 40% de feno, durante 11 semanas, os autores observaram que: a) a produção diária de leite e os teores de proteína e lactose foram menores para o grupo sob restrição, mas o teor de gordura permaneceu igual; b) o peso da glândula mamária e o conteúdo total de DNA mamário foram significativamente menores para o grupo em restrição alimentar; c) a média de células apoptóticas no tecido mamário foi significativamente maior nos animais

em restrição em comparação com o grupo-controle. Assim, os autores afirmam que uma das causas da redução na produção de leite e de componentes lácteos também estaria relacionada à modulação da atividade das células epiteliais mamárias e ao alto nível de apoptose na glândula mamária.

Com um nível de restrição alimentar de 50% em período imediatamente anterior à secagem das vacas em final de lactação, Tucker et al. (2009) constataram uma diferença significativa na quantidade de vacas que apresentavam vazamento de leite pelos tetos no início do período seco (45% do grupo-controle contra 15% do grupo em restrição, no segundo dia pós a interrupção da ordenha), porém, a vocalização foi maior nas vacas do grupo de restrição alimentar, sugerindo que os animais experimentaram sensação de fome quando da restrição do alimento. Por essa razão, os autores sugerem certas práticas, como a disposição *ad libitum* de alimentos de baixa qualidade nutricional, de modo a equilibrar o período de secagem das vacas com seu bem-estar.

Ao induzir o quadro de mastite em vacas em dois tratamentos (controle e 80% de restrição alimentar), Perkins et al. (2002) não encontraram diferenças na contagem de células somáticas e na contagem de IgG no leite. Os autores concluíram, então, que a restrição alimentar severa não influenciou a resposta imune. Nesse mesmo sentido, Moyes et al. (2009), ao aplicarem restrição de 60% da energia líquida de lactação para vacas da raça Holandesa aos 60 dias após o parto, não encontraram influência da redução no aporte alimentar sobre um desafio de contaminação com *Streptococcus uberis* nas vacas submetidas ou não à restrição.

Deficiências nutricionais que possam causar desbalanço de minerais no leite (TSIOUPLAS et al., 2007) e o baixo uso de concentrado (BARCHIESI-FERRARI et al., 2007), por exemplo, são características de sistemas com presença de níveis de restrição alimentar e, por consequência, são fatores de estresse alimentar que podem afetar a estabilidade do leite (GABBI, 2013; STUMPF et al., 2013).

Vacas submetidas a 50% de restrição da sua dieta apresentaram leite mais instável e com coagulação em concentração etílica mais baixa no trabalho de Fruscalso et al. (2013). Utilizando nível de restrição de 40%, Barbosa et al. (2012) e Zanela et al. (2006) também verificaram que, em vacas submetidas à restrição, as proteínas do leite coagulavam quando misturadas a concentrações etílicas mais baixas.

A restrição alimentar provoca a mobilização mais acelerada de tecidos corporais para manutenção de atividades produtivas e reprodutivas do animal (DI MARCO et al., 2007), acarretando modificações metabólicas e corporais adaptativas. Além da redução na produção

leiteira, frequentemente são observados: redução da produção de componentes lácteos e do percentual de gordura e proteína do leite após o 5º dia de restrição (BURKE et al., 2010), aumento da CCS (STRATEN et al., 2009) e redução da estabilidade do leite no teste do álcool (BARBOSA et al., 2012; STUMPF et al., 2013; ZANELA et al., 2006). Os efeitos da restrição alimentar sobre a estabilidade do leite são variáveis, sendo dependentes da condição nutricional prévia dos animais, da sua produtividade, da possibilidade de eles compensarem eventuais reduções no aporte da suplementação com o aumento da atividade de pastejo, além da magnitude e da duração da restrição alimentar (GABBI, 2013).

Ao avaliar o efeito da restrição alimentar em níveis de 30%, 40% e 50% da matéria seca da dieta por meio de análise multivariada, Gabbi (2013) percebeu relação inversa entre a severidade e a duração da restrição alimentar com a estabilidade do leite no teste do álcool, a produção leiteira e o teor de lactose. Nas Figuras 1 e 2, ângulos entre as variáveis de 0° e 180° indicam alta correlação positiva e negativa, respectivamente; e ângulo de 90° entre as variáveis indica ausência de correlação (SMITH et al., 2002). Assim, percebe-se que a severidade e a duração da restrição alimentar apresentam pouca relação com os teores de gordura, proteína e extrato seco total.

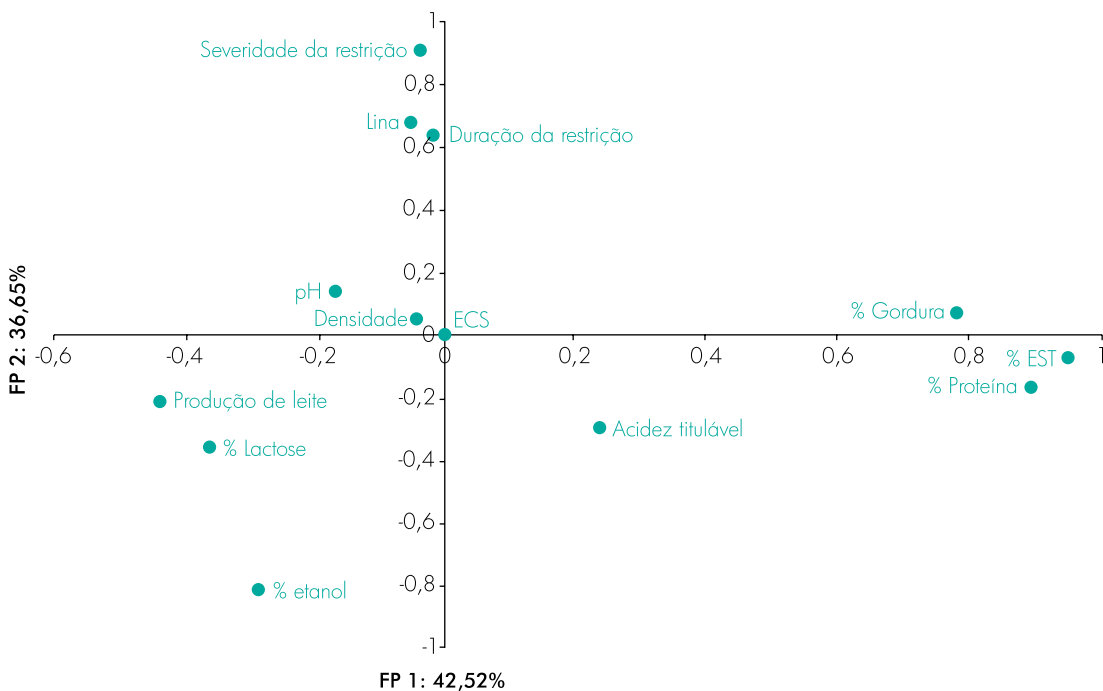


Figura 1. Produção leiteira, características físico-químicas e estabilidade do leite relacionados com a severidade e a duração da restrição alimentar.

Fonte: Gabbi (2013).

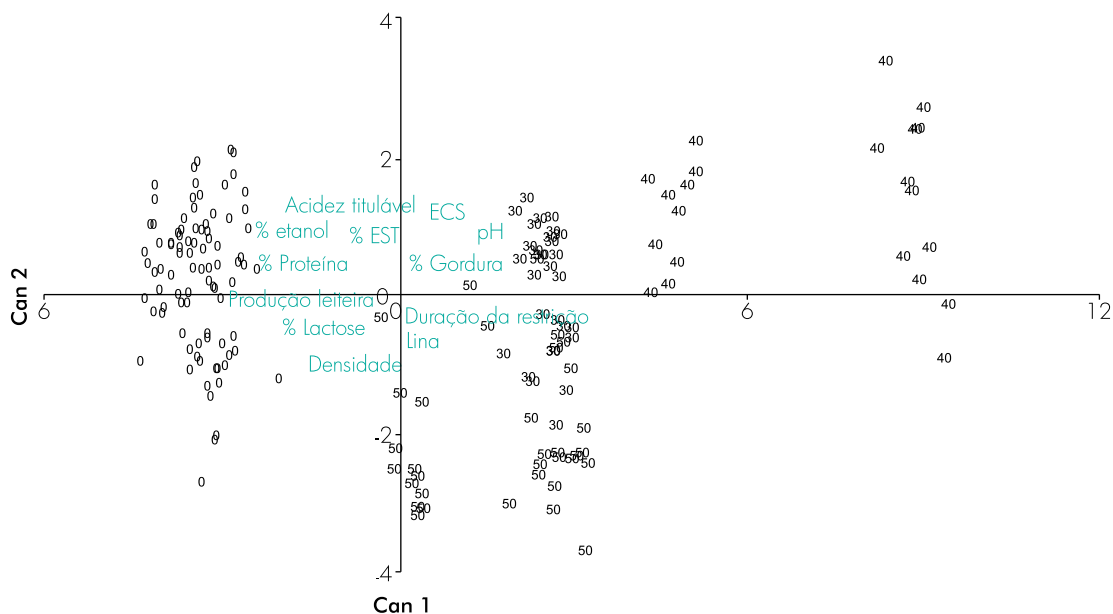


Figura 2. Médias canônicas padronizadas dos atributos produtivos e das características físico-químicas do leite de vacas submetidas aos níveis de restrição alimentar 0%, 30%, 40% e 50%.

Fonte: Gabbi (2013).

Com base nos dados dos mesmos experimentos com diferentes níveis de restrição alimentar, Gabbi (2013) avaliou a distribuição das médias canônicas no período alimentação–restrição e no período posterior (restrição–realimentação), em relação às diferenças encontradas nas variáveis analisadas em cada um desses períodos (Figura 3).

Na fase experimental de alimentação–restrição (0/30, 0/40 e 0/50 – destaque 1), as médias canônicas estão mais associadas às diferenças encontradas no peso corporal dos animais e no escore de condição corporal, fato esse verificado em diversos trabalhos, nos quais a restrição de nutrientes acarretará perdas de peso corporal e de escore de condição corporal, quanto mais severa e duradoura for a restrição. No destaque 2, as médias canônicas para o período de realimentação (30/0, 40/0 e 50/0) estão fortemente associadas com as diferenças calculadas para a produção de leite, o teor de lactose e as variáveis relacionadas com a estabilidade do leite, como a frequência do leite instável e o teste de coagulação em etanol. Esses dados permitem inferir a ocorrência de alterações no teor de lactose e na produção de leite por falta de atendimento energético nas situações de restrição, assim como a estabilidade do leite é afetada negativamente pelo desequilíbrio de nutrientes no momento da síntese do leite. As maiores diferenças são encontradas no momento da realimentação dos animais, ou

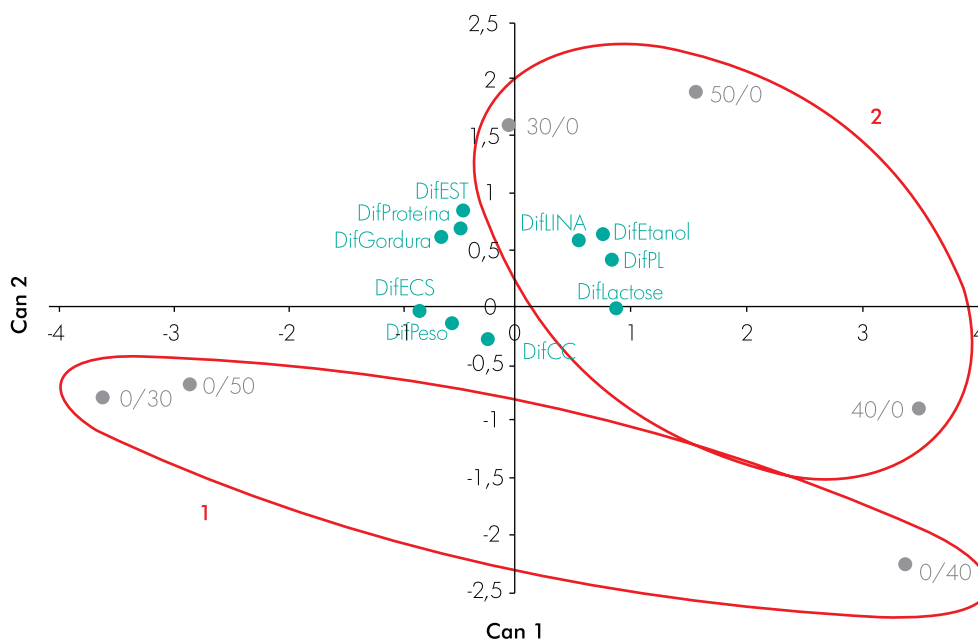


Figura 3. Médias de classe das diferenças padronizadas dos atributos produtivos e das características físico-químicas do leite de vacas submetidas aos níveis de restrição alimentar de 30%, 40% e 50%, considerando os períodos de restrição e de realimentação.

Fonte: Gabbi (2013).

seja, no retorno ao atendimento das necessidades de consumo e nutricionais de vacas em lactação, o qual promove o incremento da estabilidade láctea.

A relação entre restrição alimentar e redução da estabilidade poderia estar relacionada ao aumento da permeabilidade das junções firmes entre as células epiteliais mamárias (STUMPF et al., 2013), em que o maior influxo de sódio e eventualmente cloretos pela via paracelular aumentaria a força iônica ou promoveria o desequilíbrio salino e, conseqüentemente, reduziria a carga negativa líquida entre as micelas de caseína e aumentaria as suas chances de coagulação (CHAVEZ et al., 2004). Além disso, outros fatores podem reduzir a carga negativa líquida entre as micelas, como elevadas concentrações de íons H^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Na e K^+ , assim como proporções distintas de frações caseínicas, como baixa concentração de κ -caseína (HORNE; MUIR, 1990; LEWIS; DEETH, 2009; TSILOULPAS et al., 2007). A relação inversa entre a acidez titulável – embora 70% das observações estivessem dentro da faixa considerada normal, de 14 °D a 18 °D – e a frequência de leite instável (Figuras 1 e 2) está de acordo com os resultados de Marques et al. (2007) e Oliveira et al. (2011), os quais constataram elevada frequência de leite instável em amostras de leite com acidez titulável menor que 18 °D. Entretanto, valores elevados de acidez titulável (mas ainda considerados

normais, ainda mais se tratando de amostras de leite individuais) podem estar relacionados a maiores teores de proteínas e fosfatos.

Aporte nutricional

Gabbi (2013) analisou dados de sete experimentos, totalizando 392 observações, obtidos entre os anos de 2004 e 2011, pela equipe de pesquisadores do Núcleo de Pesquisa da Pecuária Leiteira e Comportamento Animal (Nuplac), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e da Embrapa Clima Temperado, para verificar os efeitos do aporte energético sobre as características produtivas dos animais e do leite. O autor verificou, analisando os ângulos entre vetores imaginários das variáveis, que os níveis de atendimento energéticos de 66%, 80% e 94% do recomendado pelo National Research Council (2001) foram positivamente associados com produção leiteira, estabilidade do leite e teor de lactose (Figuras 4 e 5).



Figura 4. Relação entre o nível de atendimento energético, a duração do experimento, a produção e as características físico-químicas do leite, projetados no plano ortogonal.

Fonte: Gabbi (2003).

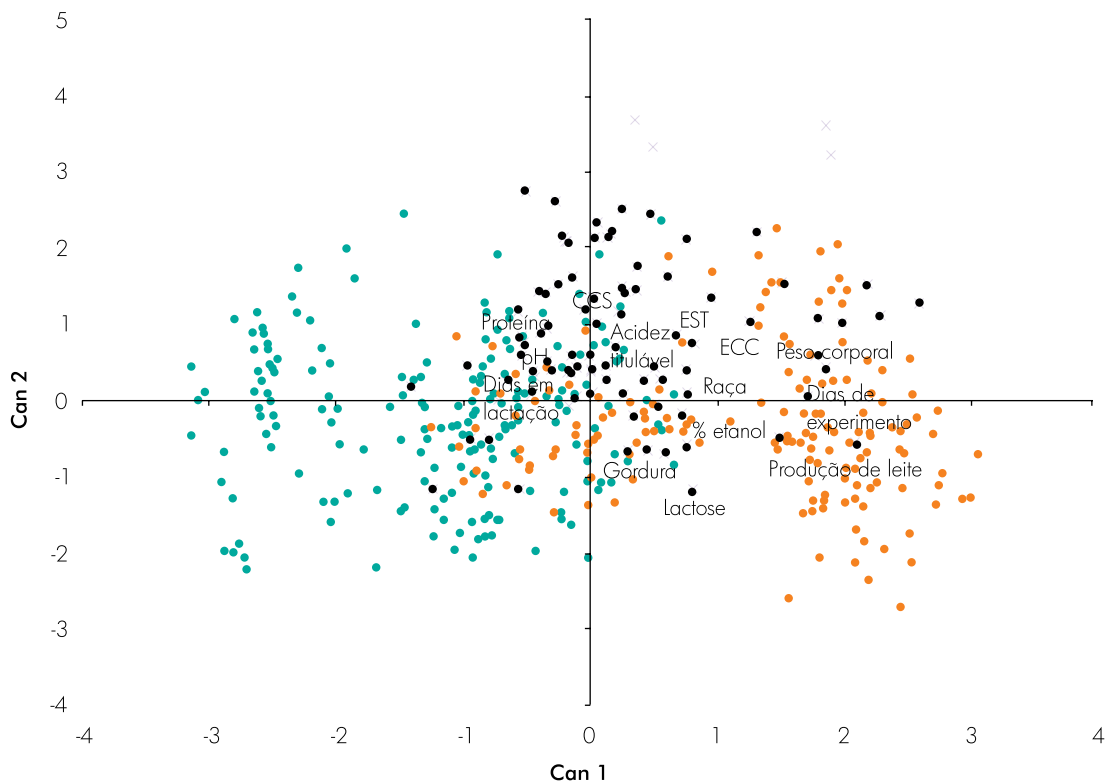


Figura 5. Médias canônicas padronizadas dos atributos produtivos e das características físico-químicas do leite de vacas submetidas a diferentes níveis de atendimento energético.

Fonte: Gabbi (2003).

Quando satisfeitas as exigências de energia de manutenção dos animais, o incremento do fornecimento de nutrientes excedentes resulta em maior aporte de nutrientes para a glândula mamária (LE MOSQUET et al., 2009), com destaque para a glicose, precursor da lactose, a qual é o principal regulador osmótico do volume de leite produzido (LE MOSQUET et al., 2009; WALL; MCFADDEN, 2012). A adequação do atendimento das exigências energéticas foi associada ao aumento da estabilidade do leite, e pode ser parcialmente atribuída à maior concentração da lactose e à menor concentração de sódio (STUMPF et al., 2013) e cloretos.

Além de certas práticas de alimentação – como fornecimento de diferentes níveis de aporte dos alimentos –, distúrbios ruminais, com ocorrência de acidose ruminal aguda e consequente acidose metabólica, provocam redução da produção leiteira e surgimento de alterações na estabilidade do leite submetido ao teste do álcool, como as observadas por Ponce e Hernández (2005). Esses autores, ao fornecerem dieta que basicamente consistia

em cana-de-açúcar, melão e concentrado, avaliaram o efeito do fornecimento de quantidades variáveis de proteína digestível sobre o intestino de vacas da raça Holandesa com potencial leiteiro mediano, e verificaram que o não atendimento das exigências proteicas, concomitantemente ao desequilíbrio proteína:energia, provocou acidose metabólica, reduziu a produção leiteira, reduziu a concentração de componentes lácteos e aumentou a ocorrência de leite instável no teste do álcool 68 °GL.

A estabilidade da micela de caseína sofre forte influência do equilíbrio mineral na glândula mamária. Avaliando amostras de leite estáveis e instáveis no teste do etanol, Chavez et al. (2004) verificaram que, nas amostras instáveis, enquanto a concentração de caseína (g L^{-1} de leite) era menor, os níveis de sódio, cloretos e potássio eram maiores do que nas amostras estáveis.

Os mecanismos pelos quais a restrição alimentar reduz a estabilidade do leite ainda não foram totalmente elucidados, assim como as relações entre fatores não nutricionais (individualidade dos animais, raça, potencial produtivo, suscetibilidade ao estresse, variações climáticas – sobretudo o calor –, infecção da glândula mamária, entre outras) e a estabilidade do leite. Um dos possíveis processos que afetam a estabilidade do leite em decorrência de restrição alimentar é, como já apresentado, o aumento da permeabilidade das junções firmes das células epiteliais da glândula mamária (STUMPF et al., 2013), com aumento da força iônica e instabilização das caseínas.

As estratégias de alimentação utilizadas nos diferentes sistemas de produção de leite também influenciam a estabilidade do leite, acarretando as distorções encontradas em uma mesma bacia leiteira, em relação à qualidade do leite entregue na indústria.

Em um levantamento realizado entre 2002 e 2004 com produtores da bacia leiteira de Pelotas, RS, e avaliando as estratégias de alimentação e estabilidade do leite entre os sistemas de produção, Gabbi (2013) concluiu que: a) a frequência de leite instável não ácido (LINA) tem relação direta com o uso de resteva, feno e pastagens de estação quente na alimentação das vacas lactantes; b) a frequência de LINA não apresenta relação com o tipo de concentrado utilizado na propriedade, mas apresenta uma relação inversa com o uso de silagem e de suplemento vitamínico-mineral; e c) a frequência de LINA apresenta relação inversa com o teor de lactose do leite obtido. Essas três observações corroboram os dados de autores anteriormente citados, segundo os quais: a) os alimentos com alto conteúdo fibroso tendem a aumentar a frequência de LINA; b) o balanço mineral na dieta dos animais e sua influência sobre a síntese do leite alteram a estabilidade da micela da caseína; e c) o desequilíbrio de nutrientes na glândula mamária, decorrente da restrição de ingestão adequada de alimentos,

tipificado pelo baixo conteúdo de glicose sanguínea (e posteriormente lactose), também está relacionado com a observação de alta frequência de LINA.

Gabbi (2013) encontrou, na avaliação das características de produção de leite no extremo oeste catarinense, uma relação direta entre o uso de concentrado comercial e a estabilidade do leite no teste do álcool, mostrando, assim, que a utilização de alimentos balanceados possui alguma relação com a manutenção da estabilidade do leite no teste do álcool.

Considerações finais

As razões para a redução da estabilidade do leite não ocasionada pela deterioração microbiana são muitas, mas parecem estar associadas principalmente ao desequilíbrio no aporte de nutrientes e minerais para a glândula mamária, decorrente de má alimentação ou restrição alimentar. A detecção de falhas no fornecimento quantitativo e qualitativo de alimentos aos animais se torna, portanto, ferramenta importante ao produtor, o qual, por meio da adoção de correções práticas, pode elevar a estabilidade láctea, de forma a incrementar a qualidade do seu produto, bem como seus lucros.

Referências

- BARBOSA, R. S.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; ZANELA, M. B.; STUMPF, M. T.; KOLLING, G. J.; SCHAFFHÄUSER JÚNIOR, J.; BARROS, L. E.; EGITO, A. S. Caracterização eletroforética de proteínas e estabilidade do leite em vacas submetidas à restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 4, p. 621-628, 2012.
- BARCHIESI-FERRARI, C. G.; WILLIAMS-SALINAS, P. A.; SALVO-GARRIDO, S. I. Inestabilidad de la leche asociada a componentes lácteos y estacionalidad en vacas a pastoreo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 12, p. 1785-1791, 2007.
- BJERRE-HARPØTH, V.; FRIGGENS, N. C.; THORUP, V. M.; LARSEN, T.; DAMGAARD, B. M.; INGVARSEN, K. L.; MOYES, K. M. Metabolic and production profiles of dairy cows in response to decreased nutrient density to increase physiological imbalance at different stages of lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 5, p. 2362-2380, 2012.
- BODENMÜLLER FILHO, A.; DAMASCENO, J. C.; PREVIDELLI, I. T. S.; SANTANA, R. G.; RAMOS, C. E. C. O.; SANTOS, G. T. Tipologia de sistemas de produção baseada nas características do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1832-1839, 2010.
- BOTARO, B. G.; LIMA, Y. V. R. de; AQUINO, A. A.; FERNANDES, R. H. R.; GARCIA, J. F.; SANTOS, M. V. dos. Polimorfismo da beta-lactoglobulina não afeta as características físico-químicas e a estabilidade do leite bovino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 5, p. 747-753, 2007.
- BOUTINAUD, M.; BEN CHEDLY, M. H.; DELAMAIRE, E.; GUINARD-FLAMENT, J. Milking and feed restriction regulate transcripts of mammary epithelial cells purified from milk. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 3, p. 988-998, 2008.

BURKE, C. R.; WILLIAMS, Y. J.; HOFMANN, L.; KAY, J. K.; PHYN, C. V. C.; MEIER, S. Effects of an acute feed restriction at the onset of the seasonal breeding period on reproductive performance and milk production in pasture-grazed dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 3, p. 1116-1125, 2010.

CHAVEZ, M.; NEGRI, L.; TAVERNA, M. A.; CUATRÍN, A. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. **Journal of Dairy Research**, v. 71, n. 2, p. 201-206, 2004.

COLAZO, M. G.; HAYIRLI, A.; DOEPEL, L.; AMBROSE, D. J. Reproductive performance of dairy cows is influenced by prepartum feed restriction and dietary fatty acid source. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 6, p. 2562-2571, 2009.

DESSAUGE, F.; LOLLIVIER, V.; PONCHON, B.; BRUCKMAIER, R.; FINOT, L.; WIART, S.; CUTULLIC, E.; DISENHAUS, C.; BARBEY, S.; BOUTINAUD, M. Effects of nutrient restriction on mammary cell turnover and mammary gland remodeling in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 10, p. 4623-4635, 2011.

DI MARCO, O. N.; BARCELOS, J. O. J.; COSTA, E. C. **Crescimento de bovinos de corte**. Porto Alegre: NESPRO-UFRGS, 2007. 278 p.

DRACKLEY, J. K.; RICHARD, M. J.; BEITZ, D. C.; YOUNG, J. W. Metabolic changes in dairy cows with ketonemia in response to feed restriction and dietary 1,3-butanediol. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 6, p. 1622-1634, 1992.

FERNANDES, E. N.; BRESSAN, M.; VERNEQUE, R. S. Zoneamento da pecuária leiteira da região sul do Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 485-491, 2004.

FRUSCALSO, V.; STUMPF, M. T.; MCMANUS, C. M.; FISCHER, V. Feeding restriction impairs milk yield and physicochemical properties rendering it less suitable for sale. **Scientia Agricola**, v. 70, n. 4, p. 219-303, 2013.

GABBI, A. M. **Características do leite bovino produzido em sistemas de alimentação e de produção com diferentes aportes tecnológicos**. 2013. 138 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

GROSS, J.; DORLAND, H. A. van; BRUCKMAIER, R. M.; SCHWARZ, F. J. Performance and metabolic profile of dairy cows during a lactational and deliberately induced negative energy balance with subsequent realimentation. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 4, p. 1820-1830, 2011.

GUINARD-FLAMENT, J.; DELAMAIRE, E.; LEMOSQUET, S.; BOUTINAUD, M.; DAVID, Y. Changes in mammary uptake and metabolic fate of glucose with once-daily milking and feed restriction in dairy cows. **Reproduction and Nutrition Development**, v. 46, n. 5, p. 589-598, 2006.

HORNE, D. S.; MUIR, D. D. Alcohol and heat stability of milk protein. **Journal of Dairy Research**, v. 46, n. 3, p. 433-439, 1990.

HORNE, D. S.; PARKER, T. G. The pH sensibility of the ethanol stability of individual cow milks. **Neth Milk Dairy Journal**, n. 34, p. 126-130, 1979.

IBGE. **Produção pecuária municipal 2011**: Brasil. Brasília, DF, 2011. v. 39, 65 p.

INGVARTSEN, K. L.; FRIGGENS, N. C. To what extent do variabilities in hormones, metabolites and energy intake explain variability in milk yield? **Domestic Animal Endocrinology**, v. 29, n. 3, p. 294-304, 2005.

KUHLA, B.; KUHLA, S.; RUDOLPH, P. E.; ALBRECHT, D.; METGES, C. C. Proteomics analysis of hypothalamic response to energy restriction in dairy cows. **Proteomics**, v. 7, n. 19, p. 3602-3617, 2007.

LAEGER, T.; GÖRS, S.; METGES, C. C.; KUHLA, B. Effect of feed restriction on metabolites in cerebrospinal fluid and plasma of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1198-1208, 2012. DOI: 10.3168/jds.2011-4506.

LEMOQUET, S.; DELAMAIRE, E.; LAPIERRE, H.; BLUM, J. W.; PEYRAUD, J. L. Effects of glucose, propionic acid, and nonessential amino acids on glucose metabolism and milk yield in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 7, p. 3244-3257, 2009.

- LEWIS, M. J.; DEETH, H. C. Heat treatment of milk. In: TAMINE, A. Y. (Ed.) **Milk processing and quality management**. Chichester: Wiley-Blackwell, 2009. p. 168-204.
- MARQUES, L. T.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JÚNIOR, W.; FISCHER, V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 13, n. 1, p. 91-97, 2007.
- MARTINS, P. R. G.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JÚNIOR, W.; ZANELA, M. B. Produção e qualidade do leite em sistemas de produção na região leiteira de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, p. 212-217, 2007.
- MOLINA, L. H.; GONZÁLEZ, R.; BRITO, C.; CARRILLO, B.; PINTO, M. Correlacion entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero. **Archivos de Medicina Veterinária**, v. 33, n. 2, p. 233-240, 2001.
- MOYES, K. M.; DRACKLEY, J. K.; SALAK-JOHNSON, J. L.; MORIN, D. E.; HOPE, J. C.; LOOR, J. J. Dietary-induced negative energy balance has minimal effects on innate immunity during a *Streptococcus uberis* mastitis challenge in dairy cows during midlactation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 9, p. 4301-4316, 2009.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (Estados Unidos). **Nutrient requirement of dairy cattle**. 17th ed. Washington, DC: NAP, 2001. 381 p.
- NJARUI, D. M. G.; GATHEU, M.; WAMBUA, J. M.; NGUIU, S. N.; MWANGI, D. M.; KEYA, E. A. Feeding management for dairy cattle in smallholder farming systems of semi-arid tropical Kenya. **Livestock Research for Rural Development**, v. 23, n. 5, 2011. Disponível em: <<http://www.lrrd.org/lrrd23/5/njar23111.htm>>. Acesso em: 1º mar. 2014.
- O'BRIEN, B.; MURPHY, J. J.; CONNOLLY, J. F.; MEHRA, R.; GUINEE, T. P.; STAKELUM, G. Effect of altering the daily herbage allowance in mid lactation on the composition and processing characteristics of bovine milk. **Journal of Dairy Research**, v. 64, n. 4, p. 621-626, 1997.
- OLIVEIRA, C. A. F.; LOPES, L. C.; FRANCO, R. C.; CORASSIN, C. H. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, v. 12, n. 2, p. 508-515, 2011.
- PERKINS, K. H.; VANDEHAAR, M. J.; BURTON, J. L.; LIESMAN, J. S.; ERSKINE, R. J.; ELSASSER, T. H. Clinical responses to intramammary endotoxin infusion in dairy cows subjected to feed restriction. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 7, p. 1724-1731, 2002.
- PONCE, P. C.; HERNÁNDEZ, R. Efecto de tres tipos de dieta sobre la aparición de trastornos metabólicos y su relación con alteraciones en la composición de la leche en vacas Holstein Friesian. **Zootecnia Tropical**, v. 23, n. 3, p. 295-310, 2005.
- RADCLIFF, R. P.; MCCORMACK, B. L.; KEISLER, D. H.; CROOKER, B. A.; LUCY, M. C. Partial feed restriction decreases growth hormone receptor 1A mRNA expression in postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 2, p. 611-619, 2006.
- SINGH, H. Heat stability of milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, n. 2-3, p. 111-119, 2004.
- SMITH, R. R.; MOREIRA, L. V. H.; LATRILLE, L. L. Characterization of dairy productive systems in the Tenth Region of Chile using multivariate analysis. **Agricultura Técnica**, v. 62, n. 3, p. 375-395, 2002.
- STRATEN, M. van; FRIGER, M.; SHPIGEL, N. Y. Events of elevated somatic cell counts in high-producing dairy cows are associated with daily body weight loss in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 9, p. 4386-4394, 2009.
- STUMPF, M. T.; FISCHER, V.; MCMANUS, C. M.; KOLLING, G. J.; ZANELA, M. B.; SANTOS, C. S.; ABREU, A. S.; MONTAGNER, P. Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces ethanol stability of milk. **Animal**, v. 7, n. 7, p. 1137-1142, 2013.
- TROCCON, J. L.; PETIT, M. Croissance des génisses de renouvellement et performances ultérieures. **INRA Productions Animales**, v. 2, n. 1, p. 55-64, 1989.

TSIOULPAS, A.; LEWIS, M. J.; GRANDISON, A. S. Effect of minerals on casein micelle stability of cow's milk. **Journal of Dairy Research**, v. 74, n. 2, p. 167-173, 2007.

TUCKER, C. B.; LACY-HULBERT, S. J.; WEBSTER, J. R. Effect of milking frequency and feeding level before and after dry off on dairy cattle behavior and udder characteristics. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 7, p. 3194-3203, 2009.

VELEZ, J. S.; DONKIN, S. S. Feed restriction induces pyruvate carboxylase but not phosphoenolpyruvate carboxykinase in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 8, p. 2938-2948, 2005. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72974-X](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72974-X)>. Acesso em: 14 maio 2014.

VERKERK, G. Pasture-based dairying: challenges and rewards for New Zealand producer. **Theriogenology**, v. 59, n. 2, p. 553-561, 2003.

WALL, E. H.; MCFADDEN, T. B. A local affair: how the mammary gland adapts to changes in milking frequency. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 5, p. 1695-1707, 2012.

ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; BARBOSA, R. S.; MARQUES, L. T.; STUMPF JÚNIOR, W.; ZANELA, C. Leite instável não-ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 5, p. 835-840, 2006.

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V.; GOMES, J. F.; STUMPF JÚNIOR, W. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 4, p. 1009-1013, 2009.

FATORES NÃO NUTRICIONAIS E LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO

Maira Balbinotti Zanela
Maria Edi Rocha Ribeiro
Vivian Fischer
Giovani Jacob Kolling
Marcelo Tempel Stumpf

Introdução

A atividade leiteira passou por intensas modificações nas últimas décadas, tornando-se atualmente uma das atividades agropecuárias mais importantes para o Brasil. Desenvolvida na maioria das cidades brasileiras, contribui de forma relevante para a sustentabilidade da vida rural.

A globalização exigiu que a atividade se tornasse mais competitiva e com produtos de melhor qualidade. Em 2002, o País implantou o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite, regularizado pela Instrução Normativa nº 51/2002 (BRASIL, 2002), posteriormente substituída pela Instrução Normativa nº 62/2011 (BRASIL, 2011). Entre as exigências legais, o teste do álcool é utilizado para avaliar a qualidade do leite nas unidades de produção, no momento da coleta. Resultados positivos levam à condenação da matéria-prima, sendo a acidez elevada uma das causas da instabilidade. Porém, com a introdução do resfriamento do leite nas unidades de produção e o transporte a granel, conseguiu-se manter a qualidade do leite produzido, reduzindo, assim, os casos relacionados à acidez alta.

Nesse contexto, os problemas relacionados à instabilidade do leite no teste do álcool começaram a ser questionados. A melhoria da qualidade do leite em muitas propriedades, associada ao resfriamento adequado, gerava dúvidas sobre a real acidez do leite e os resultados do teste do álcool. Isso motivou uma série de estudos da Embrapa e de instituições parceiras, que visaram identificar a etiologia da instabilidade do leite e encontrar soluções para o setor produtivo.

O objetivo deste capítulo é apresentar uma breve revisão sobre os estudos relativos à ocorrência, à caracterização e ao efeito dos fatores não nutricionais no leite instável não ácido (LINA).

Leite instável não ácido

O leite instável não ácido (LINA) é um problema no sistema de produção de leite, que resulta em prejuízos a toda a cadeia produtiva. A questão consiste em alterações nas características físico-químicas do leite. A principal alteração identificada é a perda da estabilidade da caseína quando exposta ao teste do álcool, resultando em precipitação positiva, sem haver acidez elevada (acima de 18 °D) (ZANELA, 2004).

Segundo a legislação vigente (Instrução Normativa nº 62/2011), antes da coleta, o leite deve ser homogeneizado e deve ser realizada a prova do álcool (Figura 1), na concentração mínima de 72%, devendo o leite ser estável a esse teste (BRASIL, 2011). Considera-se estável o leite que não apresentar precipitação (Figura 2). Quando o resultado é positivo ao teste do álcool, geralmente os produtores dizem que o leite “cortou” no teste. Nesse caso, o leite é rejeitado pelo transportador, ou seja, não é coletado.

Ocorrência

Os primeiros registros de precipitação de leite cru exposto à prova do álcool ocorreram na Holanda, em 1930. Alterações na estabilidade do leite foram identificadas em vários países: Irã (SOBHANI et al., 1998), Cuba (PONCE, 1999), Uruguai (BARROS et al., 1999), Argentina (NEGRI et al., 2001), Japão (YOSHIDA, 1980), Itália (PECORARI et al., 1984), Bolívia (ALDERSON, 2000) e Chile (BARCHIESI-FERRARI et al., 2007). No Brasil, foram verificadas em vários estados: Rio Grande do Sul (MACHADO, 2010; MARQUES, 2004; SUÑÉ, 2010; ZANELA, 2004), Rio de Janeiro (DONATELE et al., 2003), São Paulo (BOTARO et al., 2009; LOPES, 2008; OLIVEIRA et al., 2011; ROMA JÚNIOR, 2008), Santa Catarina (ABREU, 2008; WERNCKE, 2012), Paraná (BLASQUES et al., 2011; MARX et al., 2011) e Pernambuco (PACHECO, 2011).

Composição do leite

Vários fatores interferem na produção e no teor dos componentes do leite, estando entre eles: o fator genético (espécie, raça dos animais, individualidade animal), fatores



Foto: Maira Zanela

Figura 1. Acidímetro de salut (pistola do álcool) utilizado pelo transportador.



Fotos: Maira Zanela

Figura 2. Leite normal (à esquerda) e leite instável (à direita).

intrínsecos (idade, estágio de lactação, número de lactações), fatores nutricionais (tipo de alimento e disponibilidade, forma de conservação, adequação da dieta às exigências do animal), fatores ambientais (condições ambientais, estresse, estação do ano, manejo) e fatores extrínsecos (sanidade animal, contaminação bacteriana) (ZANELA et al., 2011a).

As Tabelas 1 a 3 apresentam as alterações na composição do leite instável em comparação com o leite normal. Não foram apresentadas as médias dos teores dos componentes, pois os trabalhos foram conduzidos em diferentes condições ambientais, com diversidade genética e distintas condições nutricionais, o que não permite a simples comparação dos valores.

Tabela 1. Variação nos componentes do leite instável em comparação com o leite normal, por vários autores (amostras de rebanho).

Componente (%)	Referência					
	Negri (2002)	Marques (2004)	Oliveira e Timm (2006)	Roma Júnior (2008)	Lopes (2008)	Zanela (2009)
Gordura	ns	+	+	ns	+	ns
Proteína bruta	ns	-	ns	ns	-	-
Caseína	-	na	na	na	ns	na
Lactose	ns	-	-	-	-	-
Sólidos totais	ns	ns	ns	ns	ns	-
Sólidos desengordurantes	-	na	na	-	-	-
Álcool	72 e 78 ⁽¹⁾	76	70	78 (bronopol)	72 e 78 ⁽¹⁾ (bronopol)	76

(+): aumento (maior no leite instável ao leite normal); (-): diminuição [menor no leite instável ao leite (normal)]; (ns): não significativo; (na): não analisado. ⁽¹⁾ Leite instável (considerado neste trabalho como positivo ao álcool 72%) e leite normal (negativo ao álcool 78%).

Fonte: Lopes (2008), Marques (2004), Negri (2002), Oliveira e Timm (2006), Roma Júnior (2008) e Zanela et al. (2009).

A maior parte dos autores encontrou menores teores de lactose e sólidos desengordurados no leite instável do que no leite normal (Tabela 1). A gordura apresentou aumento no leite instável em 50% dos trabalhos. A proteína bruta não variou nem apresentou redução. Apenas um trabalho analisou o teor de caseína, que se apresentou reduzido.

É importante salientar a diferença entre a concentração de álcool utilizada naqueles estudos. Quanto maior a concentração utilizada, mais rígido é o teste do álcool, havendo um aumento no número de casos de leite instável.

Nas amostras de leite de vacas individuais (Tabela 2), os autores encontraram redução dos teores de lactose do leite instável em comparação com o leite normal.

Tabela 2. Variação nos componentes do leite instável em comparação com o leite normal, por vários autores (amostras de vacas individuais).

Componente (%)	Referência				
	Sobhani (1998)	Barros (2001)	Ponce e Hernandez (2001)	Chavez et al. (2004)	Roma Júnior (2008)
Gordura	ns	+	ns	ns	ns
Proteína bruta	ns	+	-	ns	ns
Caseína	na	na	-	-	na
Lactose	-	-	-	ns	-
Sólidos totais	ns	+	-	na	na
Sólidos desengordurantes	ns	+	-	-	ns
Álcool	-	70	75	72 e 78 ⁽¹⁾	78

(+): aumento (maior no leite instável ao leite normal); (-): diminuição [menor no leite instável ao leite (normal)]; (ns): não significativo; (na): não analisado. ⁽¹⁾ Leite instável (considerado neste trabalho como positivo ao álcool 72%) e leite normal (negativo ao álcool 78%).

Fonte: Barros (2001), Chavez et al. (2004), Ponce Ceballo e Hernández (2001), Roma Júnior (2008) e Sobhani et al. (1998).

Tabela 3. Variação nos componentes do leite instável em comparação com o leite normal, por vários autores (amostras de vacas individuais).

Componente (%)	Referência						
	Fruscalso (2007)	Barbosa (2008)	Abreu (2008)	Viero (2008)	Machado (2010)	Fischer N ⁽¹⁾ 2006	
Gordura	ns	ns	ns	ns	ns	1	-
Proteína bruta	ns	ns	ns	ns	ns	3	-
Lactose	ns	ns	ns	-	ns	4	-
Sólidos totais	ns	ns	ns	ns	ns	1	-
Sólidos desengordurantes	ns	na	ns	na	na	-	-
N ureico	-	na	ns	ns	-	3	+
Ca iônico	-	-	-	+	-	1	+

(+): aumento (maior no leite instável ao leite normal); (-): diminuição [menor no leite instável ao leite (normal)]; (ns): não significativo; (na): não analisado. ⁽¹⁾ Total de cinco experimentos, sendo n = número de experimentos com variações significativas.

Fonte: Abreu (2008), Barbosa et al. (2008), Fischer et al. (2006), Fruscalso (2007), Machado (2010) e Viero (2008).

De forma geral, o leite instável apresentou composição química diferente daquela do leite normal, principalmente no que se refere a menores teores de lactose e sólidos desengordurados. Com relação aos minerais (Tabela 4), em alguns trabalhos, o leite instável apresentou teores mais elevados de sódio, cloro e potássio.

Tabela 4. Variação nos minerais do leite instável em comparação com o leite normal, por vários autores (amostras de vacas individuais).

Componente (%)	Referência			
	Negri (2002)	Chavez et al. (2004)	Fruscalso (2007)	Machado (2010)
Sódio	+	+	ns	ns
Cloro	+	+	na	na
Potássio	+	+	ns	ns
Fósforo	ns	ns	ns	ns
Magnésio	ns	ns	ns	ns
Citrato	ns	ns	na	na
Ca iônico	ns	ns	ni	ni
Ca total	ns	ns	ns	0

(+): aumento (maior no leite instável ao leite normal); (ns): não significativo; (ni) = não informado.

Fonte: Chavez et al. (2004), Fruscalso (2007), Machado (2010) e Negri (2002).

Frações proteicas

Distintos trabalhos científicos vêm buscando compreender as diferenças nas proporções de caseína entre leite com alta ou baixa estabilidade no teste do álcool; entretanto, ainda não há consenso entre os autores.

Barbosa et al. (2012), comparando frações proteicas de leite estável ou instável ao álcool 72 °GL, perceberam maiores níveis de β -caseína ($p = 0,0405$) e tendência de redução nos níveis de κ -caseína ($p = 0,0681$) de leite instável. Tal constatação pode estar relacionada à função de barreira eletrostática e física contra a agregação micelar desempenhada pelas moléculas de κ -caseína. Em concordância, Lopes (2008) encontrou menores proporções de κ -caseína, em um período no qual as incidências de LINA foram mais elevadas. Robitaille et al. (2001) perceberam a necessidade de níveis mais elevados de álcool para precipitar o leite com predominância na expressão do alelo B em comparação com o alelo A do gene da κ -caseína do que em amostras com expressão similar para os alelos A e B.

Em contrapartida, Oliveira et al. (2013) compararam níveis de variadas frações proteicas entre leite estável ou instável ao álcool 72 °GL e não perceberam níveis diferentes de caseínas α_{s1} , α_{s2} , β e κ ($p > 0,05$). Botaro et al. (2009), em um estudo detalhado sobre a relação entre polimorfismo da κ -caseína e estabilidade do leite, não encontraram associações entre coagulação das amostras e genótipos da proteína.

Sistemas de produção

Gabbi (2013) utilizou dados levantados no Rio Grande do Sul durante 3 anos (entre 2002 e 2005) de sistemas de produção leiteira com variados graus de especialização. As informações sobre composição físico-química do leite, produção, práticas de ordenha, sistema de resfriamento do leite e uso de alimentos foram avaliadas por análise multivariada, que demonstrou a existência de relação entre tamanhos maiores de propriedade, número alto de vacas em lactação e elevada produção mensal de leite (características de sistemas mais tecnificados) com baixa frequência de LINA. Nesse mesmo estudo, a utilização de resteva e pastagens de estação quente, que costumam obter de média a baixa qualidade nutricional, foi associada a uma maior incidência de leite instável.

Em outro estudo, realizado com base em levantamento em 53 produtores localizados no extremo oeste de Santa Catarina, entre agosto de 2010 e maio de 2011, Gabbi (2013) percebeu uma frequência de 80% de amostras estáveis ao álcool, igual ou acima de 74 °GL. Notou também que a adoção de níveis tecnológicos mais elevados resulta em maior estabilidade do leite no teste do álcool.

Tempo de lactação

Barros et al. (1999) observaram maior incidência de amostras positivas no teste do álcool no início da lactação. Essa reduzida estabilidade nos primeiros dias pós-parto pode ser consequência da baixa estabilidade do colostro (WHITE; DAVIES, 1958), o qual contém altos níveis de cálcio iônico. Segundo esses autores, o avançar da lactação promove aumento na estabilidade láctea, a qual volta a reduzir nos últimos dias do estágio lactacional (BARROS et al., 1999; MARQUES et al., 2010). Tal redução pode estar associada a alterações no equilíbrio salino do leite, com aumento nos teores de cálcio e magnésio e redução de citratos + fosfatos (GARNSWORTHY et al., 2006). Em um estudo detalhado, Tsioulpas et al. (2007) avaliaram a estabilidade do leite ao teste do álcool do primeiro ao 90º dia de lactação, percebendo aumento na concentração de álcool necessária para desestabilizar as proteínas de 53 °GL para 59 °GL, 76 °GL e 85 °GL, no 1º, no 4º, no 15º e no 90º dia, respectivamente. Estudos de tamanho detalhado demonstram a alta variação natural na estabilidade do leite durante a lactação.

Estresse térmico

O estresse provocado por elevadas temperaturas promove significativas alterações fisiológicas nas vacas leiteiras. Além de reduzir o consumo de alimentos e elevar a temperatura retal e a frequência respiratória (WHEELOCK et al., 2010), reduz a produção de leite (RHOADS et al., 2009), altera o funcionamento endócrino (COLLIER et al., 2005), aumenta as concentrações de ureia plasmática e das proteínas de choque térmico (LACETERA et al., 2006), entre outros. Assim, por alterar de modo pronunciado as características fisiológicas dos animais, o estresse térmico é um potencial comprometedor da composição e da estabilidade do leite (ABREU et al., 2011). Tal assunto ganha relevância quando se considera o aumento na temperatura terrestre nos últimos anos, com previsões de aumento de 0,2 °C por década nas próximas duas décadas, e de 1,8 °C a 4,0 °C até o ano de 2100 (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, 2007).

Em um experimento realizado no Município de São João do Oeste, SC, Abreu et al. (2011) submeteram vacas da raça Holandesa a elevadas temperaturas e sem acesso à sombra por um período de 5 dias e perceberam redução significativa na estabilidade do leite ao teste do álcool, a qual atingiu valores de 70,83 °GL. Os autores sugerem que a redução da estabilidade deve ser decorrente de um quadro de acidose metabólica, como alegado por Marques et al. (2011), em resposta compensatória à alcalose respiratória desencadeada pelo aumento da taxa respiratória.

Mastite

Fischer et al. (2011b) citam que a sanidade da glândula mamária (mastite subclínica) aparentemente não exerce efeitos marcantes sobre a estabilidade do leite no teste do álcool. Porém, ainda existem dúvidas sobre até que ponto o teste do álcool consegue identificar leites mastíticos (CHAVEZ et al., 2004).

Donatele et al. (2003) sugerem não haver relação entre a positividade do leite ao teste do alizarol 72% e o número de células somáticas. Nesse trabalho, 61,67% das amostras positivas ao alizarol apresentaram células somáticas inferiores a 300 mil células por mililitro de leite. Esses autores também não encontraram envolvimento de bactérias na instabilidade do leite in natura no teste do alizarol 72%.

Zanela (2004) identificou que amostras de leite normais apresentaram distribuição similar ao LINA, em diferentes intervalos de células somáticas, sendo que a maior porcentagem de amostras ficou abaixo dos limites de 300 mil células por mililitro.

Negri et al. (2001) encontraram menor contagem de células somáticas (CCS) no leite instável do que no leite normal, e não foram detectadas diferenças significativas na contagem bacteriana total. Por sua vez, Oliveira et al. (2011), em estudo realizado com amostras de propriedades leiteiras fornecedoras de leite para um laticínio em São Paulo, SP, nos períodos chuvoso e seco do ano de 2007, totalizando 451 amostras, mostraram que a contagem de células somáticas foi significativamente superior ($P < 0,05$) no leite instável não ácido, em comparação com o valor médio obtido para o leite estável, independentemente da época do ano.

Da mesma forma, Marques (2004) encontrou diferença significativa quando comparou leite normal com LINA. Após pesquisa realizada na região de Pelotas, RS, no período de abril de 2002 a setembro de 2003, totalizando 9.892 amostras avaliadas, verificou que o LINA apresentava CCS mais elevada (463 mil células por mililitro) do que o leite normal (401 mil células por mililitro).

Os trabalhos citados dizem respeito, porém, a amostras de leite de conjuntos ou de animais individuais. Isso pode comprometer os resultados das análises em virtude da mistura do leite de animais saudáveis com o leite de animais com mastite, ou de quartos saudáveis com quartos mastíticos.

Kolling (2012) avaliou a relação entre a contagem de células somáticas do leite oriundo de diferentes quartos mamários de vacas com mastite subclínica. Nesse estudo, as amostras foram coletadas dos quartos mamários de forma individual, sendo que não houve diferença significativa da instabilidade do leite dos quartos mamários saudáveis e dos mastíticos ($P = 0,3467$).

Concentração do álcool

A legislação atual (Instrução Normativa nº 62/2011) estabelece que o leite deve ser estável ao álcool/alizarol na concentração mínima de 72% (BRASIL, 2011).

As indústrias têm elevado a concentração de álcool (chegando até à concentração de 82%). O aumento da concentração do álcool na solução provoca um estreitamento da faixa de normalidade da acidez do leite, ou seja, pode indicar alterações justamente por exercer drasticamente sua ação desidratante. Desse modo, a proteína, que resistiria a uma concentração de 68% de álcool, poderia não suportar uma concentração de 72% ou 74% em um nível de acidez titulável de 18 °D ou um pouco menos.

Fischer et al. (2011a) avaliaram o percentual de amostras instáveis utilizando diferentes concentrações de álcool em diversos experimentos. Quanto maior a concentração utilizada, maior o número de casos de leite instável (Figura 3).

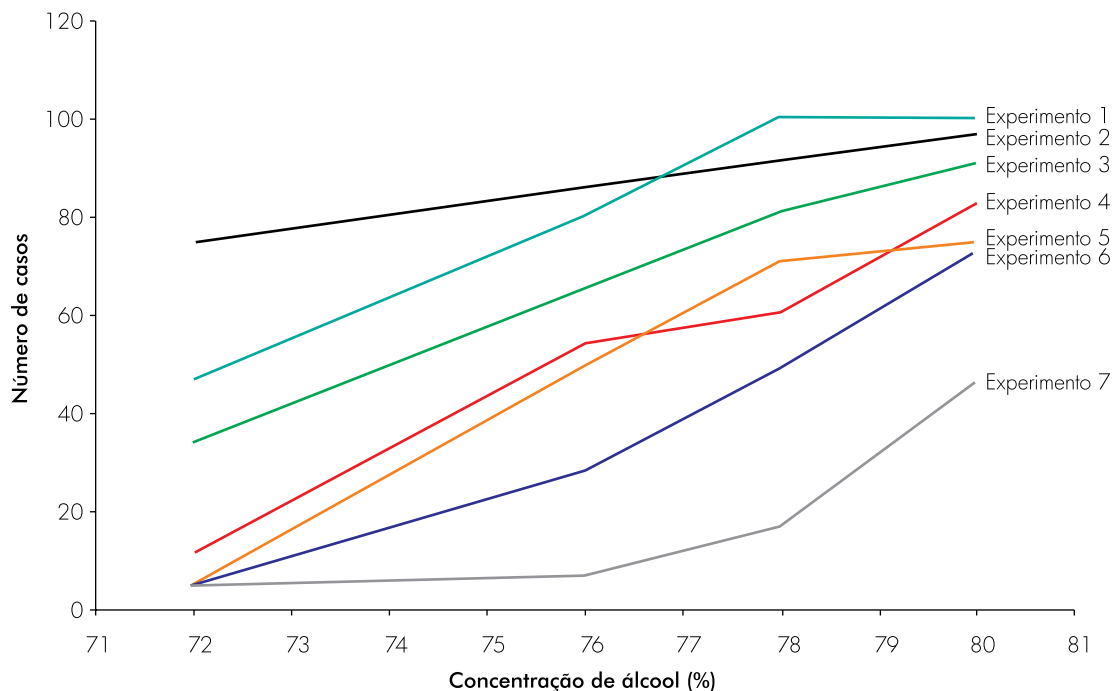


Figura 3. Número de casos de LINA em diferentes experimentos (cada linha corresponde a um experimento), utilizando diferentes concentrações de álcool.

Fonte: adaptado de Fischer et al. (2011a).

O aumento da concentração de álcool tem sido justificado pelos laticínios como a busca por um leite com maior estabilidade térmica, visando à produção de derivados submetidos a processos mais elevados (UHT e leite em pó). Entretanto, Molina et al. (2001) realizaram um estudo para determinar a correlação entre os parâmetros do teste do álcool e a estabilidade térmica do leite, utilizando concentrações de etanol de 70%, 75%, 80% e 85%. Com uma concentração de 75% de etanol, foram obtidos valores de estabilidade térmica de 60 a 70 segundos a 135 °C. Esse tempo foi considerado suficiente para a elaboração do leite UHT (135 °C a 140 °C, por 2 a 4 segundos). Dessa forma, segundo os autores, não existe uma razão justificada para utilizar concentrações acima de 75% de etanol. O aumento da concentração ao etanol não apresentou correlação significativa com a estabilidade térmica.

Cálcio iônico

O excesso de sais (cálcio iônico, no presente caso) tende a dominar as cargas presentes na água e a reduzir a quantidade de carga a se ligar ao soluto (proteínas), induzindo, assim, o aumento da interação soluto/soluto e promovendo a precipitação proteica (RIEGEL, 2001).

Tsioulpas et al. (2007) observaram diferença significativa ($p < 0,05$) nos teores de cálcio iônico de leite instável ao álcool 72 °GL e 88 °GL: 2,58 mM \times 1,77 mM, respectivamente. Assim como Chavez et al. (2004), Barros et al. (2001) compararam leite positivo ou negativo no teste do álcool a 76 °GL e encontraram valores médios de Ca^{2+} mais elevados em amostras positivas: $0,117 \pm 0,03 \text{ g L}^{-1}$ e $0,098 \pm 0,04 \text{ g L}^{-1}$, respectivamente. Segundo Tsioulpas et al. (2007), a estabilidade de amostras de leite contendo níveis de Ca^{2+} abaixo de 1,5 mM é extremamente alta (95 °GL), enquanto aumentos nesse níveis até 2,4 mM denotam redução nesse parâmetro. Os autores observaram que aumentos nos níveis de cálcio iônico acima de 2,4 mM não alteram significativamente a estabilidade do leite no teste do álcool. Mesmo com a diferença entre os valores encontrados por vários autores, percebe-se um padrão: a concentração de álcool necessária para induzir a coagulação das proteínas é inversamente proporcional ao teor de cálcio iônico do leite (BARROS, 2001; LIN, 2002). Por outro lado, Barbosa et al. (2010), em trabalho envolvendo diferentes níveis de energia e proteína na dieta de vacas em lactação, não encontraram correlação do cálcio iônico com a estabilidade do leite ao teste do álcool.

Temperatura do teste

A influência da temperatura do leite sobre a ação do álcool em proteínas e a ocorrência de precipitação ainda é controversa. Estudo realizado por Costa et al. (2004), analisando 55 amostras de leite, apresentou diferença significativa, em que as temperaturas mais elevadas da matéria-prima determinavam maior concentração de álcool para a coagulação. Em contrapartida, em um trabalho analisando 130 amostras de leite, não encontrou diferença no LINA (MACHADO, 2010).

Citrato

Os efeitos do citrato no leite são de caráter estabilizante, uma vez que suas moléculas promovem a quelação (captura) do Ca^{2+} presente no meio (SALAÜN et al., 2005), reduzindo seus efeitos prejudiciais à estabilidade do leite. Machado (2010) promoveu aumento da concentração de álcool necessária para desestabilizar o leite por meio da adição de

0,02% de citrato de sódio no leite: $77,12 \text{ }^\circ\text{GL} \times 72,74 \text{ }^\circ\text{GL}$ ($p < 0,0001$). Além disso, reduziu a frequência de amostras com estabilidade menor ou igual a $72 \text{ }^\circ\text{GL}$ e elevou o número de amostras estáveis ao álcool $78 \text{ }^\circ\text{GL}$ ($p < 0,0001$).

pH do álcool

O pH da solução alcoólica utilizada no teste do álcool poderá trazer resultados falsos positivos se o pH da solução alcoólica não for corrigido para próximo da neutralidade. Vizzotto et al. (2012) avaliaram amostras de água destilada e de álcool utilizadas no teste do álcool em cinco laticínios do Estado de Santa Catarina. Com base nessas amostras, foram preparadas soluções alcoólicas com concentração de etanol variando de $68 \text{ }^\circ\text{GL}$ a $92 \text{ }^\circ\text{GL}$ e soluções alcoólicas com pH ajustado (próximo da neutralidade: 6,9 a 7,1) nas mesmas concentrações. Foram coletadas 25 amostras de leite de vacas da raça Jersey saudáveis, e cada amostra foi avaliada em todas as soluções alcoólicas. O teste realizado com a solução alcoólica com pH ajustado apresentou maior valor médio da concentração mínima de etanol capaz de coagular o leite ($87,4 \text{ }^\circ\text{GL}$), quando comparado com os resultados obtidos usando as soluções não ajustadas, que, em média, apresentaram valor de $84,9 \text{ }^\circ\text{GL}$. Os autores observaram que o pH das amostras de água variou mais do que o pH das amostras de álcool, e os extremos (tanto de pH baixo como alto) aumentaram a frequência de amostras positivas em relação à solução ajustada. Os autores reconhecem que seria necessário um número maior de amostras de leite para estabelecer melhor a relação entre pH da água e resultado do teste do álcool.

O pH pode atuar modificando a dissolução e a concentração de íons, os quais podem reduzir as cargas negativas das micelas de caseína, favorecendo a sua coagulação (CHAVEZ et al., 2004; TSILOULPAS et al., 2007).

Estabilidade do leite de outras espécies

A legislação brasileira estabelece parâmetros para a determinação da qualidade do leite bovino, entre os quais estão a acidez e a estabilidade ao álcool.

O teste do álcool é comumente utilizado para leite de bubalinos e caprinos nos laticínios; entretanto, não existe legislação nacional que estabeleça padrões para o leite de búfala.

Em uma pesquisa realizada no período de novembro de 2009 a dezembro de 2010, foram avaliadas mensalmente seis amostras de leite de búfala de propriedades do Rio

Grande do Sul (ZANELA et al., 2011b). As amostras de leite foram coletadas diretamente do tanque de resfriamento ou dos tarros de leite, após homogeneização, considerando-se amostras compostas do rebanho.

O nível de instabilidade do leite foi em média de 72%. A distribuição das amostras de acordo com a instabilidade do leite encontra-se na Figura 4.

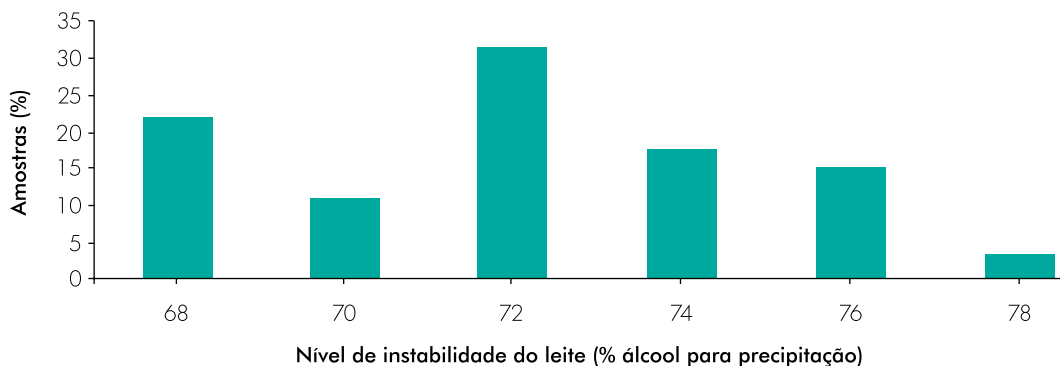


Figura 4. Porcentual de amostras de leite de búfala de acordo com o nível de instabilidade no teste do álcool.

Fonte: Zanela et al. (2011b).

A variação sazonal da estabilidade do leite de búfala avaliado no estudo está demonstrada graficamente na Figura 5.

Com relação ao leite de cabra, a legislação vigente – Instrução Normativa nº 37/2000 (BRASIL, 2000) – estabelece que o teste do álcool não é aplicável à seleção do leite dessa espécie. Entretanto, alguns laticínios utilizam o teste de forma similar ao leite bovino.

Mello et al. (2010) realizaram, em um capril em Viçosa, MG, com 31 fêmeas das raças Saanen ($n = 19$) e Alpina ($n = 12$), três coletas com intervalos semanais, utilizando 18 a 31 fêmeas em cada coleta. Foram realizadas as determinações de acidez titulável em graus Dornic, estabilidade ao calor, pelo teste de fervura, e estabilidade ao etanol em diferentes concentrações (50 °GL a 70 °GL, com intervalos de 2 °GL). Os valores de acidez titulável variaram de 11 °D a 20 °D. As raças Saanen e Alpina diferiram significativamente ($P = 0,0024$) quanto à acidez titulável (14,89 °D e 16,27 °D, respectivamente); entretanto, o mesmo não foi observado em relação à estabilidade ao álcool ($P = 0,5933$), verificando-se valores medianos de 52 °GL.

Determinou-se a estabilidade mediana, sendo que 55 (76,4%) amostras analisadas apresentaram estabilidade ao álcool em graduação inferior a 60 °GL (Figura 6).

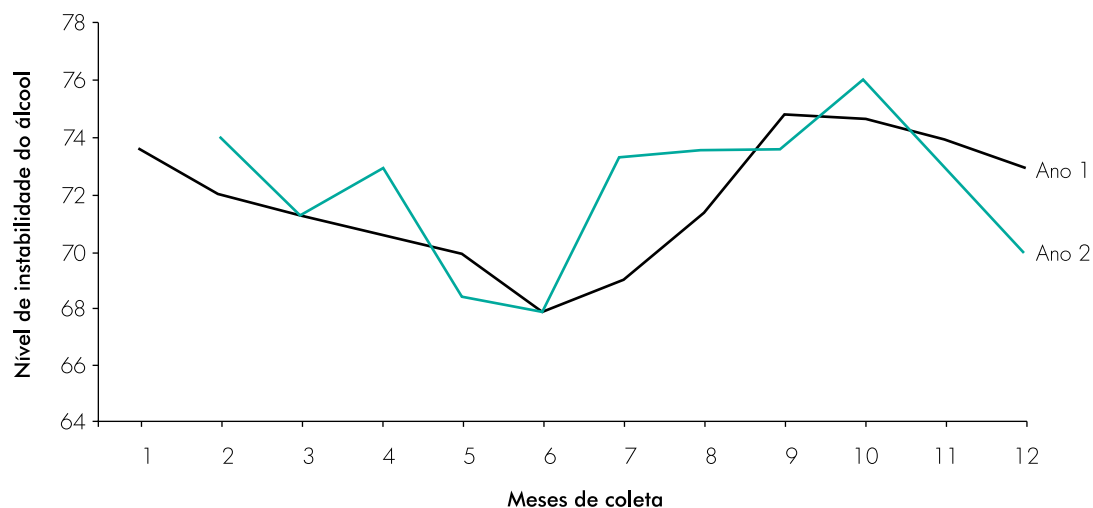


Figura 5. Variação sazonal da estabilidade do leite de búfala no teste do álcool, em vários anos e meses de coleta.

Fonte: Zanela et al. (2011b).

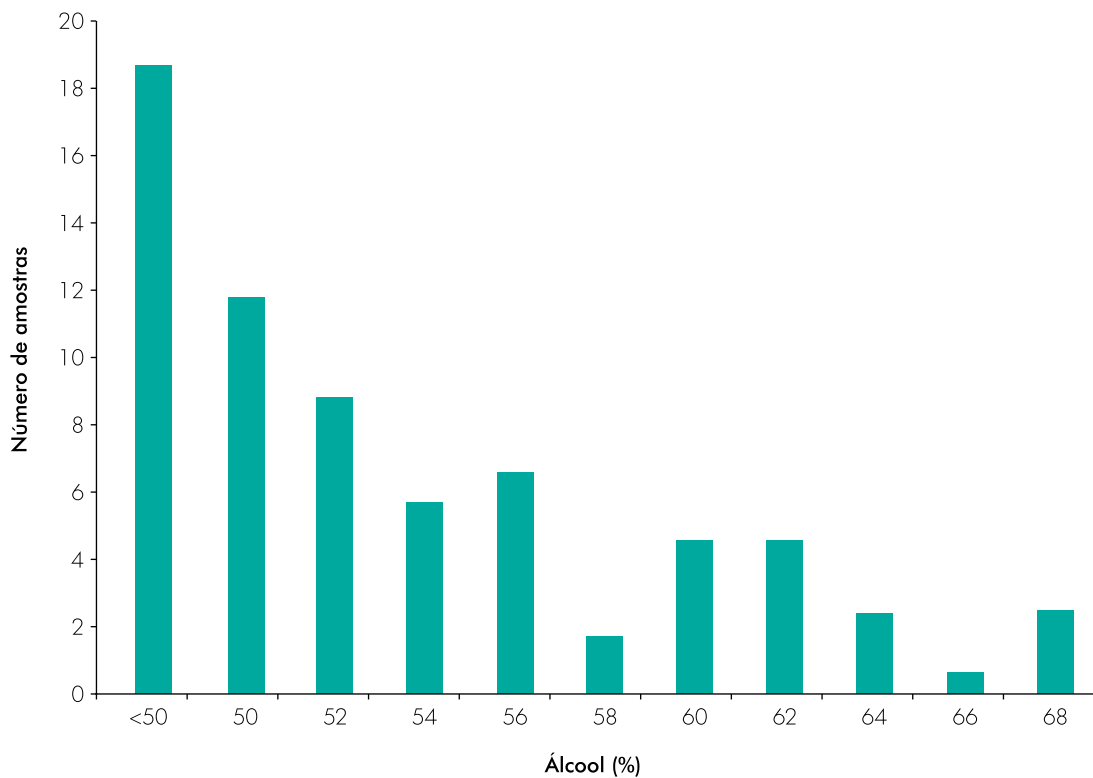


Figura 6. Distribuição de frequência da estabilidade do leite de cabra ao teste do álcool.

Fonte: Mello et al. (2010).

Esses resultados demonstram que o leite de cabra apresenta menor estabilidade ao teste do álcool do que o leite bovino, não podendo ser usado os mesmos parâmetros para sua avaliação.

Considerações finais

A qualidade do leite é o produto final de um conjunto de fatores inerentes ao animal, associados ao manejo e a fatores ambientais que interagem de forma complexa, e que resultarão na qualidade da matéria-prima.

Vários fatores vêm sendo estudados para identificar aqueles que predisõem a ocorrência do LINA, conforme a Figura 7.

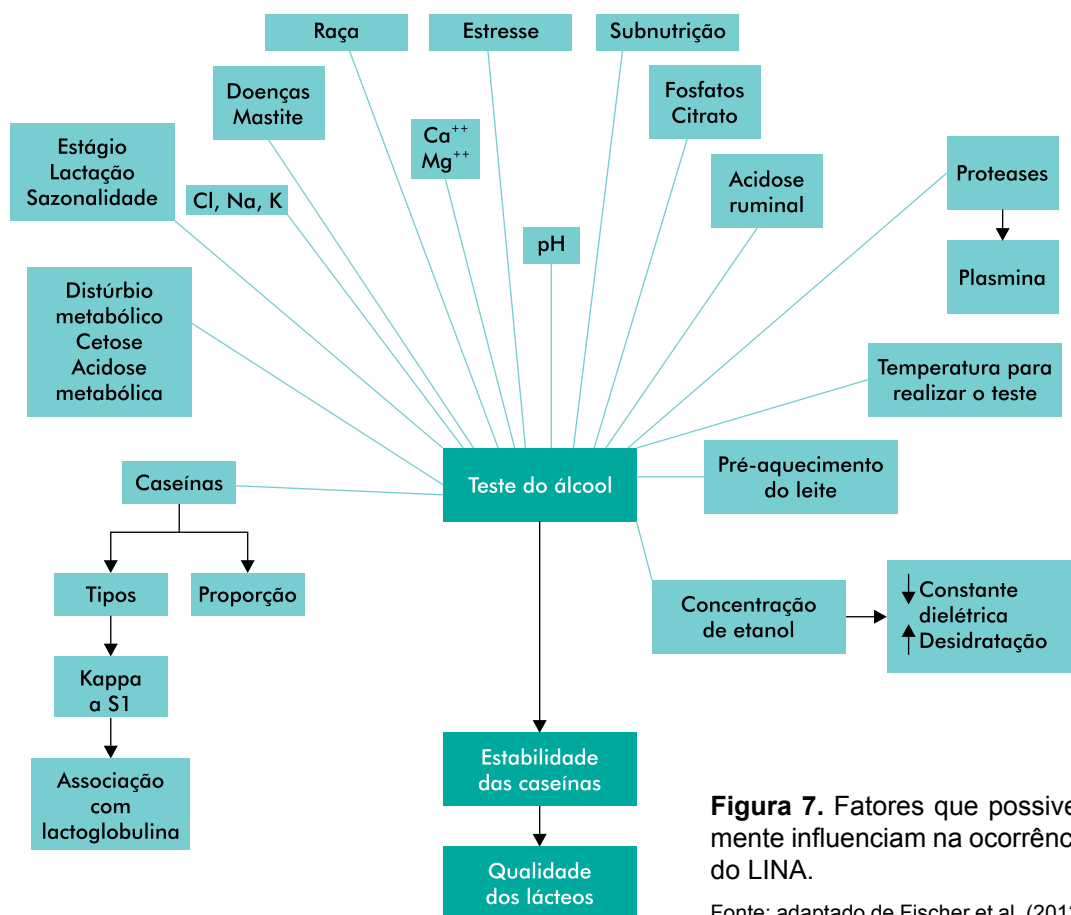


Figura 7. Fatores que possivelmente influenciam na ocorrência do LINA.

Fonte: adaptado de Fischer et al. (2012).

De forma geral, o LINA é o resultado do desequilíbrio no sistema de produção de leite, que resulta na condenação da matéria-prima. O planejamento do manejo nos sistemas de produção, levando-se em conta as necessidades nutricionais das vacas leiteiras, a saúde e o bem-estar dos animais, é o princípio fundamental para a prevenção do LINA.

Referências

- ABREU, A. S. **Leite instável não ácido e propriedades físico-químicas do leite de vacas Jersey**. 2008. 111 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- ABREU, A. S.; FISCHER, V.; KOLLING, G. J.; STUMPF, M. T.; RAVAZI, E. O.; MASIERO, A.; MENDES, D. R.; SORATTO, J. A. B.; BORBA JÚNIOR, I.; BONOTTO, R.; ROSSETTO, G. K.; ROSSETTO, T. K. Estresse calórico induzido por privação de acesso à sombra em vacas holandesas reduz a produção leiteira e a estabilidade térmica do leite. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL DE LECHE INESTABLE, 2., 2011, Colonia del Sacramento. **Anais...** Colonia del Sacramento: [s.n.], 2011. p. 54.
- ALDERSON, E. **Small scale milk collection and processing in developing countries**. Rome: FAO, 2000. E-mail conference. Disponível em: <www.fao.org/ag/aga/agap/lps/dairy/ecs/proceedings>. Acesso em: 17 nov. 2005.
- BARBOSA, R. S.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; ZANELA, M. B.; STUMPF, M. T.; KOLLING, G. J.; SCHAFHÄUSER JÚNIOR, J.; BARROS, L. E.; EGITO, A. S. Caracterização eletroforética de proteínas e estabilidade do leite em vacas submetidas à restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 4, p. 621-628, 2012.
- BARBOSA, R. S.; RIBEIRO, M. E. R.; SCHAFHÄUSER JÚNIOR, J.; FISCHER, V.; STUMPF JÚNIOR, W.; GOMES, J. F.; BONO, G.; BARROS, L. E. Efeito do cálcio iônico nas características físicas do LINA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 4., 2010, Florianópolis. **Anais...** [Curitiba: Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite], 2010. 1 CD-ROM.
- BARBOSA, R. S.; VON HAUSEN, L. J. O.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V.; STUMPF JÚNIOR, W.; ZANELA, M. B. Composição do leite instável não ácido obtido de vacas mantidas em pastagem de milheto (*Pennisetum americanum*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE: SEGURANÇA ALIMENTAR E SAÚDE PÚBLICA, 3., 2008, Recife. **Anais...** Recife: Ed. UFPE, 2008. 1 CD-ROM.
- BARCHIESI-FERRARI, C. G.; WILLIAMS-SALINAS, P. A.; SALVO-GARRIDO, S. I. Inestabilidad de la leche asociada a componentes lácteos y estacionalidad en vacas a pastoreo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 12, p. 1785-1791, 2007.
- BARROS, L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 2001. p. 46-60.
- BARROS, L.; DENIS, N.; GONZÁLEZ, O.; GALAIN, C. Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. **Revista Prácticas Veterinarias**, v. 9, p. 315-318, 1999.
- BLASQUES, F. C.; SILVA, F. A.; RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; GARCIA, D. T.; TAMANINI, R.; BELOTI, V. Ocorrência de leite instável não ácido (LINA) em três municípios da região norte do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 38., 2011, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: [s.n.], 2011. p. 1-3.
- BOTARO, B. G.; LIMA, Y. V. R.; CORTINHAS, C. S.; SILVA, L. F. P.; RENNÓ, F. P.; SANTOS, M. V. Effect of the kappa-casein gene polymorphism, breed and seasonality on physicochemical characteristics, composition and stability of bovine milk. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 12, p. 2447-2454, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº51 de 18 de setembro de 2002. Aprova e oficializa o Regulamento

técnico de identidade e qualidade de leite cru e refrigerado. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 de setembro de 2002. Seção 1, p. 13.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº62 de 29 de dezembro de 2011. Altera a Instrução Normativa MAPA nº51, de 18 de setembro de 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 de dezembro de 2011. Seção 1, n. 251, p. 6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite de cabra**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2193>>. Acesso em: 1º ago. 2009.

CHAVEZ, M.; NEGRI, L. M.; TAVERNA, M. A.; CUATRÍN, A. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. **Journal of Dairy Research**, v. 71, n. 2, p. 201-206, 2004.

COLLIER, R. J.; BAUMGARD, L. H.; LOCK, A. L.; BAUMAN, D. E. Physiological limitations, nutrient partitioning. In: SYLVESTER-BRADLEY, R.; WISEMAN, J. (Ed.). **Yield of farmed species: constraints and opportunities in the 21st Century**. Nottingham: Nottingham University Press, 2005. p. 351-377.

COSTA, F. F.; BRITO, M. A. V. P.; SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F. Influência da temperatura no teste de estabilidade do leite frente ao etanol. In: DURR, J. W.; CARVALHO, M. P.; SANTOS, M. V. **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: Ed. UPF, 2004. p. 296-300.

DONATELE, D. M.; VIEIRA, L. F. P.; FOLLY, M. M. Relação do teste de Alizarol a 72% (v/v) em leite "in natura" de vaca com acidez e contagem de células somáticas: análise microbiológica. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 110, p. 95-100, 2003.

FISCHER, V.; MARQUES, L. T.; ZANELA, M. B.; FRUSCALSO, V.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JÚNIOR, W.; SILVEIRA, I. D. B.; BARBOSA, R. S. Chemical composition of unstable non-acid milk. **Revista de Ciências Veterinárias**, v. 4, n. 4, p. 52, 2006.

FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; ZANELA, M. B.; MARQUES, L. T.; ABREU, A. S.; MACHADO, S. C.; FRUSCALSO, V.; BARBOSA, R. S.; STUMPF, M. T. Leite instável não ácido: um problema solucionável? **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 3, p. 838-849, jul./set. 2012.

FISCHER, V.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; MARQUES, L. T.; ABREU, A. S.; MACHADO, S. C.; FRUSCALSO, V.; BARBOSA, R. S.; STUMPF, M. T.; KOLLING, G. J.; VIERO, V. Leite instável não ácido (LINA): prevenção na propriedade leiteira e impactos nos laticínios. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 3.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 1., 2011, Viçosa. **Anais... Viçosa**: Ed. Universidade Federal Viçosa, 2011a. p. 45-65.

FISCHER, V.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; MARQUES, L. T.; STUMPF, W.; VIDAL, L. E. B. Prevalência, indução e tratamento do leite instável não ácido (LINA) no sul do Brasil. In: GONZALEZ, F. D.; PINTO, A. T.; ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; BONDAN, C. (Org.). **Qualidade do leite bovino: variações no trópico e no subtropical**. Passo Fundo: Ed. UPF, 2011b. v. 1, p. 119-138.

FRUSCALSO, V. **Influência da oferta da dieta, ordem e estágio de lactação sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do leite bovino e a ocorrência de leite instável ao ácido**. 2007. 147 f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

GABBI, A. M. **Características do leite bovino produzido em sistemas de alimentação e de produção com diferentes aportes tecnológicos**. 2013. 139 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

GARNSWORTHY, P. C.; MASSON, L. L.; LOCK, A. L.; MOTTRAM, T. T. Variation of milk citrate with stage of lactation and de novo fatty acid synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 5, p. 1604-1612, 2006.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. **Fourth Assessment Report (AR4)**. 2007. Disponível em: <<http://www.ipcc.ch/report/ar4/>>. Acesso em: 27 fev. 2010.

KOLLING, G. J. **Influência da mastite na qualidade do leite e leite instável não ácido em diferentes quartos mamários**. 2012. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

LACETERA, N.; BERNABUCCI, U.; SCALIA, D.; BASIRICO, L.; MORERA, P.; NARDONE, A. Heat stress elicits different responses in peripheral blood mononuclear cells from Brown Swiss and Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 12, p. 4606-4612, 2006.

LOPES, L. C. **Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, Estado de São Paulo**. 2008. 64 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MACHADO, S. C. **Fatores que afetam a estabilidade do leite bovino**. 2010. 191 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Programa de Pós- Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MARQUES, L. T. **Ocorrência do leite instável não ácido (LINA) e seu efeito sobre a composição química e aspectos físicos**. 2004. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MARQUES, L. T.; FISCHER, V.; ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JÚNIOR, W.; RODRIGUES, C. M. Produção leiteira, composição do leite e perfil bioquímico sanguíneo de vacas lactantes sob suplementação com sal aniônico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 5, p. 1088-1094, 2011.

MARQUES, L. T.; FISCHER, V.; ZANELA, M. B.; STUMPF JÚNIOR, W.; RIBEIRO, M. E. R.; VIDAL, L. E. B.; RODRIGUES, C. M.; PETERS, M. D. Suplementação de vacas holandesa em estádio avançado de lactação. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1392-1398, 2010.

MARX, I. G.; LAZZAROTTO, T. C.; DRUNKLER, D. A.; COLLA, E. Ocorrência do leite instável não ácido na região oeste do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 13, n. 1, p. 1-10, 2011.

MELLO, F. A.; PINTO, A. T.; ZANELA, M. B.; SCHMIDT, V. Estabilidade térmica e ao álcool do leite de cabras Saanem e Alpina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 38, n. 2, p. 165-169, 2010.

MOLINA, L. H.; GONZÁLEZ, R.; BRITO, C.; CARRILLO, B.; PINTO, M. Correlation between heat stability and alcohol test of milks at a milk collection center. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 33, n. 2, p. 233-240, 2001.

NEGRI, L. M. **Estudio de los factores fisicoquímicos de la leche cruda que inciden sobre la estabilidad térmica**. 2002. 169 f. Tesis (Magister em Ciencia y Tecnologia de los Alimentos) – Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe.

NEGRI, L.; CHAVEZ, M.; TAVERNA, M.; ROBERTS, L.; SPERANZA, J. **Fatores que afectan la estabilidad térmica y la prueba de alcohol en leche cruda de calidad higiénica adecuada**: informe técnico final del proyecto. [Buenos Aires]: INTA EEA/Rafaela: INTI CITIL Rafaela, 2001.

OLIVEIRA, C. A. F.; LOPES, L. C.; FRANCO, R. C.; CORASSIN, C. H. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 2, p. 508-515, 2011.

OLIVEIRA, C. A. F.; LOPES, L. C.; ROSIM, R. E.; FERNANDES, A. M.; CORASSIN, C. H. Composition, somatic cell count and casein fractions of ethanol unstable milks. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 1, p. 153-156, 2013.

OLIVEIRA, D. S.; TIMM, C. D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 259-263, 2006.

PACHECO, M. S. **Leite cru refrigerado do Agreste Pernambucano**: caracterização da qualidade e do sistema de produção. 2011. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

PECORARI, M.; FPSSA E.; AVANZINI, G.; MARIAN, P. Milk with abnormal coagulation: acidity, chemical composition and observation on the metabolic profile of the cow. **Sci. Tec. Latt. Cas.**, v. 35, n. 4, p. 263-278, 1984.

PONCE CEBALLO, P.; HERNÁNDEZ, R. Propriedades físico-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 2001. p. 61-72.

PONCE, P. Caracterização da síndrome do leite anormal: um enfoque das suas possíveis causas e correção. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4., 1999, Caxambu. **Anais...** [São Paulo]: Instituto Fernando Costa, 1999. p. 61-76.

RHOADS, M. L.; RHOADS, R. P.; VANBAALE, M. J.; COLLIER, R. J.; SANDERS, S. R.; WEBER, W. J.; CROOKER, B. A.; BAUMGARD, L. H. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 5, p. 1986-1997, 2009.

RIEGEL, R. E. **Bioquímica**. 3. ed. São Leopoldo: Ed. Universidade do Vale do Rio dos Sinos, 2001. 547 p.

ROBITAILLE, G.; BRITTEN, M.; PETITCLERC, D. Effect of a differential allelic expression of kappa-casein gene on ethanol stability of bovine milk. **Journal of Dairy Research**, v. 68, p. 145-149, 2001.

ROMA JÚNIOR, L. C. **Características quantitativas e qualitativas da proteína do leite produzido na região Sudeste**. 2008. 150 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SALAÜN, F.; MIETTON, B.; GAUCHERON, F. Buffering capacity of dairy products. **International Dairy Journal**, v. 223, n. 15, p. 95-109, 2005.

SOBHANI, S.; VALIZADEH, R.; NASERIAN, A. Alcohol stability of milk and its relation to milk and blood composition in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, suppl. 1, p. 58, 1998.

SUÑÉ, R. W. **A incidência de amostras de leite com reação positiva ao teste do álcool em diferentes concentrações na região da campanha do Rio Grande do Sul e a relação com a acidez titulável no acidímetro de Dornic**. Bagé: Embrapa Pecuária Sul, 2010. 13 p. (Embrapa Pecuária Sul. Documentos, 113).

TSIOULPAS, A.; LEWIS, M. J.; GRANDISON, A. S. Effect of minerals on casein micelle stability of cows' milk. **Journal of Dairy Research**, v. 74, n. 2, p. 167-173, 2007.

VIERO, V. **Efeito da suplementação com selênio no perfil bioquímico sanguíneo e características físico-químicas do leite normal e do leite instável não ácido**. 2008. 91 f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

VIZZOTTO, E. F.; OLIVEIRA, E. R.; FISCHER, V.; ABREU, A. S.; STUMPF, M. T.; KOLLING, G. J.; WANDERER, M. pH da solução alcoólica usada no teste do álcool e sua influência na estabilidade do leite bovino. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE LEITE, 11., 2012, Goiânia. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2012. 1 CD-ROM.

WERNCKE, D. **Perfil das propriedades e ocorrência de leite instável não ácido na Região do Vale do Braço do Norte, sul do Estado de Santa Catarina**. 2012. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages.

WHELOCK, J. B.; RHOADS, R. P.; VANBAALE, M. J.; SANDERS, R. S.; BAUMGARD, L. H. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 644-655, 2010.

WHITE, J. C. D.; DAVIES, D. T. The relation between the chemical composition of milk and the stability of the caseinate complex: II. Coagulation by ethanol. **Journal of Dairy Research**, v. 25, n. 2, p. 255-266, 1958.

YOSHIDA, S. Studies in the utrech abnormality of milk in the Miyuki Dairy Farm. **Journal Japanese Applied Biology Science Hir.University**, v. 19, n. 1, p. 39-54, 1980.

ZANELA, M. B. **Caracterização do leite produzido no Rio Grande do Sul, ocorrência e indução experimental do leite instável não ácido (LINA)**. 2004. 143 f. Tese (Doutorado em Zootecnia – Produção Animal) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

ZANELA, M. B. **Relatório final do projeto: caracterização do sistema de produção, do perfil do consumidor e avaliação da qualidade do leite de búfala e seus derivados no Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2011b.

ZANELA, M. B.; KOLLING, G. J.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V. Análises de composição e estabilidade do leite ao álcool. In: CONFERENCIA INTERNACIONAL SOBRE LECHE INESTABLE, 2., 2011, Montevideo. **Anais...** Montevideo: Universidad de la Republica, 2011a. 1 CD-ROM.

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V.; GOMES, J. F.; STUMPF JUNIOR, W. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 4, p. 1009-1013, 2009.

QUALIDADE DO LEITE

CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CONTAGEM BACTERIANA TOTAL

Diego Prado de Vargas
José Laerte Nörnberg
Renius de Oliveira Mello
Rudolf Brand Scheibler
Fábio Antunes Rizzo
Jorge Schafhäuser Junior
Maria de Fátima Barros Leal Nörnberg

Introdução

De acordo com projeções do agronegócio brasileiro para o período de 2010/2011 a 2020/2021, elaboradas pela Assessoria de Gestão Estratégica do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011a), tanto a produção quanto o consumo per capita de leite por ano deverão crescer a uma taxa de 1,9%. Dessa forma, em 2020, a produção do País deverá chegar a 38,2 bilhões de litros. Mesmo com o consumo interno em expansão, haverá, segundo a estimativa, um excedente crescente, que em 2020 deverá alcançar 4,5 bilhões de litros.

Considerando o aumento da demanda por leite no mercado externo, que cresce de 3,5% a 4,0% ao ano, segundo dados da Organização das Nações Unidas (ONU), o cenário mundial acena com boas oportunidades para o ingresso de novos parceiros nesse setor do comércio (PEREIRA, 2008). Na China e na Índia, por exemplo, o consumo de produtos lácteos vem crescendo em patamares acima da taxa de crescimento da produção; some-se a isso o fato de serem países com pouca disponibilidade de terra para a agropecuária. Considere-se, por exemplo, que, no período de 2004 a 2008, somente o consumo de leite fluido na Índia sofreu um aumento de 23%, bem superior ao incremento na produção, que

foi de 17%. Acrescido de outros produtos derivados do leite, o consumo dos indianos nesse setor deve demandar importações cada vez maiores (SANTINI et al., 2009).

Nova Zelândia, Austrália, Estados Unidos e os países-membro da União Europeia, segundo Siqueira et al. (2010), representam cerca de 56% das exportações do comércio internacional de lácteos. Como tradicionais exportadores, seriam eles em princípio que assumiriam o abastecimento da China e da Índia. Enfrentam, porém, limitações de espaço físico para a expansão da produção, além do fato de trabalharem com custos muito altos e já terem alcançado o limite de produtividade.

Nesse contexto, o Brasil tem imenso potencial para atender a grande parte dessa demanda, pois certos fatores, como a baixa produtividade, que poderia ser visto como ameaça, transforma-se em uma grande oportunidade quando se considera que, com um pouco de investimento em seleção e nutrição animal, pode-se elevar a produção consideravelmente, sem a necessidade de recorrer à expansão de área ou ao aumento do rebanho (FEDERAÇÃO DA AGRICULTURA DO ESTADO DO PARANÁ, 2008).

A percepção dessa nova dinâmica de inserção do Brasil no mercado lácteo internacional e as evidências de que o leite produzido e o consumido não atendem às exigências de qualidade ditadas pelo mercado externo resultaram no desenvolvimento de novas políticas de incentivo à produção leiteira, que abrangem os setores científicos e econômicos da área, em busca de alternativas para modificar esse panorama. Dessa forma, como resultado das novas políticas de desenvolvimento, iniciou-se, em 1996, a elaboração do Programa Nacional de Melhoria de Qualidade do Leite (PNQL) e, em 1998, estabeleceu-se um grupo de trabalho para analisar e propor um programa de medidas visando ao aumento da competitividade e a modernização do setor lácteo brasileiro (BRASIL, 1998; NERO et al., 2005). A versão definitiva das regulamentações da produção leiteira foi publicada em 18 de setembro de 2002, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), pela Instrução Normativa nº 51 (IN 51), e mais recentemente, em 30 de dezembro de 2011, pela Instrução Normativa nº 62 (IN 62), que entrou em vigor em 1º de janeiro de 2012 (BRASIL, 2002, 2011b).

Como se pode observar, a regulamentação dos padrões de identidade e qualidade do leite cru refrigerado está em processo de implantação gradativa desde 2002. Com a atualização, pela IN 62, os índices de contagem de células somáticas (CCS) e os de contagem bacteriana total (CBT), que podiam chegar a 750 mil células por mililitro e 750 mil UFC por mililitro, respectivamente, passaram a ter, como limite máximo, 600 mil células por mililitro para CCS e 600 mil UFC por mililitro para CBT. A norma brasileira prevê a atualização desses limites nos próximos anos. Assim, de 30 de junho de 2014 a 30 de junho de 2016, o limite de

CCS será de 500 mil células por mililitro e CBT de 300 mil UFC por mililitro. Posteriormente, a partir de 1º de julho de 2016, atenderá aos padrões internacionais de CCS, igualando-se ao limite de 400 mil células por mililitro dos países-membro da União Europeia, da Nova Zelândia e da Austrália. Propõem-se também limites inferiores aos designados pelo Canadá e pelos Estados Unidos da América, que são, nesta ordem, de 500 mil células por mililitro e 750 mil células por mililitro, enquanto, para CBT, igualará aos limites legais, de 100 mil UFC por mililitro, dos países-membro da União Europeia, dos Estados Unidos, da Austrália e da Nova Zelândia, e ficará acima do limite proposto para o Canadá, que é de 50 mil UFC por mililitro (PAYMENT..., 2006; PHILPOT; NICKERSON, 2002; SANTOS, 2006).

No Brasil, a gradativa instauração de normas regulatórias e uma campanha de incentivo à qualidade do leite, promovida pelas indústrias para incentivar o produtor a investir em cuidados com o produto, têm dado resultados. Além do pagamento de bonificações pelo leite de alta qualidade, têm sido aplicadas penas para o leite de baixa qualidade (ÁLVARES, 2005).

Do ponto de vista legal e prático, ao país exportador de produtos lácteos interessam dois aspectos: um deles é a composição centesimal do leite, incluindo os teores de proteína, gordura, lactose, minerais, sólidos totais e desengordurados; e o outro é o aspecto higiênico-sanitário, incluindo requisitos essenciais adotados internacionalmente, como a CCS e a CBT (BRITO; BRITO, 1998). Nesse contexto, entre vários fatores que afetam a qualidade do leite, merecem atenção especial os efeitos da CCS e da CBT sobre os seus constituintes, pois, como foi dito, têm relação direta com as duas principais características ligadas à qualidade do leite.

Células somáticas são os diferentes elementos celulares presentes no leite. Compreendem os leucócitos, sobretudo os neutrófilos, e as células de descamação do epitélio secretor da glândula mamária (PHILPOT; NICKERSON, 2002). São inúmeros os fatores que influenciam a CCS, porém, já está estabelecido que a infecção da glândula mamária (mastite) é a causa de maior interferência, pois as células de defesa migram do sangue para o local de infecção, com o objetivo de combater o agente causador, aumentando, dessa forma, a CCS do leite (ANDRADE et al., 2009; LINDMARK-MÅNSSON et al., 2003; WELLNITZ et al., 2009; ZAFALON et al., 2005).

A mastite também influencia a elevação da CBT do leite, principalmente quando causada por *Streptococcus agalactiae*, ou em casos clínicos provocados por *Escherichia coli* ou *Streptococcus uberis* (SANTOS; FONSECA, 2007). Portanto, os principais mecanismos que provocam modificações nas concentrações dos componentes do leite, com a elevação dos

níveis de CCS e CBT, são as lesões causadas nas células do epitélio secretor, decorrentes da mastite (OLDE RIEKERINK et al., 2007; SOMMERHAUSER et al., 2003). Isso resulta em alteração da concentração de lactose, proteína e gordura (ANDRADE et al., 2009; BUENO et al., 2008; EL-TAHAWY; EL-FAR, 2010; NAJAFI et al., 2009; NORO et al., 2006), e aumento da permeabilidade das células epiteliais, o que determina a elevação da passagem de substâncias do sangue para o leite, tais como sódio, cloro, imunoglobulinas e outras proteínas séricas (SOMMERHAUSER et al., 2003), em decorrência das ações diretas dos patógenos da mastite e da microbiota proveniente de outras fontes de contaminação.

Entre os microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes que podem ser encontrados, destacam-se as bactérias ácido-lácticas (*Lactococcus*, *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc*, *Enterococcus* ou *Streptococcus* spp.), *Pseudomonas* spp., bactérias pertencentes à família Micrococcaceae (*Micrococcus* e *Staphylococcus* spp.) e leveduras. E há outros grupos microbianos presentes no leite cru: *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria* spp. e enterobactérias (TEBALDI et al., 2008). Nero et al. (2005) relataram alta frequência de amostras de leite in natura que apresentaram elevados níveis de contaminação por aeróbios mesófilos, que são os principais microrganismos responsáveis pelo metabolismo da lactose, levando à produção de ácido láctico, o qual, em quantidade elevada, pode desestabilizar a caseína.

O armazenamento do leite cru sob refrigeração possibilita a redução de perdas referentes à qualidade da matéria-prima, pela atividade acidificante de bactérias mesófilas. Entretanto, o armazenamento por períodos prolongados pode resultar em queda de qualidade dos produtos lácteos, em virtude do crescimento e da atividade enzimática de bactérias psicotróficas (VIDAL-MARTINS et al., 2005). As alterações causadas por essas bactérias são responsáveis por limitações na utilização da matéria-prima e comprometem as propriedades organolépticas e a vida de prateleira dos produtos lácteos (BUENO et al., 2008).

Nesse contexto, a determinação da CCS e da CBT do leite é essencial para a avaliação da sua qualidade, pois, além de a primeira ser utilizada como critério de diagnóstico indireto de mastite subclínica (BERGLUND et al., 2007), esses dois indicadores higiênico-sanitários fazem parte das exigências normativas de órgãos fiscalizadores do Brasil e de outros países, além de estarem relacionados com a composição centesimal do leite, com o rendimento industrial e com a determinação da segurança alimentar dos seus derivados. Para os produtores, a CBT é considerada uma importante ferramenta para a avaliação da higiene de ordenha e das condições de estocagem e transporte do leite cru. Já a CCS, no controle da saúde da glândula mamária e em perdas de produção (BUENO et al., 2005; WICKSTRÖM et al., 2009).

Evidentemente, as alterações qualitativas de produção vão depender da severidade da infecção, do estágio da doença e da microbiota residente; entretanto, há uma relação direta entre CCS e CBT com alterações nos constituintes do leite.

A seguir, serão apresentados resultados de experimentos realizados com o intuito de avaliar a situação e a evolução da CCS e da CBT durante o período de junho de 2008 a dezembro 2011, e o impacto desses indicadores higiênico-sanitários sobre os parâmetros de qualidade do leite.

Evolução anual da CCS e da CBT e seus efeitos sobre parâmetros de qualidade do leite

Para dar maior consistência à descrição científica deste capítulo, as informações sobre o efeito da CCS e da CBT sobre parâmetros de qualidade do leite serão fundamentadas em resultados de pesquisas obtidos de dados provenientes de laudos oficiais emitidos pelo Laboratório de Serviço de Análises de Rebanhos Leiteiros (Sarle), órgão credenciado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa). Os dados continham 54.696 registros de gordura (Gord), proteína (Prot), lactose (Lact), sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST), contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), obtidos de amostras de leite coletadas em tanque de expansão de 1.706 propriedades, durante o período de junho de 2008 a dezembro 2011.

Os registros de Gord, Prot, Lact, ST e SNG foram determinados por espectrofotometria com radiação infravermelha, utilizando-se equipamento Bentley® 2000 (BENTLEY INSTRUMENTS, 1995a). Já a CCS e a CBT, por citometria de fluxo, utilizando equipamento Somacount® 300 (BENTLEY INSTRUMENTS, 1995b) e Bactocount® IBC (BENTLEY INSTRUMENTS, 2004), respectivamente.

Para a obtenção da consistência do banco de dados, os registros foram considerados em classes mensais. Foram excluídas do arquivo as propriedades com menos de quatro controles e com três desvios-padrão acima ou abaixo da média da característica no mês. Feitas as restrições, nas análises estatísticas foram utilizados 44.089 registros de 1.541 rebanhos, referentes a 15 municípios, localizados na região Sul do Brasil.

Com o intuito de linearizar os dados, a CCS foi transformada em escore linear de células somáticas $ECS = [\log_2(CCS/100)] + 3$ (SHOOK, 1993), e a CBT foi transformada pelo logaritmo natural da CBT normal (log da CBT).

Para diagnosticar a situação e a evolução anual da contagem CCS e CBT, os registros foram organizados em classes anuais; e as tabelas de frequências foram confeccionadas com o procedimento de frequências (PROC FREQ). Para atestar a normalidade residual e a homocedasticidade das variáveis dependentes (ECS e log da CBT), foram utilizados os testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente. Posteriormente, foi realizada análise de variância pelo procedimento de modelos lineares gerais (PROC GLM), em delineamento inteiramente casualizado, e, através do comando Least Squares Means (LSMEANS), as médias anuais da ECS e log da CBT foram ajustadas e comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Para avaliar o efeito dos indicadores higiênico-sanitários (CCS e CBT) sobre os parâmetros de qualidade do leite, os dados de CCS foram divididos em sete classes, estabelecidas de acordo com seus valores fisiológicos e regulatórios (BRASIL, 2002, 2011b; PHILPOT; NICKERSON, 2002), conforme segue: 1) $CCS \leq 200$ mil células por mililitro; 2) $200 \text{ mil} < CCS \leq 400$ mil células por mililitro; 3) $400 \text{ mil} < CCS \leq 500$ mil células por mililitro; 4) $500 \text{ mil} < CCS \leq 600$ mil células por mililitro; 5) $600 \text{ mil} < CCS \leq 750$ mil células por mililitro; 6) $750 \text{ mil} < CCS \leq 1$ milhão de células por mililitro; e 7) $CCS > 1$ milhão de células por mililitro. Da mesma maneira, os dados de CBT também foram divididos em sete classes, estabelecidas de acordo com seus valores regulatórios (BRASIL, 2002, 2011b; PAYMENT..., 2006). As classes avaliadas foram: 1) $CBT \leq 50$ mil UFC por mililitro; 2) $50 \text{ mil} < CBT \leq 100$ mil UFC por mililitro; 3) $100 \text{ mil} < CBT \leq 500$ mil UFC por mililitro; 4) $500 \text{ mil} < CBT \leq 600$ mil UFC por mililitro; 5) $600 \text{ mil} < CBT \leq 750$ mil UFC por mililitro; 6) $750 \text{ mil} < CBT \leq 1$ milhão de UFC por mililitro; e 7) $CBT > 1$ milhão de UFC por mililitro.

As variáveis dependentes (Gord, Prot, Lact, minerais, SNG e ST), para ambos os experimentos, e o log da CBT ou ECS, para os experimentos que avaliaram, respectivamente, os efeitos da CCS e CBT sobre os parâmetros de qualidade do leite foram testados quanto à normalidade residual, pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, e quanto à homocedasticidade, pelo teste de Levene. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância univariada pelo procedimento de modelos lineares gerais (PROC GLM) em delineamento inteiramente casualizado. Em seguida, as médias foram ajustadas pelo método dos quadrados mínimos ordinários, com o comando Least Squares Means (LSMEANS), e comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Além disso, foi feita, nesta ordem, a análise de correlação linear simples do ECS e do log da CBT com as variáveis Gord, Prot, Lact, minerais, SNG e ST, e do log da CBT ou ECS.

Para reduzir a dimensionalidade do conjunto original de variáveis com menor perda de informação possível, procedeu-se à análise de variância multivariada pelo procedimento GLM e pelo comando Manova. As variáveis empregadas na análise multivariada foram Gord, Prot, Lact e minerais, para ambas as descrições científicas; e log da CBT ou ECS para aquela referente ao efeito da CCS e CBT, respectivamente, sobre parâmetros de qualidade do leite. As demais variáveis foram eliminadas do modelo em razão das altas correlações entre elas, formando matrizes de dispersão singulares e causando problemas de multicolinearidade ou dependência linear entre as variáveis. Na análise multivariada para testar a hipótese de que os vetores de médias dos tratamentos (classes de CCS ou CBT) fossem nulos, foi realizado o teste de Wilks.

Em seguida, foi efetuada a análise de componentes principais (ACP) – *principal component analysis* – PCA) – para a ordenação das classes de CCS e CBT, sendo uma técnica de análise multivariada, que permite o agrupamento de acordo com a similaridade, mediante o exame visual das dispersões gráficas. Para garantir uma ótima interpretação dos resultados, foi feita a padronização dos dados de forma que apresentassem média 0 e variância igual a 1, ou seja, com base na matriz de correlação. Todavia, conforme inspeção gráfica visual, não se pôde concluir sobre o número ideal de grupos entre tratamentos.

Dessa forma, procedeu-se à análise de agrupamento (*cluster analysis*) utilizando-se o algoritmo hierárquico aglomerativo de Ward como método de agrupamento, e a distância euclidiana quadrática como medida de dissimilaridade, e, com o auxílio estatístico do coeficiente de correlação cofenética (CCC), pseudo-F e pseudo- t^2 , foi determinado o número ideal de grupos entre tratamentos.

A análise de componentes principais foi executada com o procedimento Princomp, enquanto a análise de agrupamento, com o procedimento *cluster*.

As análises estatísticas foram executadas no aplicativo SAS® System for Windows™ versão 9.0 (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 2002).

Na avaliação da situação da contagem de células somáticas (CCS) e na contagem bacteriana total (CBT), no período de 2008 a 2011, observou-se a proporção de 49,50% (Tabela 1) das amostras analisadas com CCS acima de 600 mil células por mililitro e 73,65% (Tabela 2) de CBT superior a 600 mil UFC por mililitro, estando em desacordo com a Instrução

Tabela 1. Porcentagem de amostras em concordância com os parâmetros de contagem de células somáticas do leite cru refrigerado, propostos pela Instrução Normativa nº 51 (IN 51) e pela Instrução Normativa nº 62 (IN 62), e médias ajustadas do escore linear de células somáticas com os respectivos erros-padrão da média (entre parênteses), conforme os anos de coleta.

Ano	Contagem de células somáticas (CCS)					Média (ECS)	Valor de P
	Porcentagem de amostras em concordância com a Instrução Normativa (IN)						
	IN 5 ⁽¹⁾	IN 62 ⁽²⁾	IN 62 ⁽³⁾	IN 62 ⁽⁴⁾			
2008	70,51	58,49	48,42	36,19	15,21c (0,013)	< 0,0001	
2009	62,65	32,21	41,23	30,44	15,41b (0,010)	< 0,0001	
2010	57,00	45,05	35,69	25,46	15,58a (0,010)	< 0,0001	
2011	64,91	51,83	41,41	30,52	15,42b (0,010)	< 0,0001	
Geral	62,92	50,50	40,85	29,96	15,43	-	

⁽¹⁾ Instrução Normativa nº 51 (CCS ≤ 750 mil células por mililitro). ⁽²⁾ Instrução Normativa nº 62, de 1º/1/2012 a 30/6/2014 (CCS ≤ 600 mil células por mililitro). ⁽³⁾ Instrução Normativa nº 62, de 30/6/2014 a 30/6/2016 (CCS ≤ 500 mil células por mililitro). ⁽⁴⁾ Instrução Normativa nº 62, a partir de 30/6/2016 (CCS ≤ 400 mil células por mililitro).

ECS = Escore linear de células somáticas. Valor de P = Valor probabilístico. Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: ⁽¹⁾ ⁽²⁾ ⁽³⁾ ⁽⁴⁾ Brasil (2002, 2011b) e ⁽⁵⁾ Shook (1993).

Normativa nº 62 (IN 62), de 30 de junho de 2014 a 30 de junho de 2016, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) (BRASIL, 2011b).

De acordo com as atualizações da norma nacional, observa-se, porém, que 40,85% (Tabela 1) estariam em conformidade com o limite de CCS (500 mil células por mililitro) e 23,01% (Tabela 2) com o parâmetro de CBT (300 mil UFC por mililitro), propostos para 30 de junho de 2014 até 30 de junho de 2016, e somente 29,96% (Tabela 1), para CCS, e 5,89% (Tabela 2), para CBT, com a última estratificação da IN 62, que entrará em vigor a partir de 30 de julho de 2016, quando os parâmetros brasileiros alcançariam os limites propostos por países de destaque na cadeia láctea mundial, como os países-membros da União Europeia, a Nova Zelândia e a Austrália, que adotam o extremo de 400 mil células por mililitro referentes a CCS, e 100 mil UFC por mililitro relativos a CBT (PAYMENT..., 2006).

Além disso, é importante destacar que foi encontrada a frequência de 37,08% de amostras de CCS (Tabela 1) e 69,39% de amostras de CBT (Tabela 2), acima, então, do limite

Tabela 2. Porcentagem de amostras em concordância com os parâmetros de contagem bacteriana total (CBT) do leite cru refrigerado, propostos pela Instrução Normativa nº 51 (IN 51) e pela Instrução Normativa nº 62 (IN 62), e médias ajustadas do logaritmo natural da CBT normal com os respectivos erros-padrão da média (entre parênteses), conforme os anos de coleta.

Ano	Contagem bacteriana total (CBT)				Média (log da CBT)	Valor de P
	Porcentagem de amostras em concordância com a Instrução Normativa (IN)					
	IN 51 ⁽¹⁾	IN 62 ⁽²⁾	IN 62 ⁽³⁾	IN 62 ⁽⁴⁾		
2008	23,99	20,03	17,30	3,67	14,41a (0,017)	< 0,0001
2009	29,41	25,44	22,26	5,06	14,18b (0,013)	< 0,0001
2010	30,37	26,35	23,16	6,10	14,13b (0,013)	< 0,0001
2011	35,85	30,88	26,89	7,76	13,96c (0,013)	< 0,0001
Geral	30,61	26,35	23,01	5,89	14,14	-

⁽¹⁾ Instrução Normativa nº 51 (CBT ≤ 750 mil UFC por mililitro). ⁽²⁾ Instrução Normativa nº 62, de 1º/1/2012 a 30/6/2014 (CBT ≤ 600 mil UFC por mililitro). ⁽³⁾ Instrução Normativa nº 62, de 30/6/2014 a 30/6/2016 (CBT ≤ 300 mil UFC por mililitro). ⁽⁴⁾ Instrução Normativa nº 62, a partir de 30/6/2016 (CBT ≤ 100 mil UFC por mililitro).

Valor de P = Valor probabilístico. Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: ⁽¹⁾ ⁽²⁾ ⁽³⁾ ⁽⁴⁾ Brasil (2002, 2011b).

proposto pela extinta Instrução Normativa nº 51 (IN 51), que era de 750 mil células por mililitro e de 750 mil UFC por mililitro, respectivamente.

Ao analisar a evolução anual dos indicadores higiênico-sanitários do leite cru refrigerado, observa-se, na Tabela 1, que, para a CCS, ocorre um decréscimo de qualidade ($P < 0,05$) entre 2008 e 2010, e melhoria significativa ($P < 0,05$) no ano de 2011, enquanto, para CBT, há uma elevação de qualidade ($P < 0,05$) de 2008 a 2009, de estagnação ($P > 0,05$) no ano de 2010, e novamente de melhoria significativa ($P < 0,05$) nesse parâmetro, no ano de 2011 (Tabela 2). Entretanto, como fica evidenciado nas frequências obtidas nas Tabelas 1 e 2, com essa evolução, somente 30,52% (para CCS) e 5,89% (para CBT) do leite produzido em 2011 atingiriam padrões mundiais de qualidade, de 400 mil células por mililitro para CCS, e de 100 mil UFC por mililitro para CBT, dificultando, dessa maneira, uma maior inserção dos produtos lácteos brasileiros em países com mercados mais exigentes, como é o caso dos países-membro da União Europeia.

Considerando que um dos maiores entraves ao aumento das exportações brasileiras de derivados lácteos está relacionado a embargos higiênico-sanitários, como a qualidade microbiológica do leite, verifica-se a necessidade, em âmbito industrial, de revisão dos componentes do sistema de pagamento por qualidade da CCS e da CBT, além, para o produtor, da urgência de aumento de ações de extensão, com a finalidade de elevar o grau de conhecimento e conscientização, visando a uma melhoria na qualidade do leite.

Dessa maneira, para o produtor, um dos aspectos mais importantes para que sejam obtidas melhorias nas frequências de CCS encontradas neste estudo (Tabela 1) é a necessidade de proceder a um monitoramento periódico e contínuo da CCS de vacas individuais. Esse monitoramento permitiria identificar os animais responsáveis pela alta CCS do tanque de expansão e, com base nos resultados alcançados, seria possível direcionar, com certa precisão, as ações por parte dos produtores, como a realização de culturas microbiológicas do leite, para identificar os patógenos causadores da mastite, e a definição de estratégias de tratamento, como secagem antecipada de vacas em condições avançadas de lactação e que apresentem altas CCS durante vários meses consecutivos. Preconiza-se, então, o tratamento de vaca seca, pois é significativamente mais eficaz para o controle da mastite e dos patógenos associados à mastite contagiosa do que o tratamento durante a lactação, exceto em condições bastante específicas, como elevada prevalência de *Streptococcus agalactiae* (SANTOS; FONSECA, 2007).

Da mesma maneira, ainda no âmbito de interesse do produtor, para se obterem melhorias nas frequências de CBT encontradas neste estudo (Tabela 2), é preciso tomar certos cuidados para prevenir a contaminação do leite pela microbiota residente no exterior do úbere. Segundo Winch e Thaler Neto (2009), a preparação do úbere antes da ordenha afeta os resultados da CBT. Esses autores observaram melhores resultados para os produtores que afirmaram fazer pré-imersão das tetas em desinfetantes ($P < 0,01$), técnica que, de acordo com Santos e Fonseca (2007), permite controlar consideravelmente a contaminação do leite.

A mastite também influencia a elevação da CBT, principalmente quando causada por *Streptococcus agalactiae* ou em casos clínicos provocados por *Escherichia coli* ou *Streptococcus uberis* (SANTOS; FONSECA, 2007). Porém, é importante ressaltar que, além dos efeitos positivos sobre a contaminação bacteriana do leite, os procedimentos de preparação do úbere antes da ordenha têm efeito importante sobre a ocorrência de novas infecções intramamárias, já que o risco da infecção está diretamente associado com a intensidade do efetivo microbiano da extremidade do teto. Além disso, são necessários cuidados com a higiene e o treinamento do ordenhador, e também com a água que, sendo

intensamente utilizada nas atividades de ordenha, também pode constituir expressiva fonte de bactérias contaminantes do leite.

Tendo em vista os efeitos prejudiciais à qualidade da matéria-prima e, conseqüentemente, aos derivados lácteos, na indústria podem ser empregados sistemas de bonificação e penalização que levem em consideração a CCS e a CBT, pois incentivaríamos o produtor a investir em cuidados referentes à melhoria desses indicadores higiênico-sanitários de qualidade. Uma das maiores dificuldades está, porém, em estipular os limites para a bonificação e a penalização. Para isso, seria necessário um maior conhecimento sobre os efeitos da CCS e da CBT sobre parâmetros de qualidade do leite, que, por sua vez, possuem relação direta com o rendimento industrial de seus derivados.

Tabela 3. Médias ajustadas dos teores de gordura (Gord), proteína (Prot), lactose (Lact), minerais (Min), sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST) e do logaritmo natural da contagem bacteriana total (CBT), com os respectivos erros-padrão da média (entre parênteses), para distintas classes de contagem de células somáticas (CCS), com as respectivas frequências (F).

CCS (x 10 ³ células por mL)	F (%)	Gord (%)	Prot (%)	Lact (%)	Min (%)	SNG (%)	ST (%)	CBT (log UFC por mL)
CCS ≤ 200	9,5	3,42d (0,005)	3,075bc (0,003)	4,43a (0,002)	0,958b (0,001)	8,47a (0,005)	11,89b (0,009)	14,41a (0,022)
200 < CCS ≤ 400	20,4	3,57c (0,003)	3,072c (0,002)	4,39b (0,002)	0,962b (0,001)	8,42b (0,003)	11,99a (0,006)	14,18b (0,015)
400 < CCS ≤ 500	10,9	3,59bc (0,005)	3,077bc (0,003)	4,36c (0,002)	0,963b (0,001)	8,40bc (0,005)	12,00a (0,008)	13,98c (0,021)
500 < CCS ≤ 600	9,7	3,60bc (0,005)	3,083bc (0,003)	4,35cd (0,002)	0,964b (0,001)	8,40bc (0,005)	12,00a (0,008)	13,96c (0,022)
600 < CCS ≤ 750	12,4	3,60bc (0,005)	3,082bc (0,003)	4,34d (0,002)	0,966ab (0,001)	8,38c (0,004)	11,98a (0,007)	13,93c (0,019)
750 < CCS ≤ 1.000	15,1	3,60b (0,004)	3,091ab (0,002)	4,32e (0,002)	0,966b (0,001)	8,38c (0,004)	11,97a (0,007)	13,98c (0,018)
CCS > 1.000	22,0	3,63a (0,003)	3,105a (0,002)	4,27f (0,001)	0,973a (0,001)	8,35d (0,003)	11,97a (0,006)	14,39a (0,014)
Média	-	3,58	3,08	4,34	0,97	8,39	11,98	14,14
Valor de P ⁽¹⁾	-	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
CV ⁽²⁾	-	10,36	6,86	3,54	10,12	3,95	4,78	10,19

⁽¹⁾ Valor probabilístico. ⁽²⁾ Coeficiente de variação.

Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem (P < 0,05) entre si pelo teste de Tukey.

Nesse contexto, os teores de gordura aumentaram ($P < 0,05$) com a elevação da CCS (Tabela 3) e da CBT do leite (Tabela 4), corroborando os resultados apresentados por Pereira et al. (1999), Machado et al. (2000) e Noro et al. (2006) diante da elevação da CCS.

O aumento nos teores de gordura não deve, porém, ser considerado favorável à qualidade do leite, pois os resultados obtidos para a CCS (Tabela 3) e para a CBT (Tabela 4) evidenciam a presença de um processo inflamatório da glândula mamária, o que, segundo Zadoks et al. (2004), contribui para o aumento desses dois indicadores higiênico-sanitários. Dessa maneira, a elevação nos valores de gordura possivelmente deve ser resultante da

Tabela 4. Médias ajustadas dos teores de gordura (Gord), proteína (Prot), lactose (Lact), minerais (Min), sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST) e do escore linear da contagem de células somáticas (ECS), com os respectivos erros-padrão da média (entre parênteses), nas distintas classes de contagem bacteriana total (CBT), com as respectivas frequências (F).

CBT (x 1.000 UFC por mL)	F (%)	Gord (%)	Prot (%)	Lact (%)	Min (%)	SNG (%)	ST (%)	ECS ⁽³⁾ (células por mL)
CBT ≤ 50	2,4	3,47d (0,012)	3,08b (0,007)	4,42a (0,005)	0,956b (0,003)	8,45ab (0,010)	11,92b (0,018)	15,22c (0,035)
50 < CBT ≤ 100	3,5	3,50d (0,009)	3,09b (0,005)	4,41a (0,004)	0,964ab (0,002)	8,46a (0,008)	11,96ab (0,015)	15,33b (0,029)
100 < CBT ≤ 500	17,1	3,53c (0,004)	3,09b (0,002)	4,38b (0,002)	0,964ab (0,001)	8,44abc (0,004)	11,97ab (0,009)	15,42ab (0,013)
500 < CBT ≤ 600	3,3	3,57b (0,010)	3,11a (0,004)	4,37c (0,004)	0,965a (0,002)	8,44abc (0,009)	12,01a (0,015)	15,45a (0,030)
600 < CBT ≤ 750	4,3	3,55bc (0,009)	3,09ab (0,005)	4,36cd (0,004)	0,967a (0,002)	8,42bc (0,008)	11,97a (0,013)	15,46a (0,026)
750 < CBT ≤ 1.000	6,1	3,57bc (0,007)	3,10ab (0,004)	4,35d (0,003)	0,968a (0,002)	8,42c (0,006)	11,99a (0,011)	15,46a (0,022)
CBT > 1.000	63,3	3,61a (0,002)	3,08b (0,001)	4,32e (0,001)	0,966a (0,001)	8,37d (0,002)	11,98a (0,003)	15,44a (0,007)
Média	-	3,58	3,09	4,34	0,97	8,39	11,98	15,43
P-value ⁽¹⁾	-	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
CV ⁽²⁾	-	10,42	6,87	3,66	10,13	3,95	4,79	7,37

⁽¹⁾Valor probabilístico. ⁽²⁾Coefficiente de variação. ⁽³⁾Escore linear da contagem de células somáticas.

Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: ⁽³⁾Shook (1993).

redução da produção de leite, que é mais acentuada do que a redução da síntese desse constituinte, ocorrendo concentração relativa em seus valores (MACHADO et al., 2000).

Com a elevação dos níveis de CBT, houve aumento nos valores da CCS (Tabela 4), o que, segundo Santos e Fonseca (2007), pode ser atribuído à influência da mastite na elevação da contagem bacteriana total do leite, principalmente quando causada por *Streptococcus agalactiae* ou quando ocorrem casos clínicos provocados por *Escherichia coli* ou *Streptococcus uberis*. Entretanto, como o leite de vacas vitimadas por mastite clínica é, na maioria das vezes, descartado, ele não influenciaria a CBT no tanque de expansão. Assim, o aumento da CBT é devido provavelmente à elevação da incidência de mastite subclínica por *Streptococcus agalactiae*, que, por sua vez, pode estar relacionada com o aumento concomitante da CCS do leite.

Essas suposições corroboram-se no comportamento da CBT diante da elevação dos níveis de CCS (Tabela 3), em que a maior frequência de amostras encontradas neste estudo encontra-se no intervalo de maior CCS ($CCS \leq 1$ milhão de células por mililitro), que, por sua vez, possui um dos dois maiores valores de CBT encontrados. Isso se deve, provavelmente, ao tipo de patógeno presente – os patógenos classificados como primários, como o *Streptococcus agalactiae*, são responsáveis pela elevação da CBT desse intervalo.

Reforçando os resultados deste estudo, Souza et al. (2009), apesar de não proporem a diferenciação dos agentes causadores de mastite subclínica nas amostras analisadas, encontraram uma média de 1.520.000 células por mililitro para o *Streptococcus agalactiae* (patógeno primário), e, entre aqueles classificados como secundários, valores de CCS menores ou iguais a 166 mil células por mililitro e 205 mil células por mililitro em mais de 50% das amostras, o que justifica os altos valores de CBT também encontrados no primeiro intervalo ($CCS \leq 200$ mil células por mililitro) (Tabela 3).

Em concordância, Lopes Júnior et al. (2012), em estudo realizado em 638 quartos mamários, com o objetivo de estabelecer a relação entre a contagem de células somáticas (CCS) e a liberação de bactérias de acordo com os patógenos da mastite, mostraram que a correlação de Pearson e Spearman entre CCS e CBT foi maior que 0,60 para todos os patógenos, e o coeficiente angular das regressões lineares mostrou diferentes aumentos da CBT com o mesmo aumento da CCS, sendo que o maior coeficiente angular encontrado foi para o *Streptococcus agalactiae* (0,542).

Cabe, porém, ressaltar que, em animais com mastite, ocorre ação enzimática de lipases de origem leucocitária ou do próprio epitélio secretor da glândula mamária. Essas enzimas atuam sobre a membrana dos glóbulos de gordura, expondo os triglicerídeos à

ação de outras lipases (DUNCAN et al., 1991), como as fosfolipases de origem bacteriana, principalmente a fosfolipase C e a lecitinase, das bactérias psicotróficas, que são microrganismos capazes de desenvolverem-se em temperaturas abaixo de 7 °C, sendo os principais agentes de deterioração do leite cru refrigerado (MARTINS et al., 2005).

Esses processos enzimáticos podem contribuir com a hidrólise dos triglicerídeos (CHEN et al., 2003), originando ácidos graxos livres (AGL), que, estando acima de limites de tolerância, contribuem para o efeito negativo sobre o sabor, conhecido como “rancidez” ou “rancidez hidrolítica” (HANUŠ et al., 2008). Portanto, apesar de ter ocorrido um aumento nas concentrações de gordura, com a elevação dos níveis de CCS (Tabela 3) e CBT (Tabela 4), poderiam estar acontecendo alterações qualitativas na gordura do leite.

Os teores de proteína aumentaram ($P < 0,05$) com a elevação dos valores de CCS (Tabela 3) e CBT (Tabela 4) do leite. Rajčević et al. (2003), Noro et al. (2006) e Najafi et al. (2009) também perceberam esse mesmo comportamento, decorrente do aumento da CCS, enquanto Bueno et al. (2008), em virtude da elevação da CBT. O aumento na concentração de proteína com o incremento da CCS pode ser decorrente não só da proteína celular, mas também da alteração da permeabilidade dos capilares sanguíneos, que permitem influxo de proteínas séricas (albumina sérica e imunoglobulinas) para o interior da glândula mamária, a fim de combater a infecção (PEREIRA et al., 1999). Isso se deve, segundo Paape et al. (1995), possivelmente à perda de integridade do epitélio mamário, em virtude da ação de toxinas bacterianas durante a mastite, o que fica caracterizado pelo aumento das concentrações de proteína diante da elevação da CBT do leite (Tabela 4).

Paralelamente, segundo Harmon (1994), pode ocorrer expressiva redução da fração de caseína, pela sua degradação por proteases bacterianas e leucocitárias, e pela diminuição de sua síntese, em decorrência da inflamação da glândula mamária (mastite). No leite com elevada CCS, ocorre aumento da atividade enzimática, pela maior ativação do plasminogênio em plasmina, bem como pela ação da catepsina-G, que é uma das principais proteases liberadas pelos polimorfonucleares (CONSIDINE et al., 2002). Além disso, com a elevação da CBT, os microrganismos psicotróficos presentes podem produzir proteases extracelulares, que contribuem de maneira significativa para a degradação de proteínas (VIDAL-MARTINS et al., 2005).

Essas proteases, tanto de origem bacteriana quanto de proveniência leucocitária, afetam predominantemente a κ -caseína, pois essa fração proteica está situada na porção externa da camada de caseína, enquanto a β -caseína e a α -caseína situam-se nas camadas mais internas, sendo, então, menos suscetíveis à ação daquelas (DATTA; DEETH, 2003). Esse

processo de hidrólise provoca desestabilização da micela caseínica, levando à coagulação do leite e à alteração da sua composição proteica, resultando, conseqüentemente, no acúmulo de pequenos peptídeos, os quais são responsáveis pelo desenvolvimento de sabor amargo e adstringente (MA et al., 2000).

Diante do exposto, deve-se considerar a possível limitação do método analítico, que considera a concentração total de gordura e proteína, não discriminando, porém, os valores de suas frações específicas. Dessa maneira, apesar de ter sido encontrado um aumento na concentração total dessas variáveis, poderiam estar ocorrendo alterações qualitativas nesses constituintes. Portanto, a determinação das concentrações de caseína e AGL pode elucidar os questionamentos quanto às metodologias utilizadas, o que ocasionaria restrições a sistemas de pagamento com base somente na composição centesimal do leite, sem considerar a CBT e a CCS.

Os teores de lactose diminuíram ($P < 0,05$) com o incremento da CCS (Tabela 3) e da CBT (Tabela 4). De forma semelhante, Rajčević et al. (2003) e Bueno et al. (2005) encontraram redução na concentração da lactose com a elevação dos valores de CCS do leite, enquanto Bueno et al. (2008), com o aumento da CBT.

A redução no teor de lactose do leite, à medida que se elevaram os valores de CCS, pode ser resultante de distúrbios da glândula mamária, ocorrendo menor biossíntese desse constituinte, o que afeta significativamente a quantidade de leite produzido, em decorrência do papel central da lactose, como agente regulador osmótico do volume do leite (MEPHAM, 1993), o que poderia estar cooperando com a concentração relativa dos teores de gordura, proteína e minerais, com a elevação da CCS e da CBT do leite. Ademais, a mitigação dos teores de lactose pode ser resultante do aumento da permeabilidade da membrana que separa o leite do sangue, ocasionando perda de lactose para a corrente sanguínea (AULDIST et al., 1995; HARMON, 1994), e também pelo aumento da CBT (Tabela 4), que, por sua vez, pode agir diretamente sobre esse carboidrato, utilizando-o como principal substrato (HARMON, 1994). De maneira geral, pode-se dizer, então, que os microrganismos mesófilos predominam em situações em que há falta de condições básicas de higiene e deficiências relacionadas à refrigeração do leite. Em tais circunstâncias, certas bactérias, como *Lactobacillus*, *Streptococos* e *Lactococos*, e algumas enterobactérias atuam intensamente através da fermentação da lactose, produzindo ácido láctico, e gerando, conseqüentemente, acidez do leite, que é um dos problemas mais frequentemente detectados na plataforma. A acidez do leite pode ocasionar a coagulação da caseína e, assim, limitar o seu uso no processamento de seus derivados (SANTOS; FONSECA, 2007).

Os teores de minerais do leite aumentaram ($P < 0,05$) à medida que se elevaram os valores de CCS (Tabela 3) e CBT (Tabela 4). De acordo com Shamay et al. (2003), embora o potássio e o cálcio diminuam em leites com alta CCS, o teor de minerais eleva-se em consequência do aumento no teor de sódio e cloro através do epitélio lesado, uma vez que as concentrações de sódio e cloro no sangue são normalmente maiores do que as do leite.

Ademais, considerando que a maioria do cálcio do leite estaria incorporada às micelas caseínicas (NEVILLE; WATERS, 1983), estaria ocorrendo uma diminuição das concentrações desse mineral com o aumento da CCS e da CBT, pois, em leites com elevada CCS, há diminuição da capacidade de síntese e secreção de caseína, em decorrência do dano causado no epitélio secretor, por toxinas bacterianas (OLIVER; CALVINHO, 1995), a qual pode ter ligação direta com o alto efetivo microbiano do leite.

Dessa maneira, o aumento na concentração de minerais com o incremento nos valores de CCS e CBT não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois haveria substituição de elementos minerais mais nobres (Ca, K) em detrimento de minerais de menor importância nutricional (Na, Cl), além de proporcionar um desequilíbrio salino do leite, o que poderia contribuir para a diminuição da estabilidade das caseínas.

A diminuição ($P < 0,05$) nos sólidos não gordurosos e o aumento ($P < 0,05$) nos sólidos totais à medida que se elevou a CCS (Tabela 3) e a CBT (Tabela 4) deve-se, provavelmente, ao fato de o primeiro estar associado com o comportamento obtido para a lactose, e o segundo com o comportamento encontrado para a gordura do leite.

Os teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais apresentaram correlação positiva, ao passo que a lactose e os sólidos não gordurosos expressaram correlação negativa com a CCS (Tabela 5) e a CBT (Tabela 6). Não há, porém, correlação significativa entre CCS e CBT (Tabelas 5 e 6). Isso apenas reforça os diferentes comportamentos do úbere diante dos agentes causadores da mastite subclínica, ou microbiota residente. Assim, a inflamação da glândula mamária causada por esses patógenos resulta em grandes variações na composição, na CCS e na CBT do leite (HARMON, 1994).

As correlações foram, entretanto, de baixa magnitude e sem significado prático. Estimativas de correlações semelhantes de gordura e CCS foram reportadas por Bueno et al. (2005), Paura et al. (2002), Pereira et al. (1999) e Rajčević et al. (2003). Em contrapartida, correlações negativas e significativas também foram relatadas, por El-Tahawy e El-Far (2010) e Najafi et al. (2009), ou seja, a concentração de gordura no leite com elevada CCS também pode diminuir, provavelmente em virtude da ação de lipases leucocitárias e lipoproteicas (AULDIST et al., 1995; HARMON, 1994). Da mesma forma, valores de correlações negativas

e significativas entre os teores de lactose e a CCS são encontrados na literatura, como os citados por Bueno et al. (2005), El-Tahawy e El-Far (2010), Paura et al. (2002), Rajčević et al. (2003) e Silva et al. (2000), confirmando os resultados obtidos neste estudo (Tabela 5).

Tabela 5. Coeficientes de correlação (r) e coeficientes de determinação (R^2) dos teores de gordura, proteína, lactose, minerais, sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST) e logaritmo natural da contagem bacteriana total (CBT) com o escore linear de células somáticas (ECS).

Constituintes do leite	ECS (células por mL)	
	$r^{(1)}$	$R^2^{(2)}$
Gordura (%)	0,111***	0,01232
Proteína (%)	0,055***	0,00302
Lactose (%)	-0,316***	0,09986
Minerais (%)	0,048***	0,00230
SNG (%)	-0,104***	0,01082
ST (%)	0,012**	0,00014
CBT (log UFC por mL)	0,007 ^{ns}	0,00005

⁽¹⁾Coefficiente de correlação linear simples. ⁽²⁾Coefficiente de determinação.

^{ns} = Não significativo; * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$.

Tabela 6. Coeficientes de correlação (r) e coeficientes de determinação (R^2) dos teores de gordura, proteína, lactose, minerais, sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST) e escore linear de células somáticas (ECS) com o logaritmo natural da contagem bacteriana total (log da CBT).

Variável	log da CBT (log UFC por mL)	
	$r^{(2)}$	$R^2^{(3)}$
Gordura (%)	0,111***	0,01232
Proteína (%)	0,015**	0,00022
Lactose (%)	-0,198***	0,03920
Minerais (%)	0,013**	0,00016
SNG (%)	-0,102***	0,01040
ST (%)	0,014**	0,00020
ECS (células por mL) ⁽¹⁾	0,006 ^{ns}	0,00004

⁽¹⁾Escore linear da contagem de células somáticas (SHOOK, 1993). ⁽²⁾Coefficiente de correlação linear simples.

⁽³⁾Coefficiente de determinação.

^{ns} = Não significativo; * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$.

Além disso, relatos semelhantes da correlação entre proteína e CBT foram reportados por Bueno et al. (2008); entretanto, esses autores relataram correlação negativa entre gordura e CBT, o que refletiu na ausência de significância na correlação dessa variável com os sólidos totais. Neste estudo, observa-se correlação positiva da gordura com a CBT, o que, por sua vez, repercutiu na correlação positiva observada para os sólidos totais para essa variável (Tabela 6), reforçando que, como dito anteriormente, o comportamento dos sólidos totais em relação à elevação dos parâmetros de qualidade higiênico-sanitários do leite é reflexo da influência da CCS e da CBT sobre a concentração de gordura.

Observando-se os coeficientes de determinação (R^2), constata-se que a variação da CCS respondeu por apenas 1,23% da variação do teor de gordura, 0,30% do teor de proteína, 9,99% do teor de lactose, 0,23% do teor de minerais, 1,08% do teor de SNG e 0,014% do teor de ST. Já a variação da CBT respondeu por apenas 1,23% da variação do teor de gordura, 0,02% do teor de proteína, 3,92% do teor de lactose, 0,02% do teor de minerais, 1,04% do teor de SNG e 0,02% do teor de ST. Nesse contexto, os efeitos observados na composição centesimal do leite podem ser explicados em maior proporção pela variação da CCS em comparação com a CBT.

Pelas análises detalhadas expostas nas Tabelas 5 e 6, constata-se que, apesar do baixo coeficiente de determinação encontrado, pode-se inferir que a lactose é o componente do leite que sofre maior variação em decorrência da elevação da CCS e da CBT. Resultados semelhantes foram encontrados por El-Tahawy e El-Far (2010), os quais verificaram que 11,83% da volubilidade da lactose é de responsabilidade da CCS. Entretanto, Bueno et al. (2005) e Rajčević et al. (2003) observaram que, respectivamente, 17,64% e 17,89% da redução da lactose se devem à elevação da CCS, reforçando os resultados de Klinkon et al. (2002), que mostraram que o conteúdo de lactose no leite, juntamente com a CCS, poderia ser de grande auxílio no controle da saúde da glândula mamária.

Resultados semelhantes da correlação entre lactose e CBT foram reportados por Bueno et al. (2008); entretanto, apesar da facilidade de degradação desse constituinte (SANTOS; FONSECA, 2007) e da elevada contaminação de algumas amostras (Tabela 6), os percentuais de redução podem ser considerados baixos. Isso se deve, segundo Bueno et al. (2008), ao fato de o leite estar armazenado em condições de refrigeração, o que diminuiu a velocidade de crescimento bacteriano e, conseqüentemente, de utilização dos nutrientes.

Na análise de variância multivariada, houve diferença ($P < 0,05$) entre os vetores de médias para as classes de CCS e de CBT, tanto pelo teste Wilks quanto pelos testes Pillai, Hotelling-Lawley e Roy. Os três primeiros autovalores foram significativos pelo teste da

razão de verossimilhança, sendo que o primeiro componente principal explicou 70,65% para CCS e 75,60% para CBT, enquanto o segundo, 25,88% para CCS e 18,21% para CBT, ou seja, os dois primeiros componentes principais explicaram 96,53% e 93,81% da variação total dos dados em relação às classes de CCS (Figura 1) e CBT (Figura 2), respectivamente.

A análise dos componentes principais permite visualizar a proximidade/similaridade ou a distância/dissimilaridade entre as diferentes classes de CCS (Figura 1) e CBT (Figura 2).

Com base nessa análise, dois novos conjuntos de dados foram gerados: os *scores*, que trazem informações sobre os tratamentos, e os *loadings*, que mostram as correlações entre as variáveis e os componentes principais, sendo que a representação desses dois conjuntos de dados foi feita pelo gráficos *biplot* (Figuras 1 e 2).

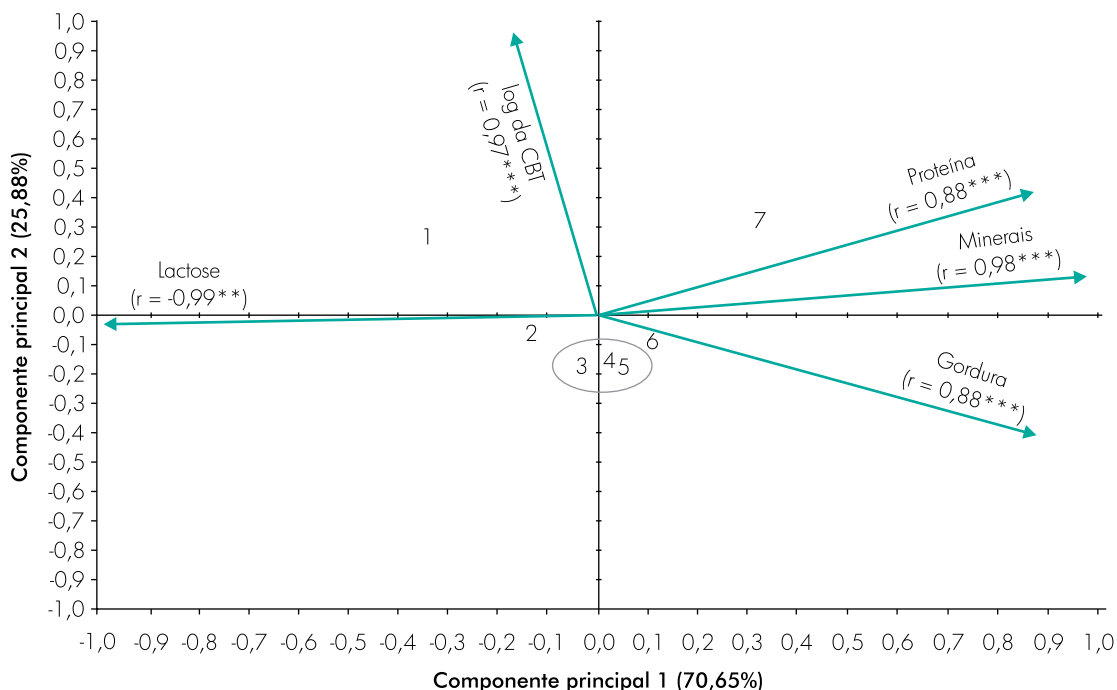


Figura 1. Projeção bidimensional das diferentes classes de CCS (1: CCS \leq 200.000; 2: 200.000 < CCS \leq 400.000; 3: 400.000 < CCS \leq 500.000; 4: 500.000 < CCS \leq 600.000; 5: 600.000 < CCS \leq 750.000; 6: 750.000 < CCS \leq 1.000.000; 7: CCS > 1.000.000 células por mililitro) e as variáveis gordura, proteína, lactose, minerais e logaritmo natural da contagem bacteriana total (log CBT), com os respectivos coeficientes de correlação e nível de significância (entre parênteses), em relação aos dois primeiros componentes principais.

ns = Não significativo; * = P < 0,05; ** = P < 0,01; *** = P < 0,001.

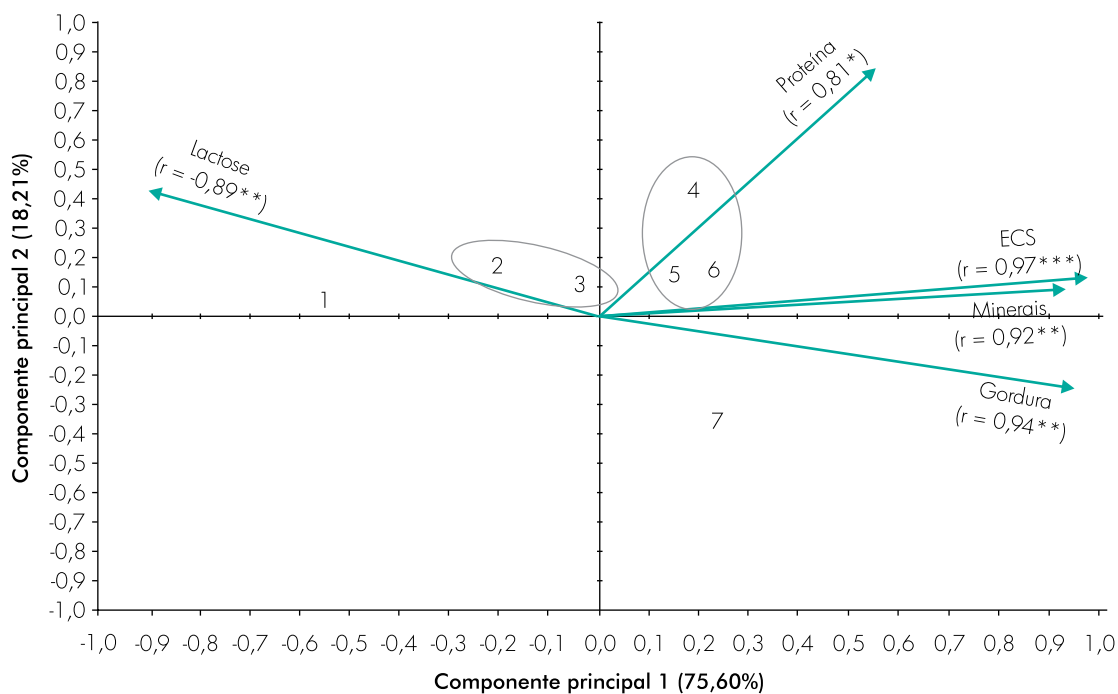


Figura 2. Projeção bidimensional das diferentes classes de CBT (1: CBT \leq 50.000 UFC por mililitro; 2: 50.000 < CBT \leq 100.000 UFC por mililitro; 3: 100.000 < CBT \leq 500.000 UFC por mililitro; 4: 500.000 < CBT \leq 600.000 UFC por mililitro; 5: 600.000 < CBT \leq 750.000 UFC por mililitro; 6: 750.000 < CBT \leq 1.000.000 UFC por mililitro; e 7: CBT > 1.000.000 UFC por mililitro); e as variáveis gordura, proteína, lactose, minerais e escore linear de células somáticas (ECS = $[\log_2(\text{CCS}/100)] + 3$), com os respectivos coeficientes de correlação e nível de significância (entre parênteses), para os dois primeiros componentes.

ns = Não significativo; * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$.

Dessa maneira, as variáveis que explicaram a variabilidade em relação às classes de CCS foram: no eixo x (componente principal 1), a gordura, a proteína, os minerais e a lactose. E a variável que explicou a variabilidade no eixo y (componente principal 2) foi a contagem bacteriana total. No entanto, em relação às classes de CBT, a variabilidade do componente principal 1 foi explicada pela gordura, pelos minerais, pela lactose e pelo ECS; enquanto o componente principal 2, pela proteína.

Logo, em uma análise detalhada das correlações entre os componentes principais e as variáveis (*loadings*), pode-se inferir que, em relação às classes de CCS, o primeiro componente principal (eixo x) está associado à qualidade química, enquanto o segundo componente principal (eixo y) está associado à qualidade microbiológica do leite (Figura 1).

No entanto, no que concerne às classes de CBT, pode-se observar que somente a proteína está correlacionada com o componente principal 2, que, por sua vez, explica, em menor proporção, a variância total dos dados analisados (Figura 2). Isso se deve, provavelmente, segundo Bueno et al. (2008), à grande demanda metabólica exigida pelos microrganismos para a degradação desse componente.

Apenas pela inspeção gráfica visual não se pôde, porém, concluir sobre o número ideal de grupos entre tratamentos. Foi a análise de agrupamento (*cluster analysis*) que permitiu constatar que o número ideal de grupos formados entre os tratamentos de CCS foi cinco, dos quais um grupo englobando as classes de CCS 3, 4 e 5 (tratamentos) (Figura 1). Quanto ao CBT, agruparam-se as classes 2 e 3 (tratamentos) e as classes 4, 5 e 6 (tratamentos), totalizando quatro grupos (Figura 2). Portanto, isso significa que o leite com CCS superior a 400 mil células por mililitro até 750 mil células por mililitro, e com CBT superiores a 50 mil UFC por mililitro até 500 mil UFC por mililitro, e ainda de valores acima de 500 UFC por mililitro até 1 milhão de UFC por mililitro apresentam a mesma qualidade química e microbiológica, não se justificando a criação de extratos intermediários nessas amplitudes para a avaliação da qualidade do leite. Contudo, é importante salientar que, como discutido anteriormente, o aumento de gorduras, proteínas e minerais não deve ser indicador da boa qualidade do leite, e sim resultado de possíveis efeitos creditados à CCS e à CBT.

Os padrões legais mínimos de CCS de 750 mil células por mililitro (atual limite dos Estados Unidos da América), de 600 células por mililitro (limite brasileiro proposto para o período de 1º de julho de 2012 a 30 de junho de 2014) e de 500 células por mililitro (limite brasileiro proposto para o período de 30 de junho de 2014 a 30 de junho de 2016) (BRASIL, 2011b; PAYMENT..., 2006) não resultariam em melhorias na qualidade do leite, enquanto o limite proposto pelos países-membro da União Europeia, pela Nova Zelândia, pela Austrália e ainda pela norma brasileira a partir do dia 1º de julho de 2016 (400 mil células por mililitro) (BRASIL, 2011b; PAYMENT..., 2006), se considerado como obrigação de quem produz, acarretaria benefícios significativos de qualidade. Da mesma maneira, os valores legais mínimos de CBT de 600 UFC por mililitro (limite brasileiro proposto para o período de 1º de julho de 2012 a 30 de junho de 2014) também não ocasionariam vantagens para a qualidade do leite produzido; porém, o parâmetro proposto pelos países-membro da União Europeia, pela Nova Zelândia, pela Austrália, pelos Estados Unidos e ainda pela norma brasileira a partir de 1º de julho de 2016, de 100 UFC por mililitro (PAYMENT..., 2006), conduziria a avanços significativos desses indicadores de qualidade.

Diante do exposto, pode-se constatar que os programas de pagamento por qualidade dos países-membro da União Europeia, da Austrália e da Nova Zelândia estão mais

adequados do que os propostos pelos Estados Unidos, principalmente no que diz respeito à CCS, pois levam em consideração o limite de 400 mil células por mililitro, o que determinaria um melhoramento significativo em relação às características do leite produzido (Figura 1).

Ao mesmo tempo, na Dinamarca, o leite é remunerado considerando-se limites mais rígidos de CCS e CBT, que resultam em cinco classes distintas: classe 1: CCS menor que 200 células por mililitro e CBT menor que 30 mil UFC por mililitro; classe 2: CCS menor que 300 mil células por mililitro e CBT menor que 50 mil UFC por mililitro; classe 3: CCS menor que 400 mil células por mililitro e CBT menor que 200 mil UFC por mililitro; classe 4: CCS maior que 500 mil células por mililitro e CBT maior que 200 mil UFC por mililitro; e classe 5: CCS maior que 500 mil células por mililitro) (PAYMENT..., 2006).

Assim, sistemas de bonificação e penalização que levam em consideração limites de CCS e CBT mais rígidos – como os propostos pela Dinamarca e pela França, que, além do limite máximo de 750 mil células por mililitro e 100 mil UFC por mililitro, propostos pelos Estados Unidos, discorrem da estratificação do leite até valores de CCS inferiores a 200 mil células por mililitro e CBT de 50 mil UFC por mililitro, ou até de limites inferiores a esse – proporcionariam melhorias significativas de qualidade dessa matéria-prima e de seus derivados (Figura 1).

Evidencia-se com isso que somente o cumprimento de normas regulatórias, sem levar em consideração sistemas de bonificação e penalização, não é suficiente para promover progressos nos parâmetros de qualidade do leite. Portanto, com base nos resultados das Figuras 1 e 2, e nos programas de pagamento de outros países, sugere-se um sistema de bonificação e penalização que esteja fundamentado em cinco distintas classes de CCS e CBT, a saber: classe 1 ($CCS \leq 200$ mil células por mililitro e $CBT \leq 50$ mil UFC por mililitro); classe 2 ($200 \text{ mil} < CCS \leq 400$ mil células por mililitro e $50 \text{ mil} < CBT \leq 500$ mil UFC por mililitro); classe 3 ($400 \text{ mil} < CCS \leq 750$ mil células por mililitro e $500 \text{ mil} < CBT \leq 1$ milhão de UFC por mililitro); classe 4 ($750 \text{ mil} < CCS \leq 1$ milhão de células por mililitro e $CBT > 1$ milhão de UFC por mililitro); e classe 5 (somente para $CCS > 1$ milhão de células por mililitro). Dessa maneira, produtores que entregarem leite com valores de CCS menores ou iguais a 400 mil células por mililitro e com valores superiores a 50 mil até 500 mil UFC por mililitro (classes 1 e 2) deverão receber bonificações e, a partir desse valor (classes 3, 4 e 5), poderão sofrer penalizações gradativas.

Quanto aos segmentos do setor lácteo de produtos de base proteica e gordurosa, como o queijo e a manteiga, sugerem-se altas bonificações para o leite que apresente CCS inferior a 200 mil células por mililitro e CBT menor que 50 mil UFC por mililitro (classe 1), pois,

nesse intervalo, foram encontrados os menores efeitos da CCS e CBT sobre a composição química do leite, o que possivelmente reduziria a ação de lipases e proteases bacterianas e leucocitárias nas frações lipídicas e proteicas, aumentando, assim, o rendimento industrial e a qualidade desses derivados lácteos (Figuras 1 e 2).

Sistemas de bonificação e penalização baseados nos resultados deste estudo, além de possivelmente acarretarem melhorias significativas em curto e médio prazos, pois incentivarão o produtor a investir em cuidados, principalmente no que se refere à CCS e à CBT – como limpeza e higienização dos equipamentos de ordenha, e no controle da mastite –, possibilitarão que o leite brasileiro alcançasse padrões internacionais de qualidade. Ademais, provavelmente reduzir-se-iam sérios danos à indústria de laticínios, como:

- A coagulação e a floculação ocorridas durante o processamento térmico do leite pasteurizado e do leite em pó, em virtude da baixa estabilidade calórica (LE ROUX et al., 2003).
- Mudanças significativas na viscosidade e no sabor do iogurte (FERNANDES et al., 2007).
- Geleificação e coagulação das proteínas do leite UHT durante a estocagem, decorrentes da atividade residual de proteases bacterianas e leucocitárias resistentes ao tratamento térmico (DATTA; DEETH, 2003).
- Alterações na fabricação de queijos, como redução no rendimento industrial (OLIVEIRA et al., 2012), aumento no conteúdo de água no coágulo (MITCHELL et al., 1986), alterações negativas nas propriedades sensoriais (AULDIST et al., 1996), aumento do tempo para a formação do coágulo (KLEI et al., 1998), baixa taxa de enrijecimento do coágulo, defeitos de textura e elevada perda de sólidos no soro do queijo (BARBANO et al., 1991; KLEI et al., 1998).
- Produção de gás, de sabores e odores variados, além de alteração de cor, fatores que diminuem a vida de prateleira, o rendimento industrial e a qualidade dos derivados lácteos (GIGANTE, 2004).

Considerações finais

A qualidade do produto lácteo é uma questão crucial em toda a cadeia láctea mundial, composta por variados agentes, como produtores, indústrias de laticínios, consumidores e

comunidade científica. O leite, para ser considerado de boa qualidade, deve apresentar características sensoriais, nutricionais, físico-químicas e microbiológicas adequadas, como sabor agradável, alto valor nutritivo e reduzidas contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), bem como ausência de agentes patogênicos.

Nos últimos anos, o Brasil progrediu bastante em relação aos parâmetros higiênico-sanitários do leite, principalmente depois da implantação das normas regulatórias instauradas pela legislação nacional, no decorrer das últimas décadas. Ademais, as indústrias agregaram valor à matéria-prima, com características diferenciadas, para incentivar o produtor a investir em cuidados que resultem em melhorias na qualidade do leite e seus derivados.

Os resultados deste estudo mostram, no entanto, que a evolução anual em relação à CCS e à CBT não foi, até agora, suficiente para o Brasil atingir padrões mundiais de qualidade do leite. As melhorias só serão alcançadas por meio de ações conjuntas e coordenadas entre todos os elos da cadeia produtiva, com o intuito de incentivar a produção de um leite de melhor qualidade, para, assim, atender às normas legislativas, à crescente exigência do consumidor e à demanda competitiva do mercado lácteo. Nesse sentido, além de ações de extensão para a redução da CCS e da CBT, será preciso revisar os limites propostos para esses indicadores higiênico-sanitários em sistemas de bonificação e penalização da qualidade do leite. Para tanto, é imprescindível ampliar o conhecimento sobre a dinâmica dos parâmetros de qualidade em relação à elevação dos níveis de CCS e CBT do leite.

Teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais estão diretamente correlacionados com o aumento da CCS e da CBT, o que não é um indicador de qualidade do leite, mas resultados de possíveis efeitos de mastite, células somáticas e microbiota residente. Isso se reforça na correlação inversa obtida para lactose e, conseqüentemente, para sólidos não gordurosos, por conta da elevação desses indicadores higiênico-sanitários.

A análise de componentes principais (*principal component analysis* – PCA), seguida da análise de agrupamento (*cluster analysis*), permitiu constatar que leites com CCS superiores a 400 mil células por mililitro até 750 mil células por mililitro e/ou CBT maiores que 50 mil UFC por mililitro até 500 mil UFC por mililitro, e ainda de valores acima de 500 mil UFC por mililitro até 1 milhão UFC por mililitro não apresentam diferenças nos parâmetros de qualidade, não justificando a estratificação de intervalos nessas amplitudes de variações.

Paralelamente, observa-se que somente o cumprimento de normas regulatórias não é suficiente para melhorar a qualidade do leite. Assim, diante das evidências da deficitária qualidade higiênico-sanitária dessa matéria-prima, sugere-se a formulação de parâmetros

para sistemas de pagamento baseados em resultados de análises multivariadas de dados, considerando a bonificação e a penalização em relação à CCS e à CBT do leite.

Sistemas de bonificação e penalização baseados nos achados deste estudo permitiriam que o leite brasileiro alcançasse padrões internacionais de qualidade, os quais se refletiriam na redução dos prejuízos industriais impactantes, ocasionados pelo alto custo desses indicadores higiênico-sanitários.

Referências

- ÁLVARES, J. G. Pagamento do leite por sólidos. In: SANTOS, F. A. P.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. (Ed.). **Visão técnica e econômica da produção leiteira**. Piracicaba: Ed. FEALQ, 2005. p. 129-140.
- ANDRADE, U. V. C.; HARTMAN, W.; MASSON, M. L. Isolamento microbiológico, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total em amostras de leite. **Ars Veterinaria**, v. 25, n. 3, p. 129-135, 2009.
- AULDIST, M. J.; COATS, S. J.; SUTHERLAND, B. J.; HARDHAM, J. F.; MCDOWELL, G. H. Effect of somatic cell count and stage of lactation on the quality and storage life of ultra high temperature milk. **Journal of Dairy Research**, v. 63, n. 3, p. 377-386, 1996.
- AULDIST, M. J.; COATS, S.; ROGERS, G. L.; MCDOWELL, G. H. Changes in the compositional of milk from healthy and mastitis dairy cows during the lactation cycle. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 35, n. 4, p. 427-436, 1995.
- BARBANO, D. M.; RASMUSSEN, R. R.; LYNCH, J. M. Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 2, p. 369-388, 1991.
- BENTLEY INSTRUMENTS. **Bactocount 150**: operator's manual. Chaska, 2004. 35 p.
- BENTLEY INSTRUMENTS. **Bentley 2000**: operator's manual. Chaska, 1995a. 77 p.
- BENTLEY INSTRUMENTS. **Somacount 300**: operator's manual. Chaska, 1995b. 77 p.
- BERGLUND, I.; PETTERSSON, G.; OSTENSSON, K.; SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. Quarter milking for improved detection of increase SCC. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 42, n. 4, p. 427-432, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Assessoria de Gestão Estratégica. **Brasil projeções do agronegócio 2010/2011 a 2020/2021**. Brasília, DF, jun. 2011a. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/PROJECOES%2D O%20AGRONEGOCIO%20 2010-11%20a%202020-21%20-%20_0.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Dispõe sobre regulamentos técnicos aplicados ao leite cru refrigerado e pasteurizado. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 set. 2002. Seção 1, n. 183, p. 13-22.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011**. Altera a Instrução Normativa MAPA nº51, de 18 de setembro de 2002. Brasília, DF, 2011b. Disponível em: <[http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62_2011\(2\).pdf](http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62_2011(2).pdf)>. Acesso em: 5 maio 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 166, de 5 de maio de 1998. Cria grupo de trabalho para analisar e propor programa e medidas visando ao aumento da competitividade... **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 6 maio 1998. Seção 1, p. 42.
- BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. **A qualidade do leite**. Juiz de Fora: EMBRAPA-CNPGL; São Paulo: Tortuga, 1998. 88 p.

- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F. O efeito da mastite no leite. **Revista Leite Brasil**, edição 4, jan./fev. 1998. Disponível em: <<http://www.leitebrasil.org.br/revista.htm>>. Acesso em: 21 maio 2012.
- BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; NICOLAU, E. S.; OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, J. P.; NEVES, R. B. S.; MANSUR, J. R. G.; THOMAZ, L. W. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 848-854, 2005.
- BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; OLIVEIRA, A. N.; NICOLAU, E. S.; NEVES, R. B. S. Contagem bacteriana total do leite: relação com a composição centesimal e período do ano no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 40-44, 2008.
- CHEN, L.; DANIEL, R. M.; COOLBEAR, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk powders. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 4, p. 255-275, 2003.
- CONSIDINE, T.; GEARY, S.; KELLY, A. L.; MCSWEENEY, P. L. H. Proteolytic specificity of cathepsin G on bovine alphas 1- and beta caseins. **Food Chemistry**, v. 76, n. 1, p. 59-67, 2002.
- DATTA, N.; DEETH, H. C. Diagnosing the cause of proteolysis in UHT milk. **LWT - Food Science and Technology**, v. 36, n. 2, p. 173-182, 2003.
- DUNCAN, S. E.; CHRISTEN, G. L.; PENFIELD, M. P. Rancid flavor of milk: relationship of acid degree value, free fatty acids, and sensory perception. **Journal of Food Protection**, v. 56, n. 2, p. 394-397, 1991.
- EL-TAHAWY, A. S.; EL-FAR, A. H. Influences of somatic cell count on milk composition and dairy farm profitability. **International Journal of Dairy Technology**, v. 63, n. 3, p. 463-469, 2010.
- FEDERAÇÃO DA AGRICULTURA DO ESTADO DO PARANÁ. Onde estamos e onde queremos chegar: oportunidades e ameaças. **Boletim Informativo**, n. 997, mar. 2008. Disponível em: <<http://www.faepp.com.br/boletim/bi997/encarte/encbi997pag10.htm>>. Acesso em: 27 jun. 2012.
- FERNANDES, A. M.; OLIVEIRA, C. A. F.; LIMA, C. G. Effects of somatic cell counts in milk on physical and chemical characteristics of yogurt. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 2, p. 111-115, 2007.
- GIGANTE, M. L. Importância da qualidade do leite no processamento de produtos lácteos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 1., 2004, Passo Fundo. **Anais eletrônicos...** Passo Fundo: Ed. UPF, 2004. 1 CD-ROM.
- HANUŠ, O.; VEGRICHT, J.; FRELICH, J.; MACEK, A.; BJELKA, M.; LOUDA, F.; JANŮ, L. Analysis of raw milk quality according to free fatty acid contents in the Czech Republic. **Czech Journal Animal Science**, v. 53, n. 1, p. 17-30, 2008.
- HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p. 2103-2112, 1994.
- KLEI, L.; YUN, J.; SAPRU, A.; LYNCH, J.; BARBANO, D.; SEARS, P.; GALTON, D. Effects of milk somatic cell count on cottage cheese yield and quality. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 5, p. 1204-1213, 1998.
- KLINKON, M.; KLOPČIČ, M.; OSTERC, J. Potential use of milk analyses for udder health control in highly productive dairy herd. **Acta Agraria Kaposváriensis**, v. 6, n. 2, p. 177-185, 2002.
- LE ROUX, Y.; LAURENT, F.; MOUSSAQUI, F. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. **Veterinary Research**, v. 34, n. 5, p. 629-645, 2003.
- LINDMARK-MÅNSSON, H.; FONDÉN, R.; PETTERSON, H.E. Composition of Swedish dairy milk. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 3, p. 409-425, 2003.
- LOPES JÚNIOR, J. E. F.; LANGE, C. C.; BRITO, M. A. V. P.; SANTOS, F. R.; SILVA, M. A. S.; MORAES, L. C. D.; SOUZA, G. N. Relationship between total bacteria counts and somatic cell counts from mammary quarters infected by mastitis pathogens. **Ciência Rural**, v. 42, n. 4, p. 691-696, 2012.
- MA, Y.; RYAN, C.; BARBANO, D. M.; GALTON, D. M.; RUDAN, M. A.; BOOR, K. J. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 2, p. 264-274, 2000.

- MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRÍEZ, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 1883-1886, 2000.
- MARTINS, M. L.; ARAÚJO, E. F.; MANTOVANI, H. C.; MORAES, C. A. Detection of the *apr* gene in proteolytic psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. **International Journal of Food Microbiology**, v. 102, n. 2, p. 203-211, 2005.
- MEPHAM, T. B. The development of ideas on the role of glucose in regulating milk secretion. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 44, n. 3, p. 509-522, 1993.
- MITCHELL, G. E.; FEDRICK, I. A.; ROGERS, S. A. The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk.2. Cheddar cheese from farm bulk milk. **Journal of Dairy Technology**, v. 41, n. 1, p. 12-14, 1986.
- NAJAFI, N. M.; MORTAZAVI, S. A.; KOOCHEKI, A.; KHORAMI, J.; REKIK, B. Fat and protein contents, acidity and somatic cell counts in bulk milk of Holstein cows in the Khorosan Razavi Province, Iran. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, n. 1, p. 19-26, 2009.
- NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; PINTO, J. P. A. N.; ANDRADE, N. J.; SILVA, W. P.; FRANCO, B. D. G. M. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 191-195, 2005.
- NEVILLE, M. C.; WATERS, C. D. Secretion of calcium in to milk: review. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 3, p. 371-380, 1983.
- NORO, G.; GONZÁLEZ, F. H. D.; CAMPOS, R.; DÜRR, J. W. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 1129-1135, 2006.
- OLDE RIEKERINK, R. G. M.; BARKEMA, H. W.; VEENSTRA, W.; STRYHN, H.; ZADOKS, R. N. Somatic cell count during and between milkings. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 8, p. 3733-3741, 2007.
- OLIVEIRA, W. P. S.; OLIVEIRA, A. N.; NICOLAU, E. S.; MESQUITA, A. J.; NEVES, R. B. S.; FERNANDES, S. D. **Impacto da contagem de células somáticas elevada no rendimento de queijo mussarela**. Disponível em: <<http://www.terra.com.br/IICBQL/p010.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2012.
- OLIVER, S. P.; CALVINHO, L. F. Influence of inflammation in mammary gland metabolism and milk composition. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 2, p. 18-33, 1995.
- PAAPE, M. J.; CAPUCO, A. V.; GUIDRY, A. J.; BURVENICH, C. Morphology, function, and adaptation of mammary cells in normal and disease states. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 2, p. 1-17, 1995.
- PAURA, L.; KAIRISHA, D.; JONKUS, D. Repeatability of milk productivity traits. **Veterinarija ir Zootechnika**, v. 19, n. 41, p. 90-93, 2002.
- PAYMENT systems for ex-farm milk. **Bulletin of the International Dairy Federation**, n. 403, p. 106, 2006.
- PEREIRA, A. R.; SILVA, L. F. P.; MOLON, L. K.; MACHADO, P. F.; BARANCELLI, G. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite I – Gordura e Proteína. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 3, p. 121-124, 1999.
- PEREIRA, P. C. **A inserção brasileira no mercado internacional de produtos lácteos: evolução e perspectivas**. 2008. 174 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- PHILPOT, N. W.; NICKERSON, S. C. **Vencendo a luta contra a mastite**. Piracicaba: Westfalia Surge-Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002. 192 p.
- RAJČEVIČ, M.; POTOČNIK, K.; LEVSTEK, J. Correlations between somatic cells count and milk composition with regard to the season. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v. 68, n. 3, p. 221-226, 2003.

- SANTINI, G. A.; PEDRA, D. F. B. M.; PIGATTO, G. Internacionalização do setor lácteo: a busca pela consolidação. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 47., 2009, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SOBER, 2009. 19 p.
- SANTOS, M. V. O uso da CCS em diferentes países. In: MESQUITA, A. J.; DURR, J. W.; COELHO, K. O. (Ed.). **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006. v. 1, p. 181-197.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégia para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 2. ed. Barueri: Manole, 2007. 314 p.
- SHAMAY, A.; SHAPIRO, F.; LEITNER, G.; SILANIKOVE, N. Infusions of casein hydrolyzates into the mammary gland disrupt tight junction integrity and induce involution in cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 4, p. 1250-1258, 2003.
- SHOOK, G. E. Genetic improvement of mastitis through selection on somatic cell count. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 9, n. 3, p. 563-581, 1993.
- SILVA, L. F. P.; PEREIRA, A. R.; MACHADO, P. F.; SARRÍES, G. A. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II – lactose e sólidos totais. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, n. 4, p. 330-333, 2000.
- SIQUEIRA, K. B.; CARNEIRO, A. V.; ALMEIDA, M. F.; SOUZA, R. C. N. **O mercado lácteo brasileiro no contexto mundial**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2010. 12 p. (Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica, 104).
- SOMMERHAUSER, J.; KLOPPERT, B.; WOLTER, W.; ZSCHOCK, M.; SOBIRAJ, A.; FAILING, K. The epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections from subclinical mastitis in dairy cows during a control program. **Veterinary Microbiology**, v. 96, n. 1, p. 91-102, 2003.
- SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; MOREIRA, E. C.; BRITO, M. A. V. P.; SILVA, M. V. G. B. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 5, p. 1015-1020, 2009.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **The SAS system for windows**. Version 9.0. Cary: SAS Institute Inc., 2002.
- TEBALDI, V. M. R. T.; OLIVEIRA, T. L. C.; BOARI, C. A.; PICCOLI, R. H. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 753-760, 2008.
- VIDAL-MARTINS, A. A.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; REZENDE-LAGO, N. C. Microrganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 3, p. 396-400, 2005.
- WELLNITZ, O.; DOHERR, M. G.; WOLOSZYN, M. W.; BRUCKMAIER, R. M. Prediction of total quarter milk somatic cell counts based on foremilk sampling. **Journal of Dairy Research**, v. 76, n. 3, p. 326-330, 2009.
- WICKSTRÖM, E.; PERSSON-WALLER, K.; LINDMARK-MÅNSSON, H.; ÖSTENSSON, K.; STERNESJÖ, A. Relationship between somatic cell count, polymorphonuclear leucocyte count and quality parameters in bovine bulk tank milk. **Journal of Dairy Research**, v. 76, n. 2, p. 195-201, 2009.
- WINCK, C. A.; THALER NETO, A. Diagnóstico da adequação de propriedades leiteiras em Santa Catarina às normas brasileiras de qualidade do leite. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 8, n. 2, p. 164-172, 2009.
- ZADOKS, R. N.; GONZÁLEZ, R. N.; BOOR, K. J.; SCHUKKEN, Y. H. Mastitis-causing *Streptococci* are important contributors to bacterial counts in raw bulk tank milk. **Journal Food Protection**, v. 67, n. 12, p. 2644-2650, 2004.
- ZAFALON, L. F.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, J. V.; RESENDE, F. D. Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos como métodos auxiliares de diagnóstico da mastite subclínica bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 150-163, 2005.

POTENCIALIDADES FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICAS DO LEITE BOVINO

José Laerte Nörnberg
Diego Prado de Vargas
Jorge Schafhäuser Junior
Maria de Fátima Barros Leal Nörnberg
Mariana Moura Ercolani Novack
Rudolf Brand Scheibler
Fábio Antunes Rizzo

Introdução

Novas classes de alimentos, geralmente conhecidos como funcionais e nutracêuticos, vêm sendo estudadas, cujos efeitos benéficos sobre a saúde e o bem-estar do ser humano estão sendo constatados, além do seu valor nutricional.

Na década de 1980, os japoneses foram os primeiros a introduzir esse novo conceito, definindo alimento funcional (*food for specified health use*) como um alimento convencional, que, baseando-se no conhecimento da relação entre alimentos e seus componentes com a saúde, apresente benefícios, e ao qual é permitido apresentar uma declaração (*claim*) do efeito que se espera obter com o consumo diário, devendo ser consumido como alimento e como parte de uma dieta saudável. (MORAES; COLLA, 2006).

No Brasil, a regulamentação dos alimentos é feita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), que, em 1999, publicou duas resoluções relacionadas aos alimentos funcionais:

- Resolução Anvisa/MS nº 18, de 30/4/1999 (republicada em 3/12/1999): aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e/ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1999a).

- Resolução Anvisa/MS nº 19, de 30/4/1999 (republicada em 10/12/1999): aprova o regulamento técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde em sua rotulagem. (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1999b).

Nessas resoluções, faz-se distinção entre alegação de propriedade funcional e alegação de propriedade de saúde, como segue:

- Alegação de propriedade funcional é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que uma substância (nutriente ou não) tem no crescimento, no desenvolvimento, na manutenção e em outras funções normais do organismo humano.
- Alegação de propriedade de saúde é aquela que afirma, sugere ou implica a existência de relação entre o alimento ou ingrediente com doença ou condição relacionada à saúde.

Não são permitidas alegações de saúde que façam referência à cura ou à prevenção de doenças. Dessa forma, os novos alimentos que surgirem no mercado deverão exibir, em seu rótulo, que benefício trazem para a fisiologia do organismo e o motivo por que reduzem o risco de certa doença, informação que deverá ser comprovada por meio de pesquisas científicas.

A expressão “nutracêutico” foi cunhada pela Foundation for Innovation in Medicine dos Estados Unidos, em 1990 (DEFELICE, 1995), para nominar uma nova área de pesquisas biomédicas; desde então, tornou-se parte do léxico-padrão da comunidade científica e das indústrias alimentícias e farmacêuticas. Nutracêutico é “uma substância de ocorrência natural, com evidente efeito benéfico à saúde, presente em alimentos específicos, alimentos funcionais ou suplementos alimentares” (ANDLAUER; FÜRST, 2002). Em um conceito mais abrangente, são elementos ou substâncias químicas, componentes naturais de alimentos ou de outras formas de ingestão que proporcionam benefícios à saúde humana, na prevenção ou no tratamento de doenças, ou, então, na melhoria do rendimento fisiológico.

Atualmente, graças à intensa divulgação e ao fácil acesso a informações sobre o papel dos alimentos na preservação da saúde, aumentou bastante o interesse e a exigência do consumidor pela qualidade e pelo valor nutricional dos alimentos. E de tal forma que a composição nutricional tem sido um fator decisivo na compra de alimentos.

Nesse contexto, pretende-se demonstrar que o leite bovino possui uma gama de compostos bioativos, além de nutrientes básicos (lipídeos, proteínas, carboidratos, minerais e vitaminas), que são sintetizados e secretados pela glândula mamária, e atuam

positivamente na regulação de diversas funções biológicas. Por esse motivo, o leite bovino pode ser considerado um dos alimentos com maior potencialidade funcional e nutracêutica.

Componentes do leite e efeitos sobre a saúde

Lipídeos

Embora os lipídeos (gorduras) constituam uma fração significativa da dieta dos seres humanos, seu consumo está relacionado com a obesidade e a incidência de problemas cardiovasculares e de alguns tipos de tumor (STEIJNS, 2008). Por esse motivo, a maioria das normas oficiais de alimentação dos humanos recomenda a redução do seu consumo, o que tem promovido uma grande demanda por produtos com menor teor total de gordura, determinando, conseqüentemente, mudanças nos sistemas de produção animal e também nas indústrias processadoras. Os efeitos do consumo de gordura láctea sobre a saúde humana continuam, porém, em debate.

O leite bovino contém, em média, cerca de 3% a 4% (MUEHLHOFF et al., 2013) de lipídeos (gordura); porém, o leite integral industrializado mais consumido atualmente (esterilizado UHT, do inglês *ultra high temperature*) é padronizado em cerca de 3% de gordura (30 g L⁻¹). Os triacilgliceróis (triglicerídeos) representam cerca de 95% da fração lipídica, sendo compostos por diferentes combinações de ácidos graxos ligados ao glicerol. O restante dos lipídeos do leite correspondem a diacilgliceróis (cerca de 2%), colesterol (menos de 0,5%), fosfolipídeos (cerca de 1%) e ácidos graxos livres (AGL), que representam menos de 0,5% (GERMAN; DILLARD, 2006).

Com respeito à presença de ácidos graxos, a fração lipídica do leite é provavelmente a mais complexa de todas as gorduras comestíveis, tendo em vista que mais de 400 ácidos graxos já foram detectados, de C2 até C24, saturados e insaturados, monoinsaturados e poli-insaturados, com configurações geométricas *cis*, *trans*, *cis-trans*, *trans-cis*, com cadeias lineares e ramificadas, e vários ceto e hidroxíácidos (JENSEN, 2002).

A presença da gordura láctea na dieta dos seres humanos tem sido associada ao aumento da concentração de lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol) e, por sua vez, à elevação do risco de doenças cardiovasculares. No entanto, sabe-se que a gordura do leite também possui ácidos graxos com reconhecidos efeitos positivos sobre a saúde

humana, mostrando proteção, inclusive, contra doenças cardiovasculares, câncer, obesidade, entre outros males, questão que será abordada a seguir.

Ácidos graxos saturados

Mais da metade dos ácidos graxos do leite são saturados (AGS), correspondendo a cerca de 19 g L^{-1} (MUEHLHOFF et al., 2013). O elevado conteúdo de ácidos graxos saturados na gordura láctea tem sido relacionado a diversas doenças em humanos, associadas ao perfil aterogênico no sangue e ao aumento do risco de doenças cardiovasculares. Contudo, estudos vêm provando que apenas três ácidos graxos saturados (láurico-C12:0, mirístico-C14:0 e palmítico-C16:0) mostram a propriedade de aumentar o colesterol no sangue, enquanto pelo menos um terço dos ácidos graxos é insaturado e apresenta propriedades de baixar os níveis de colesterol circulantes (BATH; BATH, 2011).

Ácido butírico (C4:0) é o ácido graxo saturado com menor comprimento de cadeia presente na gordura do leite de ruminantes, variando de 2% a 4%, estando também presente no leite humano em cerca de 0,4% (MUEHLHOFF et al., 2013). Nenhum outro tipo de gordura o contém; portanto, a gordura láctea é uma fonte direta e natural desse ácido graxo. O ácido butírico desempenha importante papel na saúde intestinal, fornecendo energia para os enterócitos, reduzindo a translocação de bactérias patogênicas e inibindo as vias pró-inflamatórias. Ademais, é um potente inibidor da proliferação de células cancerígenas (GERMAN, 1999; SMITH et al., 1998). É importante destacar que ácidos graxos de cadeias curtas (saturados), como o ácido butírico, são produzidos no trato gastrointestinal de todas as espécies, por fermentação microbiana de carboidratos fibrosos, constituindo um dos efeitos positivos dos prebióticos na saúde dos seres humanos (BACH KNUDSEN et al., 2003; CHAWLA; PATIL, 2010). O butirato fornecido via oral reduziu a expressão pró-inflamatória de citocinas da mucosa gastrointestinal, melhorando os sintomas em pacientes que sofrem de doença de Crohn (DI SABATINO et al., 2005). Benefícios outros do butirato, além dos gastrointestinais, também foram avaliados. Em ratos, com dietas que induziam a obesidade, a adição de 5% de butirato impediu tanto o desenvolvimento de obesidade quanto a resistência à insulina (GAO et al., 2009). Portanto, a análise das pesquisas realizadas com ácido butírico torna plausível a hipótese de que esse ácido graxo, nas concentrações normalmente presentes na gordura láctea, pode ter relevância protetora na saúde dos consumidores.

Os ácidos graxos caproico (C6:0), caprílico (C8:0) e cáprico (C10:0) estão presentes na gordura do leite bovino e no humano, em cerca de 1% a 1,5% e de 0,1% a 0,3%, respectivamente (MUEHLHOFF et al., 2013). Esses três ácidos graxos têm atividades biológicas

semelhantes. Tanto o ácido caprílico quanto o ácido cáprico mostraram atividade antiviral (THORMAR et al., 1994), sendo que o ácido caprílico mostrou retardo no crescimento de tumores em ratos (BURTON, 1991).

O ácido láurico (C12:0) é um ácido graxo que está presente na gordura do leite humano e no bovino, em cerca de 5,8% e 2,2%, respectivamente (MUEHLHOFF et al., 2013). Esse ácido graxo tem sido reconhecido por suas ações antivirais (THORMAR et al., 1994) e antibacterianas e mostrou efeito sobre a bactéria *Helicobacter pylori* presente no conteúdo estomacal.

A gordura do leite bovino contém de 8% a 14% de ácido mirístico (C14:0) e, no leite humano, o valor médio é de 8,6% (MUEHLHOFF et al., 2013), sendo um dos principais ácidos graxos saturados associados ao aumento do risco de doenças cardiovasculares (DCV). Estudos epidemiológicos em humanos mostram que os ácidos mirístico e láurico são os ácidos graxos saturados mais intensamente relacionados com as concentrações de colesterol sanguíneo. No entanto, em indivíduos saudáveis, embora o ácido mirístico seja hipercolesterolêmico, aumenta as concentrações tanto de LDL quanto de HDL-colesterol, em comparação com o ácido oleico (TEMME et al., 1997).

O ácido palmítico (C16:0) está presente na gordura do leite humano e bovino em cerca de 22,6% e 26,3%, respectivamente (MUEHLHOFF et al., 2013). O ácido palmítico, nos triacilgliceróis do leite humano, está predominantemente esterificado na posição sn-2 da molécula. A distribuição específica dos ácidos graxos no triacilglicerol é conhecida por desempenhar papel fundamental na digestão e na absorção de lipídeos. A lipase pancreática hidrolisa seletivamente triacilgliceróis nas posições sn-1 e sn-3, resultando em ácidos graxos livres e 2-monoacilgliceróis. O ácido palmítico livre pode formar sabão de cálcio e ser excretado nas fezes. Uma comparação entre os efeitos de dieta que contenha laurato-miristato e os efeitos do ácido palmítico em humanos normolipêmicos mostrou que o ácido palmítico reduz o colesterol no sangue (SUNDRAM et al., 1994).

O ácido esteárico (C18:0) está presente na gordura do leite bovino e humano em cerca de 7,7% e 13,2%, respectivamente (MUEHLHOFF et al., 2013). Acreditava-se que esse ácido graxo fosse responsável por efeitos hipercolesterolêmicos em humanos; entretanto, atualmente, está comprovado que não aumenta a concentração de colesterol total no sangue (GRUNDY, 1994). Ao contrário, o ácido esteárico dietético diminui as concentrações desse esterol no plasma e no fígado, por diminuir sua absorção intestinal (COWLES et al., 2002). Estudo baseado em consumo diário de 19 g por dia, durante 4 semanas, por

indivíduos saudáveis mostrou efeitos benéficos sobre os fatores de risco aterogênicos e trombogênicos (KELLY et al., 2001).

A associação entre o consumo de leite e derivados e o aumento nos valores de colesterol total e do LDL-colesterol tem sido relatada. O colesterol em altos níveis é fator de risco para doença arterial coronariana, assim como a relação elevada entre LDL e HDL-colesterol (HEGSTED et al., 1993). Entretanto, estudos epidemiológicos não mostraram qualquer evidência de maior risco de doenças associadas à ingestão de gordura láctea (ELWOOD et al., 2004). Nesse sentido, pesquisas realizadas na Suécia mostraram que os fatores de risco de doenças cardiovasculares estão negativamente associados com a ingestão de gordura láctea (WARENSJO et al., 2004). Ao mesmo tempo, investigação científica realizada na Noruega sugere que a ingestão de leite ou gordura láctea pode proteger os indivíduos do risco do primeiro infarto do miocárdio, e que os efeitos causais dependem de outros fatores, e não somente do colesterol sanguíneo (BIONG et al., 2006). Esses pesquisadores mencionam que o consumo de 34 g de gordura láctea por dia não está associado à probabilidade de ocorrer infarto do micárdio (BIONG et al., 2006).

Ácidos graxos insaturados

Com respeito à presença de ácidos graxos insaturados, o ácido oleico (C18:1c9) está em maior concentração no leite, com cerca de 9 g L⁻¹ de leite integral (MUEHLHOFF et al., 2013). Dessa forma, leite e produtos lácteos contribuem substancialmente para a ingestão desse ácido graxo. O C18:1c9 é um ácido graxo monoinsaturado, cuja presença na dieta diminui os níveis de colesterol no sangue (LDL-colesterol) e de triacilglicerol (KRIS-ETHERTON et al., 1999), e, em substituição aos AGS, reduz o risco de doença coronária (MENSING et al., 2003).

Os ácidos graxos são o principal material de construção das membranas celulares; entretanto, os ácidos graxos insaturados são reativos e, assim, podem provocar estresse oxidativo, com radicais livres e produtos secundários (peroxidação-aldeídos malonaldeídos e 4-hidroxinonenal), que são prejudiciais às proteínas e ao DNA, contribuindo para o desenvolvimento de câncer (BARTSCH et al., 2002). A enzima lecitina colesterol aciltransferase tem um papel importante no transporte reverso do colesterol, porém é sensível ao estresse oxidativo e também é inibida por LDL-colesterol oxidada (HAUG et al., 2007).

O ácido oleico é mais estável à oxidação do que os ácidos graxos ômega-3 (n-3) e ômega-6 (n-6), podendo substituí-los parcialmente nos triacilgliceróis e nos lipídeos da membrana celular. Uma proporção elevada entre ácido oleico e ácidos poli-insaturados protege os lipídeos (LDL-colesterol) do estresse oxidativo. Estudos mostram que dietas ricas

em ácidos monoinsaturados fornecem melhor proteção contra aterosclerose e doenças cardiovasculares do que dietas ricas somente em ácidos poli-insaturados (LORGERIL et al., 1994). Portanto, como a gordura láctea é rica em ácido oleico (cerca de 25%) e apresenta alta relação ácido oleico (monoinsaturado)/ácidos poli-insaturados, é uma excelente fonte para aumentar essa proporção na dieta dos seres humanos (HAUG et al., 2007).

A concentração de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA, do inglês *polyunsaturated fatty acids*) no leite é cerca de 2 g L^{-1} (MUEHLHOFF et al., 2013), decorrentes principalmente dos ácidos linoleico (C18:2 ômega-6) e alfa-linolênico (C18:3 ômega-3). Esses ácidos graxos podem ser convertidos em ácidos graxos com 20 átomos de carbono, como o ácido araquidônico (C20:4 ômega-6) e o ácido eicosapentaenoico (EPA) (C20:5 ômega-3).

O ácido vacênico é o principal isômero C18:1 trans presente na gordura do leite. Outros ácidos graxos C18:1 trans com duplas ligações nas posições 4 a 16 também estão presentes na gordura láctea, porém em baixas concentrações (LEDOUX et al., 2005). A quantidade de ácido vacênico na gordura do leite é variável, de 1% a 4% (CRUZ-HERNANDEZ et al., 2007), a depender principalmente da alimentação recebida pelos animais. Normalmente, o aumento de ácido rumênico (18:2 c9, t11), um isômero do ácido linoleico conjugado (CLA, do inglês *conjugated linoleic acid*) no leite está associado ao aumento do ácido vacênico. O ácido vacênico exerce dupla função no metabolismo: além de atuar como ácido graxo trans, é precursor do CLA - 18:2 c9, t11 na glândula mamária. Segundo Kay et al. (2004), cerca de 90% do ácido rumênico no leite é produzido endogenamente, envolvendo a dessaturação do ácido vacênico, por meio da enzima delta 9 dessaturase. O ácido vacênico também pode ser convertido em CLA - 18:2 c9, t11 nos seres humanos (TURPEINEN et al., 2002).

Gorduras trans, produzidas industrialmente, têm mostrado efeitos negativos sobre a saúde, com o aumento do risco de doenças cardiovasculares, do teor de lipídeos sanguíneos e da proporção entre LDL e HDL (LICHTENSTEIN et al., 2003). Dessa forma, o ácido vacênico, por apresentar essa configuração molecular, também poderia exercer ação prejudicial à saúde. Entretanto, estudos mostram que gorduras trans de origem animal apresentam comportamento metabólico distinto daquele das gorduras trans produzidas quimicamente (industrialmente); portanto, não apresentam riscos de causar doenças cardiovasculares (TRICON et al., 2006).

O CLA corresponde a uma mistura de isômeros posicionais e geométricos do ácido linoleico (C18:2 c9, c12), com duplas ligações conjugadas, ou seja, separadas somente por uma ligação simples carbono-carbono (CHOUINARD et al., 1999). Esse ácido graxo é produzido naturalmente em ruminantes, por meio da biohidrogenação incompleta de ácidos

graxos poli-insaturados provenientes da dieta, e também pela dessaturação do ácido vacênico (C18:1 t11), por ação da estearoil-CoA dessaturase nos tecidos (delta 9 dessaturase), em especial na glândula mamária (CORL et al., 2001). Dessa forma, produtos de ruminantes, como leite e derivados, são as fontes mais abundantes de CLA. Aliás, sua presença na gordura láctea é conhecida há anos, mas sua composição exata era ignorada até serem reconhecidos como compostos bioativos na bioquímica humana, em variados processos de doenças (LEDOUX et al., 2005).

Os primeiros estudos de investigação das propriedades anticarcinogênicas do CLA datam do início da década de 1990. Ha et al. (1990) estudaram a ação anticarcinogênica desse composto em camundongos submetidos à indução de câncer de estômago por benzopireno, e observaram que animais tratados com CLA apresentaram metade da quantidade de neoplasmas, quando comparados ao controle. Apenas o isômero c9, t11 foi encontrado nos fosfolípidos do estômago dos camundongos, demonstrando que esse seria o responsável pela ação anticarcinogênica (HA et al., 1990), cujo mecanismo de ação estaria relacionado com suas propriedades antioxidantes.

Knekt et al. (1996) observaram relação inversa entre o consumo de leite e a incidência de câncer de mama, sugerindo que o CLA possui capacidade de prevenção desse tipo de doença. Ip et al. (1995) constataram que o suprimento de 1% de CLA na dieta de ratas durante 30 dias, desde o período do pós-desmame até a puberdade, foi suficiente para inibir o crescimento do tumor mamário. De acordo com Ip e Scimeca (1997), a atividade anticarcinogênica foi máxima na dosagem de 1% de CLA. De acordo com Pariza et al. (2001), o CLA pode influenciar a regressão do câncer de três maneiras: afetando diretamente o processo da carcinogênese, reduzindo o acúmulo excessivo de gordura corporal, que indiretamente aumenta o risco da doença, e reduzindo a caquexia, que está relacionada com estágios avançados dessa enfermidade.

Além do câncer de mama, em estudo de 15 anos com mulheres, Larsson et al. (2005) relataram a correlação inversa entre o consumo de CLA e a incidência de câncer colorretal. Muitas pesquisas sobre o efeito protetor do CLA contra o câncer de cólon foram realizadas, e mecanismos moleculares de ação foram identificados. Park et al. (2004), estudando essa variedade da doença em ratos, induzida por dimetil-hidrazina, verificaram que a redução da incidência do câncer está relacionada com o aumento do índice apoptótico. Esse mesmo grupo de pesquisa demonstrou que a elevação da morte celular, anteriormente relatada, estaria relacionada, em parte, com a redução de prostaglandinas E2, acompanhada do aumento da razão das proteínas pró-apoptóticas Bax/Bcl-2 (PARK et al., 2004). Bergamo et al. (2003) atribuíram ao CLA outro mecanismo de atividade anticancerígena, envolvendo

a produção de espécies reativas ao oxigênio, que levam à ativação da enzima caspase-3, considerada a enzima-chave no processo de apoptose.

As concentrações de CLA em produtos lácteos têm apresentado valores variáveis de 2,9 mg g⁻¹ a 8,2 mg g⁻¹ de gordura, sendo que o isômero cis-9, trans-11 representa entre 73% e 93% do total de CLA (KELLY et al., 2001). Khanal et al. (2005) encontraram valores de 5,2 mg de CLA no leite, 4,7 mg em queijo cheddar. Rainer e Heiss (2004) observaram que os teores de CLA em iogurte variam de 2,8 mg g⁻¹ a 4,8 mg g⁻¹. Parodi (1999) observou 6,1 mg de CLA presente na manteiga, enquanto Ledoux et al. (2005), 4,5 mg g⁻¹ na manteiga de inverno, 5,8 mg g⁻¹ na de primavera e 8 mg g⁻¹ na de verão. Fuke et al. (2012), estudando o perfil de ácidos graxos na gordura de leites comercializados, oriundos de diferentes regiões e estações climáticas no Sul do Brasil, constataram variações importantes nas concentrações de ácidos graxos, incluindo CLA, com valores médios de 5,7 mg g⁻¹ a 10,6 mg g⁻¹ de ácidos graxos identificados, com valores maiores para leites produzidos no inverno e na primavera. Os resultados obtidos por Fuke et al. (2012), assim como em outros trabalhos de pesquisa, mostram que os teores de CLA podem ser significativamente aumentados pela manipulação da dieta dos animais.

O consumo de CLA pela população é difícil de estimar. As dificuldades em quantificar a ingestão de CLA devem-se à carência de dados sobre o conteúdo dos isômeros nos alimentos e sobre o consumo de alimentos pela população. Nos EUA, foi estimada uma ingestão entre 52 mg dia⁻¹ e 137 mg dia⁻¹; na Inglaterra e na Austrália, os valores foram superiores, de 600 mg dia⁻¹ a 800 mg dia⁻¹ e 1.500 mg dia⁻¹, respectivamente (PARIZA et al., 2001). Ritzenthaler et al. (2001) estudaram 51 homens e 51 mulheres, durante 12 meses, e, pela pesagem dos alimentos ingeridos, constataram um consumo total de CLA de 212 mg dia⁻¹ e 151 mg dia⁻¹, respectivamente. Medeiros (2002) realizou estudo no Restaurante Universitário da cidade de São Paulo, utilizando seis amostras de refeições completas (almoço). Os teores de CLA nas dietas variaram de 0,9 mg dia⁻¹ a 4,9 mg dia⁻¹. Embora não exista recomendação estabelecida para a ingestão diária de CLA que proteja o consumidor, resultados de pesquisa sugerem um consumo de 350 mg dia⁻¹. Dessa forma, considerando o consumo médio observado no trabalho de Medeiros (2002), seria necessário o enriquecimento da dieta com CLA.

Para aumentar os níveis de CLA no leite e nos produtos lácteos, seria necessário obedecer a um dos seguintes procedimentos: ou manipular a dieta dos animais, ou, então, enriquecê-la com CLA sintético. O emprego do CLA sintético, já produzido e comercializado em alguns países, é uma opção rápida e prática, porém não atende ao emprego, tão corrente nos dias de hoje, de componentes naturalmente presentes nos alimentos.

A suplementação com ácido linoleico conjugado tem sido estudada também com o objetivo de reduzir o porcentual de gordura corporal (GAZE et al., 2007). Esse assunto tem despertado grande interesse, porque a obesidade representa um dos mais importantes problemas de saúde pública no mundo, em razão da crescente prevalência e da associação com várias doenças. A capacidade do CLA em reduzir a gordura corporal nos animais, primeiramente relatada em 1995 (PARK; PARIZA, 2007), foi atribuída ao isômero t10, c12 (PARK; PARIZA, 1998). Park et al. (1997), em experimento com camundongos suplementados com 0,5% de CLA, observaram redução de 60% da gordura corporal. Ostrowska et al. (1999), usando suínos, observaram redução de peso e gordura corporal após suplementação com CLA. Em estudo com ratos obesos e diabéticos, a ingestão de 1,5% de CLA (47% c9t11 + 47,9% t10c12) diminuiu o ganho de peso e a gordura corporal (RYDER et al., 2001).

Com respeito a pesquisas com seres humanos, a Noruega foi o primeiro país a investigar o efeito da suplementação de CLA na composição corporal (THOM et al., 2001). Estudo com população fisicamente ativa mostrou que, ao fornecer a um grupo específico, durante 12 semanas, 1,8 g dia⁻¹ de uma mistura de CLA (isômeros c9t11 e t10c12), e ao grupo controle, óleo de oliva, houve redução de 4% na gordura corporal do grupo suplementado com CLA em comparação com o grupo placebo, que não apresentou alterações. Blankson et al. (2000) analisaram 47 indivíduos obesos e com sobrepeso, suplementados com 1,7 g dia⁻¹, 3,4 g dia⁻¹, 5,1 g dia⁻¹ ou 6,8 g dia⁻¹ de CLA ou 9 g dia⁻¹ de óleo de oliva por 12 semanas. Depois do tratamento, houve redução da gordura corporal, não dependente da dose, nos grupos suplementados com 3,4 g dia⁻¹ e 6,8 g dia⁻¹ de CLA. É importante ressaltar que a maioria dos estudos com humanos tem como objetivo a diminuição dos depósitos de gordura já formados (PARIZA et al., 2001). Existem vários mecanismos propostos para explicar essa alteração na composição corporal. Entre eles estão: a) a diminuição da proliferação e a diferenciação de pré-adipócitos; b) a diminuição da esterificação de ácidos graxos em triacilgliceróis; c) o aumento do gasto energético e da lipólise; d) a alteração da atividade das enzimas carnitina palmitoiltransferase e lipase lipoproteica; e e) a alteração da concentração do hormônio leptina (WANG; JONES, 2004).

A incidência de diabetes está aumentando no mundo inteiro, afetando inclusive as populações jovens. Belury et al. (2003) verificaram que 81% dos indivíduos portadores de diabetes mellitus não insulino dependente (n = 11) que receberam 6 g de CLA por dia durante 8 semanas apresentaram redução significativa da glicose sanguínea e de jejum quando comparados ao grupo controle.

As doenças cardiovasculares são as principais causas de morbimortalidade nos países desenvolvidos e em grande parte dos países em desenvolvimento. Entre essas

doenças, a aterosclerose é a principal, sendo responsável por 50% dos casos de morte no Ocidente (TOOMEY et al., 2003). A aterosclerose é uma doença progressiva, caracterizada pelo acúmulo de lipídeos nas artérias, que envolve um complexo processo inflamatório, sendo a hipercolesterolemia um fator importante para o seu aparecimento (LIBBY, 2002). A aterosclerose é uma doença crônica e progressiva, caracterizada pela formação de placas de constituição fibrosa e lipídica (ateromas), que diminuem progressivamente o diâmetro de vasos sanguíneos, podendo resultar na sua obstrução (LIBBY, 2002).

Os fatores de risco mencionados para o desenvolvimento da aterosclerose são: hipertensão arterial sistêmica, diabetes melitus, obesidade, sedentarismo, história familiar, idade, tabagismo, hipercolesterolemia (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007), níveis elevados de colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL), triglicérides (TG), níveis baixos de lipoproteína de alta densidade (HDL), aumento dos níveis dos marcadores inflamatórios e agregação plaquetária (LIBBY, 2002). As placas são formadas em resposta às agressões ao endotélio, na parede da artéria. Após a lesão, as plaquetas aderem à parede das artérias e liberam fatores de crescimento que promovem o desenvolvimento da lesão. Por isso, a aterosclerose é uma resposta inflamatória que se prolifera em resposta à agressão sofrida pela parede arterial (MAHAM; ESCOTT-STUMP, 2002). O receptor LDL desempenha papel central no metabolismo do colesterol em humanos e animais (FERNANDEZ, 2001).

Estudos em animais indicam que o CLA provoca efeitos positivos sobre os fatores de risco relacionados a doenças cardiovasculares, reduzindo o colesterol plasmático e os níveis de triacilgliceróis (ROCHE et al., 2001). Wilson et al. (2000), em estudo com hamsters, alimentados por 12 semanas com uma dieta hipercolesterolêmica, suplementada com 1% de CLA, mostrou que os grupos alimentados com CLA apresentaram menores níveis de colesterol total do que o grupo que recebeu apenas dieta hipercolesterolêmica. Outros resultados importantes foram encontrados em estudos realizados com camundongos. Toomey et al. (2003) observaram resultados positivos quando suplementaram camundongos com expressão negativa para a apoproteína E no fígado. Em animais com aterosclerose preestabelecida, houve retardo no desenvolvimento de novas lesões, assim como regressão no tamanho das lesões existentes.

Comparados com estudos em modelos com animais, são poucos os estudos em humanos que tenham avaliado os efeitos do CLA sobre os fatores de risco para doenças cardiovasculares. Blankson et al. (2000) reportaram redução nos níveis de LDL, HDL e colesterol total em humanos com índice de massa corpórea de 25 kg m⁻² a 35 kg m⁻², alimentados com CLA (1,7 g, 3,4 g, 5,1 g e 6,8 g por dia, durante 12 semanas), e, apesar de estatisticamente significativa, a redução não foi considerada clinicamente significativa.

Tricon et al. (2004) mostraram que a suplementação com 750 mg do c9t11-CLA na forma de cápsulas estava relacionada com a diminuição do colesterol total e do LDL. Como o CLA já se mostrou eficiente nas alterações do perfil lipídico em modelos experimentais, mais trabalhos precisam ser realizados com o propósito de elucidar os mecanismos de ação do CLA na prevenção da aterosclerose e, dessa maneira, assegurar sua utilização na redução das doenças cardiovasculares em humanos (BELURY, 2002).

Pesquisas mostraram que o sistema imune também pode ser beneficiado pelo CLA. O consumo dietético de CLA seria capaz de potencializar as respostas imunológicas, assim como reduzir os efeitos adversos mediados pelo catabolismo, sendo o isômero cis-9, trans-11 relacionado com a inibição do crescimento de tumores e com a modulação da resposta imune (PARIZA et al., 2001).

Foram relatadas propriedades anti-inflamatórias de CLA relacionadas com a redução da inflamação do cólon, com a diminuição do antígeno-induzido na produção de citocinas em células imunes competentes e com a modulação da produção de citocinas (BHATTACHARYAH et al., 2006). Yamasaki et al. (2000) verificaram que, em ratos suplementados com diferentes doses de CLA (0%, 0,05%, 0,10%, 0,25% e 0,50%), durante 3 semanas, a produção de anticorpos pelo baço foi aumentada.

Modelos de estudos em cultura de células animais mostram que o CLA age como modulador da função imunológica. Nos seres humanos, publicações indicam que os principais isômeros do CLA podem alterar a produção de prostaglandinas, citocinas e imunoglobulinas, apesar de os possíveis mecanismos de ação serem muito complexos e pouco conhecidos (O'SHEA et al., 2004).

Proteínas

O leite bovino contém cerca de 32 g de proteína por litro (MUEHLHOFF et al., 2013). A proteína do leite apresenta alto valor biológico; por conseguinte, trata-se de uma boa fonte de aminoácidos essenciais. As proteínas do leite são subdivididas basicamente em proteínas do soro (soroproteínas) e caseína. A caseína é sintetizada pelas células secretoras da glândula mamária na forma de agrupamentos com átomos de cálcio, fósforo e outros sais, denominados micelas (WALSTRA et al., 2001). Dessa maneira, a caseína pode ser definida como uma proteína micelar, precipitada por acidificação do leite desnatado a pH 4,6 (a temperatura de referência é 20 °C), sendo classificada como uma fosfoproteína, em virtude da presença do fósforo.

Essa proteína possui propriedade anfipática, por apresentar regiões hidrofóbicas e hidrofílicas (KRUIF; GRINBERG, 2002). Sendo assim, é responsável por grande parte das propriedades relativas à consistência e à cor dos produtos lácteos. A caseína bovina pode ser classificada em quatro tipos de proteínas com diferentes propriedades: α_{s1} -, α_{s2} -, β - e κ -caseína, perfazendo, respectivamente, 38%, 10%, 34% e 15% da caseína total (FOX et al., 2000).

Da mesma forma, a fração de proteína do soro (soroproteínas) do leite de bovinos também contém quatro principais proteínas: β -lactoglobulina (50%), α -lactalbumina (20%), soroalbumina (10%) e imunoglobulinas (10%), como a IgG1 (principalmente), a IgG2, a IgA e a IgM (FOX et al., 2000).

Além de exercerem diversas funções básicas de nutrição (fonte de aminoácidos para síntese proteica e de energia) e tecnológicas (propriedades funcionais e sensoriais), essas proteínas possuem sequências de peptídeos que afetam várias funções biológicas, como secreção de hormônios, defesa imune, absorção de nutrientes, transmissão da informação neurológica e crescimento microbiano (CLARE; SWAISGOOD, 2000; CLARE et al., 2003; MEISEL; FITZGERALD, 2003). Por esse motivo, esses fragmentos proteicos específicos são denominados peptídeos bioativos (PBA) ou biofuncionais.

Os PBAs contêm de 3 a 20 resíduos de aminoácidos por molécula, que, normalmente, são inativos dentro de sua sequência molecular. Nesse contexto, os PBAs são liberados in vivo por atividade proteolítica no estômago e/ou nos intestinos, e são produzidos in vitro a partir de proteínas do leite, com a utilização de algumas proteinases provenientes de microrganismos ou plantas, ou, ainda, produzidas por síntese química (PHELAN et al., 2009).

Em virtude do grande número de PBAs codificados em sua região primária, as proteínas do leite são consideradas, no momento, as principais fontes conhecidas de uma variedade de peptídeos funcionais. Muitos desses PBAs têm sido relacionados com certos efeitos nos principais sistemas corpóreos, como o cardiovascular, o digestivo, o imune e o nervoso.

A regulação da pressão sanguínea é parcialmente dependente do sistema renina-angiotensina-aldosterona. A renina atua sobre a angiotensina, liberando a angiotensina I; essa, por sua vez, converte-se em angiotensina II, um potente vasoconstritor, pela ação da enzima conversora de angiotensina (ECA). A angiotensina II inativa a bradicinina, um vasodilatador, aumentando a produção de aldosterona e, conseqüentemente, resultando em diminuição da excreção renal e elevação da retenção de líquidos pelo organismo (SILVA; MALCATA, 2005).

Peptídeos inibidores da ECA estão entre os compostos bioativos mais estudados e, embora diversas proteínas alimentares possam agir como seus precursores, as proteínas lácteas são as mais importantes fontes desses peptídeos, como fica evidenciado na Tabela 1.

Nesse contexto, esses peptídeos são capazes de proporcionar efeito anti-hipertensivo por inibição da ECA, além de influenciar diferentes sistemas regulatórios envolvidos na modulação da pressão arterial, como o sistema cardiovascular, o imune e o nervoso (LIGNITTO et al., 2010; PRIPP et al., 2006). Entretanto, é importante destacar que proteínas lácteas também podem exercer efeitos anti-hipertensivos por outros mecanismos, como pela inibição da liberação da endotelina-1 por células endoteliais, pela estimulação da atividade da bradicinina, pelo aumento da produção de óxido nítrico derivado do endotélio e pelo aumento da ação vasodilatadora de ligantes dos receptores opiáceos (KORHONEN; PIHLANTO, 2006).

Os peptídeos inibidores da ECA derivados da caseína (α_{s1} -caseína e β -caseína) são denominados casoquininas, enquanto os derivados das proteínas do soro (α -lactoalbumina e β -lactoglobulina) são chamados de lactoquininas (LIGNITTO et al., 2010; PIHLANTO-LEPPÄLÄ et al., 1998; PRIPP et al., 2006).

Ainda a respeito da ação dos PBAs sobre os sistemas circulatório e cardiovascular, a partir da clivagem da κ -caseína bovina, é possível produzir peptídeos derivados, como as casoplatelinas (Tabela 1), que possuem atividade inibidora da agregação plaquetária, por competição da ligação do fibrinogênio aos sítios receptores específicos sobre as superfícies das plaquetas (MEISEL, 1998). Recentemente, foi reportado que os caseinoglicopeptídeos também são fontes de peptídeos com ação antitrombótica (SILVA; MALCATA, 2005).

Além disso, alguns ensaios evidenciaram efeito positivo das proteínas do soro sobre a redução dos níveis de triglicerídeos e do colesterol sanguíneo e/ou hepático. Nesse sentido, Nagaoka et al. (1992), em pesquisa com ratos, compararam os efeitos da proteína de soja com os das proteínas do soro de leite, e verificaram que os níveis de lipídeos totais e de colesterol foram significativamente diminuídos pelo efeito das proteínas do soro, sendo que esse comportamento foi significativamente maior do que o constatado com as proteínas de soja. Ainda sobre os efeitos benéficos das proteínas do soro sobre os sistemas circulatório e cardiovascular, segundo Sgarbieri (2004), essas poderão exercer diversas ações graças às suas propriedades redutoras (cisteína e estímulo à síntese de glutatona) e sequestradoras de radicais livres (glutatona, lactoferrina, lactoperoxidase), que, por sua vez, atuam na inibição da lipoxidação de lipoproteínas e artérias.

Tabela 1. Peptídeos bioativos (PBA) derivados das proteínas do leite bovino.

Grupo proteico	Proteína precursora	Nome do peptídeo bioativo	Sequência peptídica	Fragmento de AA ⁽¹⁾	Bioatividade
Caseínas	α_{s1} -caseína	α_{s1} -casoquinina-5	FFVAP	f (23–27)	Inibidor da ECA ⁽²⁾
		Caseínofosfopeptídeo	QMEAES*IS*S*S* EEIVPNS*VEQK	f (59–79)	Transporte de cálcio
		Exorfina α -caseína	RYLGYLE	f (90–96)	Agonista opioide
	β -caseína	Casoxina D	YVPFPF	f (23–27)	Antagonista opioide
		β -casoquinina-7	AVYPQR	f (177–183)	Inibidor da ECA
		Peptídeo anti-hipertensivo	KVLPVPQ	f (169–174)	Anti-hipertensivo
		Imunopeptídeo	LLY	f (191–193)	Imunoestimulante
		β -casoquinina-10	YQQPVLGPVR	f (23–27)	Inibidor da ECA e imunomodulador
		Casoplatelina	MAIPPKKNQDK	f (106–116)	Antitrombótico
		Peptídeo inibidor da trombina	KDQDK	f (112–116)	Antitrombótico
Soro proteínas	α -lactoalbumina	Casoxina C	YIQYVLSR	f (23–27)	Antagonista opioide
		α -lactofrina	YGLF	f (50–53)	Agonista opioide e inibidor da ECA
	β -lactoglobulina	β -lactofrina	ALPMHIR	f (169–174)	Agonista opioide
	Soroalbumina	Serorfina	YGFQNA	f (399–404)	Agonista opioide
	Lactoferrina	Peptídeo inibidor da trombina	KRDS	f (39–42)	Antitrombótico
		Lactoferrina B	FKRRWQWRMKKLGAPITCVRRAF	f (17–41)	Imunomodulador e antimicrobiano

⁽¹⁾ AA = aminoácidos. ⁽²⁾ ECA = enzima conversora de angiotensina.

Fonte: adaptado de Clare e Swaisgood (2000).

O sistema opioide endógeno é formado por um conjunto de receptores e peptídeos ligantes endógenos, que estão distribuídos no sistema nervoso central (SNC) e nos tecidos periféricos, como o sistema imune, o cardiovascular, o endócrino e o digestório. Por esse motivo, é considerado crucial na homeostase corporal, por regular as diversas respostas fisiológicas do organismo (BODNAR, 2009; TRIGO et al., 2010).

O leite e seus derivados são fontes dietéticas de peptídeos opioides (Tabela 1), os quais estão presentes em estruturas primárias das diversas proteínas do leite. Alguns desses peptídeos podem desempenhar funções regulatórias nos sistemas digestivo e nervoso, podendo exercer, quando ligados aos seus receptores opioides específicos (receptores μ , δ e κ), atividades agonistas (principalmente fragmentos de α - e β -caseína) e antagonistas (principalmente fragmentos de κ -caseína), relacionadas à modulação desses sistemas fisiológicos (CLARE; SWAISGOOD, 2000).

Os peptídeos agonistas opioides derivados da caseína possuem de 5 a 10 resíduos, e são conhecidos como casomorfina ou exorfina. Esses PBAs são obtidos a partir da β -caseína (β -casomorfina) e da α_{s1} -caseína (α -casomorfina). A morfictina pertence ao grupo da β -casomorfina e é considerada o peptídeo com maior potencial opioide já relatado na literatura, apresentando a seguinte sequência N-terminal: Tyr-Pro-Phe-Pro (SCHANBACHER et al., 1998; SHAH, 2000).

Quanto à ação de peptídeos opioides no sistema nervoso, é importante ressaltar que é restrita sua penetração através da barreira hemato-encefálica em adultos, porém, em determinadas condições, há evidências de que alguns oligopeptídeos podem ultrapassá-la (CLARE; SWAISGOOD, 2000). Nesse sentido, o transporte passivo das β -casomorfina ocorre através das membranas da mucosa intestinal de recém-nascidos, o que pode ocasionar respostas fisiológicas, tais como efeitos analgésicos no sistema nervoso, que resultam em calma e sonolência em lactentes (STURNER; CHANG, 1988). Em contraste, em adultos, em virtude da resistência das β -casomorfina às enzimas do trato gastrointestinal, evidencia-se que suas influências fisiológicas estão limitadas a esse local, com efeitos importantes sobre o tempo de trânsito intestinal, sobre a absorção de aminoácidos e sobre a estimulação da absorção de água e eletrólitos (HARTMANN; MEISEL, 2007; SHAHIDI; ZHONG, 2008; SILVA; MALCATA, 2005).

Nesse contexto, diversos estudos têm demonstrado que as casomorfina são responsáveis pela produção de analgesia, pelo aumento do tempo de trânsito intestinal, por efeitos antidiarreicos, pelo aumento da absorção intestinal de aminoácidos e eletrólitos e pelo estímulo da secreção de insulina e somatostatina (HARTMANN; MEISEL, 2007; SHAHIDI;

ZHONG, 2008; SILVA; MALCATA, 2005). As β -casomorfina podem reduzir a secreção gástrica e intestinal e, por esse motivo, têm despertado grande interesse por sua capacidade de beneficiar o tratamento de diarreias. Além disso, esses peptídeos podem ter um efeito local, sem a necessidade de absorção sistêmica, reduzindo o reflexo peristáltico por meio do decréscimo da resposta reflexa (ALLESCHER et al., 2000). Dessa maneira, isso evidencia um possível efeito terapêutico desses peptídeos no tratamento de desordens gástricas.

A hidrólise das proteínas lácteas pode, por sua vez, formar peptídeos opioides com atividades antagonistas. Quando esses são derivados da caseína, denominam-se casoxinas (MEISEL, 1998; SILVA; MALCATA, 2005). Esses peptídeos encontram-se em elevadas concentrações no leite proveniente de animais com mastite e têm, como principal função fisiológica, a aceleração do trânsito intestinal. As casoxinas A, B e C são derivadas da κ -caseína, enquanto a casoxina D é proveniente da α_{s1} -caseína. Dessas, a casoxina C apresenta o maior efeito biológico. Porém, algumas casoxinas, quando metoxiladas durante os processos de isolamento e purificação, tornam-se potencialmente mais ativas (MEISEL; BOCKELMAN, 1999; SILVA; MALCATA, 2005). No entanto, é importante ressaltar que, no leite in natura, a atividade opioide parece prevalecer, uma vez que a α e a β -caseína estão em maior proporção do que a κ -caseína (SCHANBACHER et al., 1998).

Outros peptídeos atuam no sistema gastrointestinal: os caseinomacropéptídeos (CMPs) e os caseinofosfopeptídeos (CPPs). Os CMPs estão relacionados com a secreção do hormônio colecistoquinina, que regula a secreção pancreática e o esvaziamento gástrico (BEUCHER et al., 1994). Já os CPPs foram introduzidos com o intuito de descrever peptídeos fosforilados derivados da caseína que apresentavam a propriedade de melhorar o processo de mineralização óssea de crianças portadoras de raquitismo.

Mellander, em 1950, ao incubar caseína com pepsina e suco pancreático, obteve uma fração peptídica resistente à posterior degradação por outras enzimas, experiência que se tornou o primeiro relato de peptídeos bioativos da literatura. Esse pesquisador observou que os peptídeos obtidos apresentavam elevado conteúdo de resíduos de fosfoserina e aumentavam o balanço de cálcio, de 39% para 78%, em neonatos portadores de raquitismo. Desde então, diversas pesquisas verificaram que os CPPs possuem habilidade de ligar-se a microelementos minerais, como cálcio, magnésio e ferro, e também a elementos-traço, como zinco, bário, cromo, níquel, cobalto e selênio, formando complexos solúveis, o que, por sua vez, facilita sua absorção pelos intestinos (FITZGERALD, 1998; SCHOLZ-AHRENS; SCHREZENMEIR, 2000).

Ainda sobre a ação das proteínas lácteas sobre o sistema gastrointestinal, Rosaneli et al. (2002, 2004) pesquisaram a ação da proteína do soro sobre a inibição da ação ulcerogênica do etanol absoluto, da indometacina (anti-inflamatório não esteroide) e de fatores de estresse, como imobilização, frio e estresse químico induzido por reserpina. Esses autores constataram que os hidrolisados enzimáticos dessas proteínas protegem a mucosa estomacal de ratos contra as agressões do etanol absoluto e da indometacina, inibindo as lesões ulcerativas numa faixa de 50% a 80%, em comparação com um controle negativo (solução salina fisiológica).

Esse fato se deve, segundo Sgarbieri (2004), à presença maciça de aminoácidos sulfurados na estrutura das proteínas do soro de leite, particularmente a cisteína, os quais são capazes de promover, in vivo, o aumento da síntese de glutatona, que é de extrema importância na proteção dos tecidos epiteliais, mais precisamente na proteção da mucosa gástrica, contra vários agentes agressores.

Alguns peptídeos apresentam propriedades reguladoras do desenvolvimento do sistema imunológico. Essas propriedades podem ser classificadas em dois grandes grupos: a imunomodulação e a atividade antimicrobiana.

Peptídeos derivados da proteólise enzimática das proteínas do soro modulam uma variedade de funções imunes, incluindo atividade linfocitária, secreção de citocinas, produção de anticorpos, atividade fagocitária e das células exterminadoras naturais ou células NK (do inglês *natural killer cell*) (SAINT-SAUVEUR et al., 2008).

Diversos experimentos realizados em animais, humanos e in vitro associaram o poder imunoestimulante das proteínas do soro com a sua capacidade em estimular a síntese de glutatona, em virtude do elevado conteúdo de cisteína e de repetidas sequências glutamilstina na estrutura primária dessas proteínas (PACHECO et al., 2006; SAINT-SAUVEUR et al., 2008). Peptídeos com a sequência glutamilstina seriam formados a partir da digestão de frações de albumina sérica, de β -lactoglobulina e de imunoglobulina G (IgG), e, absorvidos como tal, serviriam de substrato para a síntese de glutatona, que é um tripeptídeo composto de glutamato, glicina e cisteína (PACHECO et al., 2006; SGARBIERI, 2004). A glutatona encontra-se distribuída em todos os tecidos do organismo humano, produzindo diversos efeitos biológicos, como: estímulo à síntese de IGF-1 (*insulin growth factor 1*), aumento do sistema imunológico, ação hipocolesterolêmica e antitumoral e retardo do envelhecimento em animais de laboratório (MELO, 2006; PACHECO et al., 2005).

Com a finalidade de comprovar a eficácia das proteínas isoladas do soro de leite e melhorar a atuação do sistema imunológico, Bounous et al. (1993, 1998) testaram esse efeito

em humanos portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida (Sida ou Aids). Essa enfermidade compromete o sistema imunológico e, mesmo quando controlada por efeito de medicação, verifica-se um desequilíbrio dos linfócitos TCD4+ (linfócitos de defesa do organismo) em virtude da prevalência dos linfócitos TCD8+ ou linfócitos de ataque (Tkiller). Embora com um número reduzido de sujeitos – três e quatro indivíduos, respectivamente –, a administração de 10 g a 40 g diárias de proteínas do soro a portadores de Aids melhorou as condições gerais dos pacientes (com ganho de peso de 2 kg a 7 kg), pois elevou a concentração de glutatona nos linfócitos e aumentou o número de linfócitos TCD4+ no período de 3 meses de suplementação.

Dessa maneira, fica evidenciado que o isolado da proteína do soro pode ser considerado um ótimo suplemento terapêutico no tratamento da Aids. A relação entre o vírus causador dessa enfermidade e a glutatona é antagônica, ou seja, quando os níveis de glutatona celular são baixos, a multiplicação viral diminui; enquanto, com o seu incremento, há redução drástica da multiplicação do vírus. Assim, quanto mais elevada for a taxa de glutatona nos linfócitos (células de defesa do sistema imunológico) dos pacientes com Aids, maior será sua chance de sobrevivência (SGARBIERI, 2004; WALZEM, 1999).

Ademais, estudos feitos com animais mostraram efeitos anticancerígenos das proteínas totais do soro (PAPENBURG et al., 1990). Em experimentos realizados com roedores, verificou-se que, nos produtos lácteos, o poder inibidor da proliferação de células cancerígenas está contido especificamente nessas proteínas (SGARBIERI, 2004).

McIntosh et al. (1995) e McIntosh e Le Leu (2001) estudaram a ação de várias proteínas da dieta (proteínas de soro do leite, caseína, proteínas das carnes bovina e de soja) contra o desenvolvimento de tumores de cólon induzidos pelo carcinógeno 1,2-dimetilhidrazina. Nesses estudos, os autores constataram que dietas contendo proteínas do soro de leite inibiram o aparecimento e o crescimento de tumores de cólon de forma mais eficaz do que a caseína, as proteínas de carne bovina e as de soja, nessa ordem.

Além disso, outros pesquisadores constataram a capacidade inibitória das proteínas do soro de leite sobre o câncer de cabeça e do pescoço (CHMIEL, 1997) e sobre culturas de células cancerígenas (BOURTOURAUULT et al., 1991), inibindo seletivamente o desenvolvimento dessas células. Nesse sentido, em cultivos da linha MCF-7 de células de câncer de mama e linhagens de células de câncer de próstata, a adição de proteínas do soro do leite diminuiu o desenvolvimento de células cancerígenas (BOURTOURAUULT et al., 1991).

Entre as hipóteses que explicam o efeito protetor das proteínas do soro do leite contra o câncer, a mais aceita é aquela que diz que o efeito protetor se deve ao aumento das

concentrações de glutathiona nos tecidos, que atua conjuntamente com as enzimas glutathiona peroxidase selênio dependente (GPx) e com as da família das glutathiona transferases (GST) (SIES, 1999). Dessa forma, a atividade anticâncer está relacionada, por um lado, com a ação da GPx, nos peróxidos de hidrogênio, radicais livres e espécies reativas ao oxigênio, que podem danificar o DNA, e, por outro lado, com a ação das enzimas da família das GST, que catalisam a conjugação de compostos tóxicos, incluindo mutagênicos e carcinogênicos, para a eliminação do organismo (COLES; KETTERER, 1990).

Conforme explicado, além dos peptídeos com propriedades imunomoduladoras, existem aqueles com atividade antimicrobiana, que também auxiliam a regular o sistema imunológico. Os peptídeos antimicrobianos são importantes componentes da imunidade inata, já que são encontrados tanto nas superfícies epiteliais quanto dentro de células fagocíticas granulares de mamíferos, e são capazes não somente de inibir microrganismos, mas também de modular respostas inflamatórias (GOBBETTI et al., 2004; HAQUE; CHAND, 2008).

A primeira descoberta sobre a presença de propriedades antimicrobianas no leite foi feita por Jones e Simms, em 1930. Estudando o tratamento com leite com coalho, esses pesquisadores encontraram uma substância denominada lactenina, que possuía a capacidade de inibir bactérias do gênero estreptococos (GOBBETTI et al., 2004; HAQUE; CHAND, 2008).

Um peptídeo denominado caseidina, obtido da digestão de α_{s2} -caseína com quimosina em pH neutro, foi um dos primeiros peptídeos lácteos de defesa a ser relatado com atividade contra bactérias Gram-positivas, incluindo *Staphylococci*, *Sarcina* spp., *Bacillus subtilis*, *Diplococcus pneumoniae* e *Streptococcus pyogenes* (BENKERROUM, 2010; SILVA; MALCATA, 2005). Outro peptídeo antimicrobiano, porém derivado da α_{s1} -caseína tratada com quimosina, é a isracidina, o qual, in vivo, exerce forte ação protetora contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* e *Listeria monocytogenes* (BENKERROUM, 2010; GOBBETTI et al., 2004). A isracidina também protege vacas contra a mastite quando injetado no interior do úbere, em níveis comparáveis aos observados em tratamentos com antibióticos (LAHOV; REGELSON, 1996).

Há também relatos que mostram o efeito inibitório sobre o crescimento bacteriano de peptídeos derivados da k-caseína, como a kapacina, que apresentam a capacidade de ligar-se a enterotoxinas e de inibir a adesão de vírus e bactérias, como, por exemplo, a ligação de bactérias cariogênicas na superfície oral (NEESER et al., 1994). Atividades antimicrobianas também têm sido demonstradas em proteínas do soro do leite, como as atribuídas à lactoferrina, à lactoperoxidase, à α -lactoalbumina e às imunoglobulinas.

A lactoferrina, bem como seu peptídio lactoferricina, inibe a proliferação e o crescimento de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, bem como de leveduras, fungos e protozoários, por quelar (sequestrar) o ferro disponível no ambiente. Já a lactoperoxidase tem propriedade bactericida graças à oxidação de tiocianatos em presença de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (NABET; LINDEN, 2001). A hidrólise enzimática da lactoferrina libera peptídios com ação inibitória ao vírus da hepatite C e com ação contra a bactéria *Helicobacter pylori* (IKEDA et al., 1998). A lactoferricina, peptídio resultante da ação da pepsina sobre a lactoferrina, apresenta, além da atividade antimicrobiana (BELLAMY et al., 1992), ação apoptótica sobre células da leucemia humana (ROY et al., 2002).

Pelo exposto, pode-se observar que o leite contém diversas bioatividades presentes no interior da estrutura primária de suas proteínas, requerendo proteólise para a liberação desses compostos bioativos. Em alimentos lácteos, tem sido dada atenção especial aos PBAs derivados de hidrolisados proteicos e produtos fermentados (KORHONEN; PIHLANTO, 2006).

Sabe-se que, por meio da fermentação do leite pela atividade de bactérias lácticas, como no processamento do iogurte, do leite fermentado e do queijo, obtêm-se diversos PBAs. Esses derivados, sob certas condições, podem proporcionar efeitos positivos na modulação de sistemas fisiológicos do organismo, quando ingeridos como parte da dieta diária; porém, os efeitos referentes a esses produtos tradicionais ainda não estão bem estabelecidos.

Diversos produtos lácteos, disponíveis no mercado internacional, enriquecidos com PBAs são capazes de diminuir a pressão arterial. Em todos esses derivados, a ação anti-hipertensiva deve-se à presença do tripeptídeos VPP (valina-prolina-prolina) e IPP (isoleucina-prolina-prolina), os quais possuem efetividade hipotensiva reconhecida em humanos, após a ingestão por um período de 2 a 7 semanas (TORRUCO-UCO et al., 2008).

Nesse contexto, diversas espécies de bactérias lácticas (lactobacilos, *Streptococcus thermophilus* e *Enterococcus faecalis*) têm sido estudadas quanto à sua atividade hipotensora e inibidora da ECA em leites fermentados. O *Lactobacillus helveticus* parece ser o mais eficaz, pois apresenta alta atividade proteolítica e especificidade enzimática capaz de proporcionar peptídeos mais ativos (NIELSEN et al., 2009). O queijo é outro derivado lácteo que possui peptídeos inibidores da ECA em sua composição (JAE-YOUNG et al., 2005), porém a concentração desses peptídeos e sua atividade inibitória dependem do tempo de maturação, do tipo de cultura utilizada no processo de fabricação, do tratamento prévio do leite e das condições de processamento (MEYER et al., 2009; PRIPP et al., 2006).

Assim, com o recente desenvolvimento de tecnologias apropriadas à produção comercial de PBAs a partir de leites fermentados, tais como métodos de separação em membranas e cromatografia de troca iônica, criaram-se excelentes perspectivas futuras para esse emergente mercado de produtos lácteos bioativos.

Carboidratos

A lactose é o único glicídio livre que existe em quantidades importantes no leite de todas as espécies e também é o componente mais abundante, o mais simples e o mais constante em proporção. Sua principal origem está na glicose do sangue, ou seja, o tecido mamário isomeriza-a em galactose e liga-a a um resto de glicose para formar uma molécula de lactose. O processo é acompanhado da condensação da UDP-galactose com a D-glicose, para tornar-se lactose mais UDP, em uma reação catalisada pela lactose-sintetase (PEREDA, 2005). O principal precursor da glicose em ruminantes é o propionato, ácido graxo volátil, originário da fermentação ruminal (SANTOS; FONSECA, 2007; SILVA et al., 1997).

Existem três formas de lactose no estado sólido: α e β (anidras) e α -lactose mono-hidratada. A lactose tem a mesma fórmula molecular da sacarose, mas difere-se dela pela configuração molecular, pelo poder edulcorante, pela solubilidade e pela reatividade química (VALSECHI, 2001).

A partir da lactose, por atividade de transgalactosilação da enzima β -D-galactosidase, podem ser produzidos galacto-oligossacarídeos (GOS) (JURADO et al., 2002). Esses oligossacarídeos são formados principalmente por estruturas com ligações β -1,4 e β -1,6 (MACFARLENE et al., 2008), porém, também podem ocorrer em menor proporção, com ligações β -1,2 e β -1,3 (MARTÍNEZ-VILLANUENGA et al., 2008). Além desses, existem GOS formados apenas por unidades de galactose, chamados galactobiose, galactotriose e galactotetraose (MARTÍNEZ-VILLANUENGA et al., 2008). Outros dissacarídeos, como a lactulose e a allolactose, também podem ser formados pela transgalactosilação (TUNGLAND; MEYER, 2002).

A lactulose (β -D-galactosil-D-frutose) não é digerida no intestino delgado, sendo fermentada pela flora do cólon intestinal, tendo, portanto, efeito prebiótico. Esse dissacarídeo pode ser utilizado no tratamento de pacientes com encefalopatia hepática (intoxicação do cérebro causada pela deficiência do fígado em converter amônia em ureia) e em pacientes com constipação crônica (SCHAAFSSMA, 2008).

A lactose é um dissacarídeo que sofre ação da enzima lactase, acoplada à borda em escova dos enterócitos, desdobrando-se nos seus monossacarídeos de origem (glicose e galactose), para posterior absorção na corrente sanguínea. A galactose é enzimaticamente convertida (epimerizada) em glicose, que é o principal combustível metabólico de muitos tecidos (VOET, 2008). Além de ser fonte energética, a lactose aumenta a absorção do cálcio no lúmen intestinal. Sabe-se que 60% a 75% do cálcio ingerido diariamente está contido no leite e derivados. Como o pH do leite é alcalino, esse mineral se mantém em suspensão pela formação de caseinato de cálcio, citrato de cálcio e complexado a lactose, porém, por meio da hidrólise enzimática pela ação da lactase, ocorre liberação do cálcio complexado. Dessa maneira, a maior disponibilidade desse mineral no leite e derivados parece ter relação direta com a capacidade do cálcio de se manter solúvel, na forma de caseinatos, citratos e complexado a lactose (VERNIA et al., 2001).

A atividade da lactase é alta durante o período neonatal e de lactância em todas as espécies mamíferas, porém, declina na época do desmame. Após esse período, a atividade da lactase é mantida em níveis baixos – geralmente menos de 10% da atividade do neonato (VOGEL, 2000). Quando ocorre um declínio acentuado da atividade dessa enzima (intolerância à lactose), a lactose não digerida servirá como fonte de energia para os microrganismos residentes no cólon intestinal. Esses a fermentam em ácido láctico, metano (CH_4) e gás hidrogênio (H_2), o que vai resultar, para a pessoa com intolerância à lactose, em sensação de desconforto, por distensão intestinal e flatulência. Além disso, o ácido láctico produzido pelos microrganismos e pela lactose não digerida são osmoticamente ativos, ou seja, são capazes de direcionar o fluxo de água para o interior do intestino, resultando em diarreia (BERNE, 2004).

Um problema frequentemente encontrado em indivíduos com má absorção de lactose é que, ao diminuírem a ingestão de leite e derivados, deixam de ingerir a quantidade diária de cálcio recomendada (GERRIOR et al., 1998; MILLER et al., 2001; VOGEL, 2000). A pessoas intolerantes à lactose seria, então, recomendada a ingestão de alimentos formulados que contivessem GOS, que possuem efeito prebiótico, e, quando associados a probióticos, diminuem o residual de lactose, diminuindo, por sua vez, a intolerância a esse carboidrato (RIVERO-URGELL et al., 2005).

Existem outras vantagens decorrentes do sinergismo entre GOS e probióticos: melhoria do trânsito intestinal, do metabolismo de carboidratos, minerais e lipídeos, do efeito antiadesivo na parede do trato gastrointestinal, além de proporcionar um menor residual de açúcares metabolizáveis, reduzindo, assim, a formação de cáries e o valor calórico do alimento. É, portanto, uma alternativa para a alimentação de pacientes críticos e com risco de infecção (MARTINS; BURKERT, 2009).

Minerais

As substâncias minerais representam cerca de 0,6% a 0,8% do peso do leite. Em análises bromatológicas, são designadas como cinzas, representando o resíduo que fica depois de submetido ao processo de incineração. A grande variedade de minerais que compõem o leite está integrada às micelas proteicas, isolados ou interligados, dependendo da sua capacidade de ligação. Desse modo, os minerais distribuem-se em dois compartimentos biológicos ou fases: a fase solúvel ou livre e a fase coloidal ou aquela ligada à micela caseínica (PEREDA, 2005). Os sais do leite se mantêm em constante equilíbrio, passando de uma fase a outra, dependendo das condições encontradas (WALSTRA; JENNES, 1984). Dessa maneira, as suas concentração e mobilidade podem interferir consideravelmente nas características nutricionais do leite, pois pode haver substituição de elementos minerais mais nobres, como o cálcio e o potássio, em detrimento de minerais de menor importância nutricional, como o sódio e o cloro, além de alterações na estabilidade da proteína.

Dos minerais reconhecidamente necessários à nutrição, todos estão presentes no leite, porém esse alimento destaca-se como ótima fonte de cálcio e fósforo, graças à facilidade de assimilação desses minerais, principalmente do cálcio (KLAJN, 2005).

O cálcio é um nutriente de extrema importância pela perspectiva da saúde pública, pois constitui cerca de 60% da massa óssea corporal, sendo o mineral mais abundante do corpo humano. Portanto, o consumo adequado desse mineral ao longo da vida é importantíssimo para a saúde dos ossos (CASÉ et al., 2005). O desenvolvimento dos ossos requer quantidades suficientes de muitos nutrientes, porém o cálcio recebe maior atenção, como principal constituinte do esqueleto, representando mais de 1.200 g e 1.400 g da reserva de cálcio nos ossos de mulheres e homens, respectivamente (FREITAS, 2006). Segundo Pereira et al. (2009), esse mineral também é essencial para a contração muscular, a mitose, a coagulação sanguínea e a transmissão do impulso nervoso ou sináptico. O *Guia alimentar para a população brasileira* (BRASIL, 2006) recomenda a quantidade necessária de ingestão por dia, que varia de acordo com a idade: pessoas com até 25 anos de idade necessitam de 1.200 mL a 1.500 mL; de 25 a 50 anos, 1.000 mL; e acima de 65 anos, 1.500 mL.

As principais doenças relacionadas ao tecido ósseo são: raquitismo, osteomalácea e osteoporose (LORENZO et al., 2008; MITCHELL et al., 1998). O raquitismo e a osteomalácea caracterizam-se por defeito de mineralização do osso. Usualmente estão presentes na criança até o fechamento das cartilagens de crescimento. Osteomalácea ocorre por defeito de mineralização da matriz óssea na vida adulta, ocasionando baixa densidade mineral

óssea, enquanto o raquitismo é o defeito de mineralização das cartilagens de crescimento na criança, caracterizando-se por retardo no crescimento e deformidades esqueléticas (LORENZO et al., 2008).

A osteoporose é tida como um dos maiores problemas de saúde pública do mundo (MITCHELL et al., 1998), em virtude da alta taxa de morbimortalidade relacionada com fraturas, particularmente entre mulheres idosas (PAIVA et al., 2002). A osteoporose é uma doença esquelética sistêmica, caracterizada por diminuição da massa óssea e deterioração microarquitetural do tecido ósseo, com consequente aumento da fragilidade óssea e suscetibilidade à fratura (NAVAS; LYLES, 2002).

Nesse contexto, a ingestão dietética adequada de cálcio constitui um pré-requisito fundamental para a diminuição do risco de osteoporose pós-menopausa, pois essa enfermidade está diretamente relacionada à quantidade de massa esquelética adquirida durante a infância e a adolescência. A adequada absorção desse mineral depende da quantidade de vitamina D presente no organismo e, nesse sentido, é importante ressaltar que o leite e derivados compõem uma das principais fontes dietéticas dessa vitamina (NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, 2000).

Ademais, diversos pesquisadores levantam a hipótese de o cálcio alterar o processo de absorção da gordura no organismo. Em estudo de revisão, Heaney et al. (2002) abordaram seis pesquisas observacionais e três ensaios controlados, com o intuito de avaliar o efeito da ingestão de cálcio sobre o peso ou gordura corporal. Esses autores constataram um efeito consistente da alta ingestão desse mineral, expresso em menor gordura e/ou peso corporal e reduzido ganho de peso durante e após a maturidade.

Da mesma maneira, Davies et al. (2000) descreveram a relação da ingestão de cálcio e o índice de massa corporal (IMC) de 348 mulheres jovens saudáveis, entre 19 e 26 anos. Nesse experimento, pela análise de regressão multivariada, foi desenvolvido um modelo de predição do IMC com base na ingestão dietética de fontes energéticas, cálcio e proteína, no qual foi encontrado um coeficiente de determinação de -0,003 ($P < 0,001$) para o termo referente à ingestão de cálcio, representando, dessa maneira, que, a cada dose diária de 100 mg desse mineral, ocorre uma diminuição média de $0,3 \text{ kg m}^{-2}$ do IMC.

Isso se deve, segundo Crisóstomo et al. (2007), ao fato de que a baixa ingestão de cálcio leva ao aumento dos níveis sanguíneos dessas substâncias, que agem nas células do tecido adiposo e aumentam a concentração de cálcio em seu interior. Esse aumento influencia a atividade enzimática relacionada à lipogênese e também o fator inibidor da lipólise, ou seja, a baixa ingestão de cálcio interfere no teor desse mineral no interior dos

adipócitos, favorecendo as vias metabólicas envolvidas no acúmulo de ácidos graxos nessas células (CRISÓSTOMO et al., 2007). Ademais, a dieta com alto teor de cálcio eleva a temperatura corporal central, reduzindo o acúmulo de gordura, enquanto a baixa concentração de cálcio na dieta diminui a temperatura corporal, aumentando esse acúmulo (DAVIES et al., 2000).

Já o fósforo está intimamente associado ao cálcio na nutrição humana, sendo chamado de seu gêmeo metabólico. O fósforo tem a função de tamponar sistemas ácidos ou alcalinos, auxiliando na manutenção do pH, no armazenamento temporário de energia provinda do metabolismo de macronutrientes, na forma de ATP, além de ser responsável pela ativação, por meio da fosforilação de diversas cascatas enzimáticas (COZZOLINO, 2007).

Um dos fatores que interferem na biodisponibilidade do fósforo diz respeito às interações que ocorrem entre esse elemento e o cálcio (BREMNER; BEATTIE, 1995; COZZOLINO, 2007). Para ajudar a manter o equilíbrio normal sérico de Ca/P, as quantidades desses minerais na dieta devem ser equilibradas (CALVO et al., 1988). Nesse sentido, diversos alimentos são considerados fontes de fósforo, porém merecem destaque o leite e derivados, pois, graças à excelente relação cálcio:fósforo (1:0,7), a biodisponibilidade desse mineral pode variar de 65% a 90% (COZZOLINO, 2007; KLAJN, 2005).

Vitaminas

A glândula mamária não pode sintetizar vitaminas; portanto, sua secreção no leite depende do aporte sanguíneo desses elementos. As vitaminas podem ser sintetizadas pelas bactérias do rúmen, a partir de pró-vitaminas no fígado, no intestino delgado e na pele e, por último, podem proceder diretamente dos alimentos. O leite contém todas as principais vitaminas. As vitaminas lipossolúveis A, D, E e K são encontradas basicamente na gordura do leite, porém com limitada quantidade de vitamina K (GONZÁLEZ et al., 2001).

A vitamina A tem como precursores os carotenoides, principalmente o β -caroteno. Os carotenoides possuem propriedades antioxidantes, que estão relacionadas à sua capacidade de capturar radicais e outras espécies reativas, como o oxigênio singlete, em condições de baixas concentrações e baixa pressão de oxigênio, tais como as encontradas na maioria dos tecidos em circunstâncias fisiológicas (BIANCHI; ANTUNES, 1999; VASCONCELOS et al., 2007). Em bovinos, a capacidade de conversão do β -caroteno em vitamina A é de 24%, ou seja, cada 1 mg de β -caroteno equivale a 400 UI de vitamina A (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Os bovinos transferem para o leite a vitamina A e o β -caroteno em resposta ao consumo dietético, mas a eficácia dessa conversão e da absorção do caroteno intacto depende da raça. Animais das raças Guernsey e Jersey apresentam menor capacidade de conversão do caroteno em vitamina A do que animais da raça Holandesa; por isso, as exigências nutricionais de caroteno dessas raças são maiores, mas as de vitamina A são idênticas. Dada essa maior absorção de caroteno intacto e da baixa conversão em vitamina A, o plasma sanguíneo tem mais caroteno e, por esse motivo, o leite apresenta-se com uma coloração mais amarelada (BERCHIELLI et al., 2011).

A vitamina D do leite bovino encontra-se na forma de vitamina D₂, que resulta da irradiação do ergosterol proveniente da dieta, e da vitamina D₃, um derivado do 7-deidrocolesterol, produzido por ação direta dos raios ultravioleta sobre o animal (GONZÁLEZ et al., 2001). Portanto, o conteúdo de vitamina D do leite está diretamente relacionado com a concentração de ergosterol da dieta e da exposição solar ao qual o animal está sendo submetido. Esse nutriente é importante no processo de absorção de cálcio e fósforo pelos intestinos, de mineralização, de crescimento e de reparo ósseo.

A vitamina E está presente no leite bovino na quantidade de 0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ (MUEHLHOFF et al., 2013), apresentando estreita relação com a quantidade presente na dieta, podendo ser aumentada em quatro a cinco vezes o seu valor médio. A vitamina E encontra-se principalmente na forma de α -tocoferol (> 85%) e em quantidades reduzidas nas formas de gama-tocoferol e alfa-tocotrienol. A vitamina E ou tocoferol é um antioxidante lipossolúvel que atua bloqueando a etapa de propagação da peroxidação lipídica dos ácidos graxos poli-insaturados das membranas e lipoproteínas. Atua interceptando o radical peroxila, com a formação do radical tocoferila, que será regenerado pela vitamina C, glutathiona ou ubiquinol a tocoferol (VASCONCELOS et al., 2007). Sua capacidade antioxidante está relacionada à presença de um grupo hidroxila ligado à porção hidrofóbica de sua molécula. O hidrogênio desse radical é facilmente removível. Sendo assim, o tocoferol adere-se à membrana celular, atraindo as moléculas de ácidos graxos poli-insaturados, para, posteriormente, ceder o hidrogênio fenólico aos radicais lipídicos livres, formados durante a peroxidação, formando o radical tocoferol-O, que, por possuir baixa reatividade, não inicia reações em cadeia. O complexo radical-tocoferol é eliminado parcialmente pela respiração, enquanto a outra parte é reconvertida em tocoferol (MILLER et al., 1993).

Estudos sobre a inter-relação entre vitamina E e selênio sugerem que esses elementos possuem atividade conjunta na prevenção de estresse celular oxidativo. Nesse caso, a vitamina E atua evitando a oxidação dos ácidos graxos insaturados da membrana celular,

enquanto o selênio atua na célula, modulando a atividade da enzima glutationa peroxidase, responsável pela metabolização dos radicais livres e consequente detoxificação celular.

Das vitaminas hidrossolúveis, algumas do complexo B são encontradas no leite. A vitamina B₁, conhecida como tiamina, tem papel essencial na transformação de energia e na condução nervosa e de membranas, além de ter função reconhecida no metabolismo de gorduras, proteínas, ácidos nucleicos e carboidratos. Também é encontrada a vitamina B₅, conhecida como ácido pantotênico, que, por sua vez, é essencial para o metabolismo celular, além, da presença da vitamina B₆, que está envolvida no metabolismo de aminoácidos, no funcionamento do sistema nervoso e também na saúde da pele. O leite também contém a vitamina B₁₂, que é essencial para o funcionamento normal do metabolismo de todas as células, especialmente para aquelas do trato gastrointestinal, da medula óssea e do tecido nervoso. A vitamina C, apesar de ser encontrada no leite, não constitui fonte importante para o ser humano, visto que uma grande parte do conteúdo de ácido ascórbico do leite é destruída no processo de pasteurização (GONZÁLEZ et al., 2001).

Considerações finais

Evidências de benefícios à saúde dos seres humanos relacionados aos componentes do leite bovino ganham, progressivamente, a credibilidade científica, depois de constatados seus efeitos sobre a prevenção de várias doenças, como hipertensão, doenças cardiovasculares, obesidade, osteoporose, câncer, diabetes e algumas doenças transmissíveis, além do valor nutricional intrínscio. Constitui, então, um dos principais alimentos com potencialidades funcionais e nutracêuticas produzidas naturalmente. Ao mesmo tempo, verifica-se que não há razões científicas que justifiquem a rejeição ao consumo de leite e derivados.

Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos [...]. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 3 maio 1999a.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 3 maio 1999b.

ALLESCHER, H. D.; STORR, M.; PILLER, C.; BRANTL, V.; SCHUSDZIARRA, V. Effect of opioid active therapeutics on the ascending reflex pathway in the rat ileum. **Neuropeptides**, v. 34, n. 3-4, p. 181-186, 2000.

- ANDLAUER, W.; FÜRST, P. Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. **Food Research International**, v. 35, n. 2-3, p. 171-176, 2002.
- BACH KNUDSEN, K. E.; SERENA, A.; CANIBE, N.; JUNTUNEN, K. S. New insight into butyrate metabolism. **Proceedings of Nutrition Society**, v. 62, p. 81-86, 2003.
- BARTSCH, H.; NAIR, J.; OWEN, R. W. Exocyclic DNA adducts as oxidative stress markers in colon carcinogenesis: potential role of lipid peroxidation, dietary fat and antioxidants. **Biological Chemistry**, v. 383, n. 6, p. 915-921, 2002.
- BELLAMY, W.; TAKASE, M.; YAMAUCHI, K.; WAKABAYASHI, H.; KAWASE, K.; TOMITA, M. Identification of the bactericidal domain of lactoferrin. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)**, v. 1121, n. 1-2, p. 130-136, 1992.
- BELURY, M. A. Inhibition of carcinogenesis by conjugated linoleic acid: potential mechanisms of action. **Journal of Nutrition**, v. 132, n. 10, p. 2995-2998, 2002.
- BELURY, M. A.; MAHON, A.; BANNI, S. The conjugated linoleic acid (CLA) isomer, t10c12- CLA, is inversely associated with changes in body weight and serum leptin in subjects with type 2 diabetes mellitus. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 1, p. 257-260, 2003.
- BENKERROUM, N. Antimicrobial peptides generated from milk proteins: a survey and prospectus for application in the food industry: a review. **International of Dairy Technology**, v. 63, n. 3, p. 320-338, 2010.
- BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2011. 616 p.
- BERGAMO, P.; FEDELE, E.; IANNIBELLI, L.; MARZILLO, G. Fat soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. **Food Chemistry**, v. 82, n. 4, p. 625-631, 2003.
- BERNE, R. M. **Fisiologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 636 p.
- BEUCHER, S.; LEVENEZ, F.; YVON, M.; CORRING, T. Effects of gastric digestive products from casein and CCK release by intestinal cells in rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 5, n. 12, p. 578-584, 1994.
- BHAT, Z. F.; BHAT, H. Milk and dairy products as functional foods: a review. **International Journal of Dairy Science**, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2011.
- BHATTACHARYA, A.; BANU, J.; RAHMAN, M.; CAUSEY, J.; FERNANDES, G. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 17, n. 12, p. 789-810, 2006.
- BIANCHI, M.; ANTUNES, L. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- BIONG, A. S.; VEIEROD, M. B.; RINGSTAD, J.; THELLE, D. S.; PEDERSEN, J. I. Intake of milk fat, reflected in adipose tissue fatty acids and risk of myocardial infarction: a case control study. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 60, n. 2, p. 236-244, 2006.
- BLANKSON, H.; STAKKESAD, J. A.; FAGERTUN, H.; THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 12, p. 2943-2948, 2000.
- BODNAR, R. J. Endogenous opiates and behavior: 2008. **Peptides**, v. 30, n. 12, p. 2432-2479, 2009.
- BOUNOUS, G.; BARUCHEL, S.; FALUTZ, J.; GOLD, P. Whey protein as a food supplement in HIV-seropositive individuals. **Clinical & Investigative Medicine**, v. 16, n. 3, p. 204-209, 1993.
- BOUNOUS, G.; KONGSHAVN, P.; GOLD, P. The immunoenhancing property of dietary whey protein concentrate. **Clinical & Investigative Medicine**, v. 11, n. 14, p. 271-278, 1998.
- BOURTOURAUULT, M.; BULEON, R.; SAMPEREZ, S.; JOUAN, P. Effet des protéines du lactosérum bovin sur la multiplication de cellules cancéreuses humaines. **Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et des ses Filiales**, v. 185, n. 5, p. 319-323, 1991.

BRASIL. Ministério da Saúde. Anexo C: porções de alimentos (em gramas) e medidas caseiras correspondentes. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Guia alimentar para alimentação brasileira: promovendo a alimentação saudável**. Brasília, DF, 2006. p. 215-220. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BREMNER, I.; BEATTIE, J. H. Copper and zinc metabolism in health and disease: speciation and interactions. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 54, n. 2, p. 489-499, 1995.

BURTON, A. F. Oncolytic effects of fatty acids in mice and rats. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 53, p. 1082s-1086s, 1991.

CALVO, M. S.; KUMAR, R.; HEATH, H. Elevated secretion and action of serum parathyroid hormone in young adults consuming high phosphorus, low calcium diets assembled from common foods. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 66, n. 4, p. 823-829, 1988.

CASÉ, F.; DELIZA, R.; ROSENTHAL, A.; MANTOVANI, D.; FELBERG, I. Produção de 'leite' de soja enriquecido com cálcio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 86-91, 2005.

CHAWLA, R.; PATIL, G. R. Soluble dietary fiber. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 2, p. 178-196, 2010.

CHMIEL, J. F. Anti-tumor effects of dietary whey protein and its value for head and neck cancer patients. In: INTERNATIONAL WHEY CONFERENCE, 3., 1997, Chicago. **Proceedings...** Brussels: International Dairy Federation; 1998. p. 310-314.

CHOUINARD, P. Y.; BAUMAN, B. A.; BAUMGARD, M. A. An update on conjugated linoleic acid. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FEED MANUFACTORY, 1999, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1999. p. 93-101.

CLARE, D. A.; CATIGNANI, G. L.; SWAISGOOD, H. E. Biodefense properties of milk: the role of antimicrobial proteins and peptides. **Current Pharmaceutical Design**, v. 9, n. 16, p. 1239-1255, 2003.

CLARE, D. A.; SWAISGOOD, H. E. Bioactive milk peptides: a prospectus. **Journal Dairy Science**, v. 83, n. 6, p. 1187-1195, 2000.

COLES, B.; KETTERER, B. The role of glutathione and glutathione transferases in chemical carcinogenesis. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 25, n. 1, p. 47-70, 1990.

CORL, B. A.; BAUMGARD, L. H.; DWYER, D. A.; GRIINARI, J. M.; PHILLIPS, B. S.; BAUMAN, D. E. The role of delta-9-desaturase in the production of cis-9, trans-11. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 12, n. 11, p. 622-630, 2001.

COWLES, R. L.; LEE, J. Y.; GALLAHER, D. D.; STUEFER-POWELL, C. L.; CARR, T. P. Dietary stearic acid alters gallbladder bile acid composition in hamsters fed cereal-based diets. **Journal of Nutrition**, v. 132, n. 10, p. 3119-3122, 2002.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2007. 1368 p.

CRISÓSTOMO, N. L.; CRISÓSTOMO, N. L.; MONTE, R.; NAVARRO, F.; SOARES NETO, J. Relação da obesidade e cálcio: uma abordagem de estudos realizados. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 1, n. 4, p. 16-24, 2007.

CRUZ-HERNANDEZ, C.; KRAMER, J. K.; KENNELLY, J. J.; GLIMM, D. R.; SORENSEN, B. M.; OKINE, E. K.; GOONEWARDENE, L. A.; WESELAKE, R. J. Evaluating the conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amounts of sunflower oil and a constant level of fish oil. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 8, p. 3786-3801, 2007.

DAVIES, K. M.; HEANEY, R. P.; RECKER, R. R.; LAPPE, J. M.; BARGER-LUX, M. J.; RAFFERTY, K.; HINDERS, S. Calcium intake and body weight. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 85, n. 12, p. 4635-4638, 2000.

DEFELICE, S. L. The nutraceutical revolution: its impact on food industry R & D. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, n. 2, p. 59-61, 1995.

DI SABATINO, A.; MORERA, R.; CICCOCIOPPO, R.; CAZZOLA, P.; GOTTI, S.; TINOZZI, F. P.; TINOZZI, S.; CORAZZA, G. R. Oral butyrate for mildly to moderately active crohn's disease. **Alimentaria Pharmacology & Therapeutics**, v. 22, n. 9, p. 789-794, 2005.

ELWOOD, P. C.; ELWOOD, P. C.; PICKERING, J. E.; HUGHES, J.; FEHILY, A. M.; NESS, A. R. Milk drinking, ischaemic heart disease and ischaemic stroke: II. evidence from cohort studies. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 58, n. 5, p. 718-724, 2004.

FERNANDEZ, M. L. Guinea pigs as models for cholesterol and lipoprotein metabolism. **Journal of Nutrition**, v. 131, n. 1, p. 10-20, 2001.

FITZGERALD, R. J. Potential uses of caseinophosphopeptides. **International Dairy Journal**, v. 8, n. 5-6, p. 451-457, 1998.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P. **Fundamentals of cheese science**. New York: Aspen, 2000. 587 p.

FUKE, G.; NÖRNBERG, J.; RODRIGUES, I.; NOVACK, M.; BEZERRA, A.; SOUZA, A. P. Teor de CLA em leites produzidos em diferentes regiões do Estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 109-113, 2012.

GAO, Z.; YIN, J.; ZHANG, J.; WARD, R. E.; MARTIN, R. J.; LEFEVRE, M.; CEFALU, W. T.; YE, J. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. **Diabetes**, v. 58, n. 7, p. 1509-1517, 2009.

GAZE, B. S.; NANJI, D. P.; OLIVEIRA, V. A. J.; CLEMENTE, M. Efeitos da suplementação de ácido linoléico conjugado (CLA) e a perda de peso em animais e humanos. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 1, n. 4, p. 48-56, 2007.

GERMAN, J. B. Butyric acid: a role in cancer prevention. **Nutrition Bulletin**, v. 24, n. 4, p. 203-209, 1999.

GERMAN, J. B.; DILLARD, C. J. Composition, structure and absorption of milk lipids: a source of energy, fat-soluble nutrients and bioactive molecules. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 1, p. 57-92, 2006.

GERRIOR, S.; PUTNAM, J.; BENTE, L. Milk and milk products: their importance in the American diet. **Food Review**, v. 21, n. 2, p. 29-37, 1998.

GOBBETTI, M.; MINERVINI, F.; RIZZELLO, C. G. Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, n. 2-3, p. 173-188, 2004.

GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2001. 72 p.

GRUNDY, S. M. Influence of stearic acid on cholesterol metabolism relative to other long-chain fatty acids. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 60, p. 986s-980s, 1994.

HA, Y. L.; STORKSON, J.; PARIZA, M. W. Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. **Cancer Research**, v. 50, n. 4, p. 1097-1101, 1990.

HAQUE, E.; CHAND, R. Antihypertensive and antimicrobial bioactive peptides from milk proteins. **European Food Research and Technology**, v. 227, n. 1, p. 7-15, 2008.

HARTMANN, R.; MEISEL, H. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 18, n. 2, p. 163-169, 2007.

HAUG, A.; HØSTMARK, A. T.; HARSTAD, O. M. Bovine milk in human nutrition: a review. **Lipids in Health and Disease**, v. 6, p. 1-16, 2007.

HEANEY, R. P.; DAVIES, K. M.; BARGER-LUX, M. J. Calcium and weight: clinical studies. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 152S-155S, 2002.

HEGSTED, D. M.; AUSMAN, L. M.; JOHNSON, J. A.; DALLAL, G. E. Dietary fat and serum lipids: an evaluation of the experimental data. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, n. 6, p. 875-883, 1993.

- IKEDA, K.; TOJO, K.; SATO, S.; EBISAWA, T.; TOKUDOME, G.; HOSOYA, T.; HARADA, M.; NAKAGAWA, O.; NAKAO, K. Urocortin, a newly identified corticotropin-releasing factor-related mammalian peptide, stimulates atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide secretions from neonatal rat cardiomyocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 250, n. 2, p. 298-304, 1998.
- IP, C.; SCIMECA, J. A. Conjugated linoleic acid and linoleic acid are distinctive modulators of mammary carcinogenesis. **Nutrition Cancer**, v. 27, n. 2, p. 131-135, 1997.
- IP, C.; SCIMECA, J. A.; THOMPSON, H. Effect of timing and duration of dietary conjugated linoleic acid on mammary cancer prevention. **Nutrition and Cancer**, v. 24, n. 3, p. 241-247, 1995.
- JAE-YOUNG, J.; PYO-JAM, P.; HEE-GUK, B.; WON-KYO, J.; SE-KWON, K. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptide derived from the sauce of fermented blue mussel, *Mytilus edulis*. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 14, p. 1624-1629, 2005.
- JENSEN, R. G. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 2, p. 295-350, 2002.
- JURADO, E.; CAMACHO, F.; LUZÓN, G.; VICARIA, J. M. A new kinetic model proposed for enzymatic hydrolysis of lactose by a β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, n. 3, p. 300-309, 2002.
- KAY, J. K.; MACKLE, T. R.; AULDIST, M. J.; THOMSON, N. A.; BAUMAN, D. E. Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 2, p. 369-378, 2004.
- KELLY, F. D.; SINCLAIR, A. J.; MANN, N. J.; TURNER, A. H.; ABEDIN, L.; LI, D. A stearic acid-rich diet improves thrombogenic and atherogenic risk factor profiles in healthy males. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 55, n. 2, p. 88-96, 2001.
- KHANAL, R. C.; DHIMAN, T. R.; URE, A. L.; BRENNAND, C. P.; BOMAN, R. L.; MCMAHON, D. J. Consumer acceptability of conjugated linoleic acid-enriched milk and cheddar cheese from cows grazing on pasture. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 5, p. 1837-1847, 2005.
- KLAJN, V. M. **Curso teórico-prático sobre qualidade físico-química do leite**. Santa Rosa: Unijuí, 2005. 87 p.
- KNEKT, P.; JÄRVINEN, R.; SEPPÄNEN, R.; PUKKALA, E.; AROMAA, A. Intake of dairy products and the risk of breast cancer. **British Journal of Cancer**, v. 73, n. 5, p. 687-691, 1996.
- KORHONEN, H.; PIHLANTO, A. Bioactive peptides: production and functionality. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 9, p. 945-960, 2006.
- KRIS-ETHERTON, P. M.; PEARSON, T. A.; WAN, Y.; HARGROVE, R. L.; MORIARTY, K.; FISHELL, V.; ETHERTON, T. D. High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, n. 6, p. 1009-1015, 1999.
- KRUIF, C. G. de; GRINBERG, V. Y. Micellisation of β -casein. **Colloids and Surface A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 210, n. 2-3, p. 183-190, 2002.
- LAHOV, E.; REGELSON, W. Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk: casecidin, isracidin peptides. **Food and Chemical Toxicology**, v. 34, n. 1, p. 131-145, 1996.
- LARSSON, S. C.; BERGKVIST, L.; WOLK, A. High-fat dairy food and conjugated linoleic acid intakes in relation to colorectal cancer incidence in the Swedish Mammography Cohort. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 82, n. 4, p. 894-900, 2005.
- LEDOUX, M.; CHARDIGNY, J.-M.; DARBOIS, M.; SOUSTRE, Y.; SÉBÉDIO, J.-L.; LALOUX, L. Fatty acid composition of French butters, with special emphasis on conjugated linoleic acid (CLA) isomers. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, n. 5, p. 409-425, 2005.
- LIBBY, P. Atherosclerosis: the new view. **Scientific American**, v. 286, n. 5, p. 29-37, 2002.

- LICHTENSTEIN, A. H.; ERKKILÄ, A. T.; LAMARCHE, B.; SCHWAB, U. S.; JALBERT, S. M.; AUSMAN, L. M. Influence of hydrogenated fat and butter on CVD risk factors: remnant-like particles, glucose and insulin, blood pressure and C-reactive protein. **Atherosclerosis**, v. 171, n. 1, p. 97-107, 2003.
- LIGNITTO, L.; CAVATORTA, V.; BALZAN, S.; GABAI, G.; GALAVERNA, G.; NOVELLI, E.; SFORZA, S.; SEGATO, S. Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of water-soluble extracts of Asiago d'allevio cheese. **International Dairy Journal**, v. 20, n. 1, p. 11-17, 2010.
- LORENZO, J. A.; CANALIS, E.; RAISZ, L. G. Metabolic bone disease. In: KRONENBERG, H. M.; MELMED, S.; POLONSKY, K. S.; LARSEN, P. R. (Ed.). **Williams textbook of endocrinology**. 11th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2008. p. 1269-1310.
- LORGERIL, M. de; RENAUD, S.; MAMELLE, N.; SALEN, P.; MARTIN, J. L.; MONJAUD, I.; GUIDOLLET, J.; TOUBOUL, P.; DELAYE, J. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. **Lancet**, v. 343, n. 8911, p. 1454-1459, 1994.
- MACFARLENE, G. T.; STEED, H.; MACFARLENE, S. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, n. 2, p. 305-344, 2008.
- MAHAM, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. M. A. **Krause**: alimentos, nutrição e dietoterapia. 10. ed. São Paulo: Roca, 2002. 1157 p.
- MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; CARDELLE-COBAS, A.; OLANO, A.; CORZO, N.; VILLAMIEL, M.; JIMENO, M. L. Enzymatic synthesis and identification of two trisaccharides produced from lactulose by transgalactosylation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 2, p. 557-563, 2008.
- MARTINS, A. R.; BURKERT, C. A. V. Galacto-oligosacarídeos (GOS) e seus efeitos prebióticos e bifidogênicos: review. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 3, p. 230-240, 2009.
- MCINTOSH, G. H.; LE LEU, R. K. The influence of dietary proteins on colon cancer risk. **Nutrition Research**, v. 21, n. 7, p. 1053-1066, 2001.
- MCINTOSH, G. H.; REGESTER, G. O.; LE LEU, R. K.; ROYLE, P. J.; SMITHERS, G. W. Dairy proteins protect against dimethylhydrazine-induced intestinal cancers in rats. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 4, p. 809-816, 1995.
- MEDEIROS, S. R. **Ácido linoléico conjugado**: teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de ácidos graxos modificados. 2002. 114 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade Federal de São Paulo, Piracicaba.
- MEISEL, H. Overview on milk protein-derived peptides. **International Dairy Journal**, v. 8, n. 5, p. 363-373, 1998.
- MEISEL, H.; BOCKELMANN, W. Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and thropho-functional properties. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 76, n. 1-4, p. 207-215, 1999.
- MEISEL, H.; FITZGERALD, R. J. Biofunctional peptides from milk proteins: mineral binding and cytomodulatory effects. **Current Pharmaceutical Design**, v. 9, n. 16, p. 1289-1295, 2003.
- MELO, A. Soro do leite estimula sistema imunológico. **Ciência Hoje On-line**, 2006. Disponível em: <<http://cienciahoje.uol.com.br/controlPanel/materia/view/2929>>. Acesso em: 12 mar. 2013.
- MENSINK, R. P.; ZOCK, P. L.; KESTER, A. D.; KATAN, M. B. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, n. 5, p. 1146-1155, 2003.
- MEYER, J.; BÜTIKOFER, U.; WALTHER, B.; WECHSLER, D.; SIEBER, R. Hot topic: changes in angiotensin-converting enzyme inhibition and concentrations of the tripeptides Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro during ripening of different Swiss cheese varieties. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 3, p. 826-836, 2009.
- MILLER, G. D.; JARVIS, J. K.; MCBEAN, L. D. The importance of meeting calcium needs with foods. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 20, suppl. 2, p. 168S-185S, 2001.

MILLER, J. K.; BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA, E.; MADSEN, F. C. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 9, p. 2812-2823, 1993.

MITCHELL, S. L.; GRANT, S.; AITCHISON, T. Physiological effects of exercise on post-menopausal osteoporotic women. **Physiotherapy**, v. 84, n. 4, p. 157-163, 1998.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios á saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-112, 2006.

MUEHLHOFF, E.; BENNETT, A.; MCMAHON, D. (Ed.). **Milk and dairy products in human nutrition**. Rome: FAO, 2013. 376 p.

NABET, P.; LINDEN, G. Constituents bioactifs in leits nutrition et same. **Tec&Doc**, p. 169-187, 2001.

NAGAOKA, S.; KANAMARU, Y.; KUZUYA, Y.; KOJIMA, T.; KUWATA, T. Comparative studies on the serum cholesterol lowering action of whey protein and soybean protein in rats. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 56, n. 9, p. 1484-1485, 1992.

NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH. Consensus development program: "consensus statements". **Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy**, v. 17, n. 1, p. 27-29, 2000.

NAVAS, L. R.; LYLES, K. W. Osteoporose. In: DUTHIE, K. (Ed.). **Geriatrics prática**. 3. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2002. p. 211-220.

NEESER, J. R.; GOLLIARD, M.; WOLTZ, A.; ROUVET, M.; DILLMANN, M. L.; GUGGENHEIM, B. In vitro modulation of oral bacterial adhesion to saliva-coated hydroxyapatite beads by milk casein derivatives. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 9, n. 4, p. 193-201, 1994.

NIELSEN, M. S.; MARTINUSSEN, T.; FLAMBARD, B.; SORENSEN, K. I.; OTTE, J. Peptide profiles and angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity of fermented milk products: effect of bacterial strain, fermentation pH, and storage time. **International Dairy Journal**, v. 19, n. 3, p. 155-165, 2009.

O'SHEA, M.; BASSAGANYA-RIERA, J.; MOHEDE, I. C. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, suppl. 6, p. 1199-1206, 2004.

OSTROWSKA, E.; MURALITHARAN, M.; CROSS, R. F.; BAUMAN, D. E.; DUNSHEA, F. R. Dietary conjugated acid increases lean tissue and decreases fat deposition in growing pigs. **Journal of Nutrition**, v. 129, n. 11, p. 2037-2042, 1999.

PACHECO, M. T. B.; BIGHETTI, E.; ANTÔNIO, M.; CARVALHO, J. E. de; ROSANELI, C. F.; SGARBIERI, V. C. Efeito de um hidrolisado de proteínas de soro de leite e de seus peptídeos na proteção de lesões ulcerativas da mucosa gástricas de ratos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 1, p. 47-55, 2006.

PACHECO, M. T. B.; DIAS, N. F. G.; BALDINI, V. L. S.; TANIKAWA, C.; SGARBIERI, V. C. Propriedades funcionais de hidrolisados obtidos a partir de concentrados protéicos de soro de leite. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 333-338, 2005.

PAIVA, L. C.; FILARDI, S.; PINTO-NETO, A. M.; SAMARA, A.; MARQUES NETO, J. F. Impact of degenerative radiographic abnormalities and vertebral fractures on spinal bone density of women with osteoporosis. **São Paulo Medical Journal**, v. 120, n. 1, p. 9-12, 2002.

PAPENBURG, R.; BOUNOUS, G.; FLEISZER, D.; GOLD, P. Dietary milk proteins inhibit the development of dimethylhydrazine-induced malignancy. **Tumour Biology**, v. 11, n. 3, p. 129-136, 1990.

PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Research**, v. 40, n. 4, p. 283-298, 2001.

PARK, H. S.; CHO, H. Y.; HA, Y. L.; PARK, J. H. Dietary conjugated linoleic acid increases the mRNA ratio of Bax/Bcl-2 in the colonic mucosa of rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 15, n. 4, p. 229-235, 2004.

PARK, Y.; ALBRIGHT, K. J.; LIU, W.; STORKSON, J. M.; COOK, M. E.; PARIZA, M. W. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. **Lipids**, v. 32, n. 8, p. 853-858, 1997.

- PARK, Y.; PARIZA, M. W. Evidence that commercial calf and horse sera can contain substantial amounts of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid. **Lipids**, v. 33, n. 8, p. 817-819, 1998.
- PARK, Y.; PARIZA, M. W. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). **Food Research International**, v. 40, n. 3, p. 311-323, 2007.
- PARODI, P. W. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 6, p. 1339-1349, 1999.
- PEREDA, J. A. O. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. 2, 279 p.
- PEREIRA, G. A. P.; GENARO, P. S.; PINHEIRO, M. M.; SZEJNFELD, V. L.; MARTINI, L. A. Cálcio dietético: estratégias para otimizar o consumo. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 49, n. 2, p. 164-180, 2009.
- PHELAN, M.; AHERNE-BRUCE, S. A.; O'SULLIVAN, D.; FITZGERALD, R. J.; O'BRIEN, N. M. Potential bioactive effects of casein hydrolysates on human cultured cells. **International Dairy Journal**, v. 19, n. 5, p. 279-285, 2009.
- PIHLANTO-LEPPÄLA, A.; ROKKA, T.; KORHONEN, H. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides derived from bovine milk proteins. **International Dairy Journal**, v. 8, n. 4, p. 325-331, 1998.
- PRIPP, A. H.; SORENSEN, R.; STEPANIAK, L.; SORHAUG, T. Relationship between proteolyses and angiotensin-I-converting enzyme inhibition in different cheeses. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 6, p. 677-683, 2006.
- RAINER, L.; HEISS, C. J. Conjugated linoleic acid: health implications and effects on body composition: a review. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 104, n. 6, p. 963-968, 2004.
- RITZENTHALER, K. L.; MCGUIRE, M. K.; FALEN, R.; SHULTZ, T. D.; DASGUPTA, N.; MCGUIRE, M. A. Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. **Journal of Nutrition**, v. 131, n. 5, p. 1548-1554, 2001.
- RIVERO-URGELL, M.; SANTAMARIA-ORLEANS, A.; SEUMA, M. R. P. La importancia de los ingredientes funcionales en las leches y cereales infantiles. **Nutrición Hospitalaria**, v. 20, n. 2, p. 135-146, 2005.
- ROCHE, H. M.; NOONE, E.; GIBNEY, M. J. Conjugated linoleic acid: a novel therapeutic nutrient? **Nutrition Research Review**, v. 14, n. 1, p. 173-187, 2001.
- ROSANELI, C. F.; BIGHETTI, A. E.; ANTÔNIO, M. A.; CARVALHO, J. E.; SGARBIERI, V. C. Efficacy of a whey protein concentrate on the inhibition of stomach ulcerative lesions caused by ethanol ingestion. **Journal of Medicinal Food**, v. 5, n. 4, p. 221-228, 2002.
- ROSANELI, C. F.; BIGHETTI, A. E.; ANTÔNIO, M. A.; CARVALHO, J. E.; SGARBIERI, V. C. Protective effect of bovine milk whey protein concentrate on the ulcerative lesions caused by subcutaneous administration of indomethacin. **Journal of Medicinal Food**, v. 7, n. 3, p. 309-314, 2004.
- ROY, M. K.; KUWABARA, Y.; HARA, K.; WATANABE, Y.; TAMAI, Y. Peptides from the N-terminal end of bovine lactoferrin induce apoptosis in human leukemic (HL-60) cells. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 9, p. 2065-2074, 2002.
- RYDER, J. W.; PORTOCARRERO, C. P.; SONG, X. M.; CUI, L.; YU, M.; COMBATSIARIS, T.; GALUSKA, D.; BAUMAN, D. E.; BARBANO, D. M.; CHARRON, M. J.; ZIERATH, J. R.; HOUSEKNECHT, K. L. Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid: improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression. **Diabetes**, v. 50, n. 5, p. 1149-1157, 2001.
- SAINT-SAUVEUR, D.; GAUTHIER, S. F.; BOUTIN, Y.; MONTONI, A. Immunomodulating properties of a whey protein isolate, its enzymatic digest and peptide fractions. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 3, p. 260-270, 2008.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégia para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 2. ed. Barueri: Manole, 2007. 314 p.

- SCHAAFSSMA, G. Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 5, p. 458-465, 2008.
- SCHANBACHER, F. L.; TALHOUK, R. S.; MURRAY, F. A.; GHERMAN, L. I.; WILLET, L. B. Milk-born bioactive peptides. **International Dairy Journal**, v. 8, n. 5-6, p. 393-403, 1998.
- SCHOLZ-AHRENS, K. E.; SCHREZENMEIR, J. Effects of bioactive substances in milk on mineral and trace element metabolism with special reference to casein phosphopeptides. **British Journal of Nutrition**, v. 84, suppl. 1, p. S147-S153, 2000.
- SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 397-409, 2004.
- SHAH, N. P. Effects of milk-derived bioactives: an overview. **British Journal of Nutrition**, v. 84, suppl. 1, p. S3-S10, 2000.
- SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Bioactive peptides. **Journal of AOAC International**, v. 91, n. 4, p. 914-931, 2008.
- SIES, H. Glutathione and its role in cellular functions. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 27, n. 9-10, p. 916-921, 1999.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 310 p.
- SILVA, S. V.; MALCATA, F. X. Caseins as source of bioactive peptides. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 1, p. 1-15, 2005.
- SMITH, J. G.; YOKOYAMA, W. H.; GERMAN, J. B. Butyric acid from the diet: actions at the level of gene expression. **Critical Reviews in Food Science**, v. 38, n. 4, p. 259-297, 1998.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Departamento de Aterosclerose. IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, p. 2-19, 2007. Suplemento 1.
- STEIJNS, J. M. Dairy products and health: focus on their constituents or on the matrix? **International Dairy Journal**, v. 18, n. 5, p. 425-435, 2008.
- STURNER, R. A.; CHANG, K. J. Opioid peptide content in infant formulas. **Pediatric Research**, v. 23, p. 4-10, 1988.
- SUN, C. Q.; O'CONNOR, C. J.; ROBERTON, A. M. Antibacterial actions of fatty acids and monoglycerides against *Helicobacter pylori*. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 36, n. 1-2, p. 9-17, 2003.
- SUNDRAM, K.; HAYES, K. C.; SIRU, O. H. Dietary palmitic acid results in lower serum cholesterol than does a lauric-myristic acid combination in normolipemic humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 59, n. 4, p. 841-846, 1994.
- TEMME, E. H.; MENSINK, R. P.; HORNSTRA, G. Effects of medium chain fatty acids (MCFA) and oleic acid on serum lipoproteins in healthy subjects. **Journal of Lipid Research**, v. 38, n. 9, p. 1746-1754, 1997.
- THOM, E.; WADSTEIN, J.; GUDMUNDSEN, O. Conjugated linoleic acid reduces body fat in healthy exercising humans. **Journal of International Medical Research**, v. 29, n. 5, p. 392-396, 2001.
- THORMAR, H.; ISAACS, E. E.; KIM, K. S.; BROWN, H. R. Inactivation of visna virus and other enveloped viruses by free fatty acids and monoglycerides. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 724, p. 465-471, 1994.
- TOOMEY, S.; ROCHE, H.; FITZGERALD, D.; BELTON, O. Regression of pre-established atherosclerosis in the apoE-/- mouse by conjugated linoleic acid. **Biochemical Society Transactions**, v. 31, n. 5, p. 1075-1079, 2003.
- TORRUCO-UCO, J. G.; DOMÍNGUEZ-MAGAÑA, M. A.; DÁVILA-ORTÍZ, G.; MARTÍNEZ-AYALA, A.; CHEL-GUERRERO, L. A.; BETANCUR-ANCONA, D. A. Péptidos antihipertensivos, uma alternativa de tratamento de origen natural: una revisión. **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, v. 6, n. 2, p. 158-168, 2008.

- TRICON, S.; BURDGE, G. C.; JONES, E. L.; RUSSELL, J. J.; EL-KHAZEN, S.; MORETTI, E.; HALL, W. L.; GERRY, A. B.; LEAKE, D. S.; GRIMBLE, R. F.; WILLIAMS, C. M.; CALDER, P. C.; YAQOOB, P. Effects of dairy products naturally enriched with cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid on the blood lipid profile in healthy middle-aged men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 4, p. 744-753, 2006.
- TRICON, S.; BURDGE, G. C.; KEW, S.; BANERJEE, T.; RUSSELL, J. J.; JONES, E. L.; GRIMBLE, R. F.; WILLIAMS, C. M.; YAQOOB, P.; CALDER, P. C. Opposing effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 3, p. 614-620, 2004.
- TRIGO, J. M.; MARTIN-GARCÍA, E.; BERRENDERO, F.; ROBLEDO, P.; MALDONADO, R. The endogenous opioid system: a common substrate in drug addiction. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 108, n. 3, p. 183-194, 2010.
- TUNGLAND, B. C.; MEYER, D. Nondigestible oligo- and polysaccharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 1, n. 3, p. 90-109, 2002.
- TURPEINEN, A. M.; MUTANEN, M.; ARO, A.; SALMINEN, I.; BASU, S.; PALMQUIST, D. L.; GRINARI, J. M. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, n. 3, p. 504-510, 2002.
- VALSECHI, O. A. **O leite e seus derivados**. Araras: Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Socioeconomia Rural – Universidade Federal de São Carlos, 2001. 36 p.
- VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. de F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. da S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.
- VERNIA, P.; DI CAMILLO, M.; MARINARO, V. Lactose malabsorption, irritable bowel syndrome and self-reported milk intolerance. **Digestive and Liver Disease**, v. 33, n. 3, p. 234-239, 2001.
- VOET, D. **Fundamentos de bioquímica: a vida em nível molecular**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 215 p.
- VOGEL, F. **Genética humana: problemas e abordagens**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 684 p.
- WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A.; VAN BOEKEL, M. A. **Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 2001. 730 p.
- WALSTRA, P.; JENNES, R. **Química y física lactológica**. Zaragoza: Acribia, 1984. 423 p.
- WALZEM, R. L. Propriedades benéficas à saúde das proteínas de soro e frações de soro: produtos e bebidas nutricionais. **Texas A & M University**, p. 1-8, 1999.
- WANG, Y. M.; JONES, P. J. H. Conjugated linoleic acid and obesity control: efficacy and mechanisms. **International Journal of Obesity**, v. 28, n. 8, p. 941-955, 2004.
- WARENSJÖ, E.; JANSSON, J. H.; BERGLUND, L.; BOMAN, K.; AHRÉN, B.; WEINEHALL, L.; LINDAHL, B.; HALLMANS, G.; VESSBY, B. Estimated intake of milk fat is negatively associated with cardiovascular risk factors and does not increase the risk of a first acute myocardial infarction: a prospective case-control study. **British Journal of Nutrition**, v. 91, n. 4, p. 635-642, 2004.
- WILSON, T. A.; WILSON, T. A.; NICOLOSI, R. J.; CHRYSAM, M.; KRITCHEVSKY, D. Conjugated linoleic acid reduces early aortic atherosclerosis greater than linoleic acid in hypercholesterolemic hamsters. **Nutrition Research**, v. 20, n. 12, p. 1795-1805, 2000.
- YAMASAKI, M.; KISHIHARA, K.; MANSHO, K.; OGINO, Y.; KASAI, M.; SUGANO, M.; TACHIBANA, H.; YAMADA, K. Dietary conjugated linoleic acid increases immunoglobulin productivity of Sprague-Dawley rat spleen lymphocytes. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 64, n. 10, p. 2159-2164, 2000.

MASTITE E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Maria Edi Rocha Ribeiro
Giovani Jacob Kolling
Maira Balbinotti Zanela

Introdução

Segundo Philpot e Nickerson (2002), a palavra “mastite” é derivada da palavra grega *mastos* (que significa “mama”) e *itis* (que significa “inflamação”). A inflamação da glândula mamária é proveniente de trauma ou lesão do úbere, de irritação química e, sobretudo, de infecção causada por microrganismos, especialmente por bactérias.

A mastite bovina é a maior causa de perdas econômicas na cadeia produtiva do leite, especialmente em virtude da redução da produção (LESCOURRET; COULON, 1994). Essa redução ocorre por conta das alterações nas células epiteliais secretoras e na permeabilidade vascular no alvéolo, durante a infecção. A dimensão da perda é influenciada por inúmeros fatores, como gravidade da infecção, tipo de microrganismo causador, duração da infecção, idade do animal, época do ano, estado nutricional e potencial genético do animal (SCHULTZ, 1977).

Formas de mastite

A mastite pode se manifestar de forma clínica ou subclínica. A forma clínica compreende os casos da doença em que existem sinais evidentes de inflamação, como edema, aumento de temperatura, endurecimento e dor na glândula mamária, e/ou aparecimento de grumos, pus ou qualquer alteração das características do leite, sendo essas diagnosticadas, principalmente, pela visualização de grumos no teste da caneca de fundo preto (BRADLEY, 2002; FONSECA; SANTOS, 2000). Na forma subclínica, não ocorrem mudanças visíveis no aspecto do leite, mas, sim, alterações na composição do leite (CULLOR et al., 1994).

A mastite subclínica pode ser detectada pela contagem direta ou indireta de células somáticas no leite. Essas são compostas basicamente por dois tipos de célula: células de descamação do epitélio secretor e leucócitos de origem do sangue, sendo que estes últimos se apresentam com elevadas concentrações nos casos de mastite (RIBEIRO et al., 2003). Swinkels (2005) identifica a mastite subclínica nos animais que apresentam, por 2 semanas consecutivas, contagem de células somáticas (CCS) acima de 250 mil. O California Mastitis Test (CMT) é um dos testes mais utilizados no diagnóstico da mastite subclínica, sendo um indicador indireto da contagem de células somáticas no leite. Consiste na coleta, individual, de leite dos quartos mamários, em uma raquete apropriada, adicionando-se, nessa alíquota de leite, um detergente aniônico neutro, que atua rompendo a membrana das células e liberando o material nucleico (DNA), que apresenta elevada viscosidade. De acordo com a intensidade, o grau da reação classifica-se com cruzes (+): negativa [0], reação leve [+], moderada [++] e intensa [+++] (FONSECA; SANTOS, 2000).

A expressão “células somáticas do leite” é utilizada para designar todas as células presentes no leite, incluindo as de origem sanguínea (leucócitos) e as de descamação do epitélio glandular secretor. Diversos fatores afetam a contagem de células somáticas (CCS), sendo a mastite o principal. Mas a CCS também pode ser alterada pela época do ano, pelo estágio da lactação e pela idade da vaca (COSTA; WATANABE, 1999).

A contagem de células somáticas é utilizada para fazer uma avaliação indireta da saúde da glândula mamária de fêmeas em lactação. Utiliza-se, como referência, o aumento da concentração de células de defesa no leite, que é uma estimativa precisa do nível de infecção do úbere (LARANJA; AMARO, 1998).

A análise de CCS vem sendo realizada há mais de 40 anos na pecuária leiteira. Além de ser um indicativo da avaliação da saúde animal, como auxiliar no diagnóstico de mastite, também é utilizada como parâmetro de avaliação da qualidade do leite (LARANJA; AMARO, 1998). Como se sabe, quadros de mastite levam ao aumento da passagem de cloreto de sódio direto do sangue para o leite, gerando um desequilíbrio salino, o que pode interferir na estabilidade do leite (TOZZETTI et al., 2008).

A CCS no leite é um indicador da incidência de mastite subclínica aceito internacionalmente como medida para determinar a qualidade microbiológica (OSTRENSKY, 1999) e monitorar o estado inflamatório das glândulas mamárias (PHILPOT; NICKERSON, 2002), sendo considerados animais sadios aqueles que possuem CCS individual no leite menor que $250 \times 10^3 \text{ mL}^{-1}$ (LEITE et al., 2006; FONSECA; SANTOS, 2000). A CCS é um fenômeno biológico dinâmico, que está sujeito a uma variação significativa, e o fator que exerce maior

influência sobre o nível de células somáticas no leite é a infecção intramamária (PHILPOT; NICKERSON, 2002). A elevação na CCS está ligada à diminuição da produção de leite, em até 43%, decorrente de danos físicos causados às células epiteliais secretoras e de alterações na permeabilidade vascular do alvéolo secretor (DIAZ GONZÁLEZ; NORO, 2011). As principais mudanças na composição do leite de acordo com o aumento da CCS podem ser visualizadas na Tabela 1.

Tabela 1. Mudanças na composição do leite associadas com elevada CCS.

Componente do leite	CCS × 10 ³ células por mL				Alteração e motivo
	< 100	< 250	500 a 1.000	> 1.000	
Lactose	4,900	4,740	4,600	4,210	Redução da síntese
Caseína (total)	2,810	2,790	2,650	2,250	
Gordura	3,740	3,690	3,510	3,130	
Proteínas séricas (total)	0,810	0,820	1,100	1,310	Aumento da passagem a partir do sangue
Soroalbuminas	0,020	0,150	0,230	0,350	
Imunoglobulinas	0,120	0,140	0,260	0,510	
Cloro	0,091	0,096	0,121	0,147	
Sódio	0,057	0,062	0,091	0,105	
Potássio	0,173	0,180	0,135	0,157	
pH	6,6	6,6	6,8	6,9	

CCS = contagem de células somáticas.

Fonte: Müller (2002).

Kolling (2012), avaliando a CCS de diversos quartos mamários, encontrou uma diminuição significativa de 21,65% na produção de leite de quartos com CCS acima de 750 x 10³ células por mililitro de leite, quando comparado com quartos mamários sadios.

Conquanto a CCS seja utilizada como um indicativo de sanidade do rebanho, seu aumento altera a composição do leite, a atividade enzimática, a produtividade, o tempo de coagulação e a qualidade dos derivados lácteos, influenciando-os negativamente (KITCHEN, 1981).

Etiologia

Como a etiologia da mastite é complexa e multivariada, é preciso, antes de tudo, caracterizar e identificar os microrganismos responsáveis pela infecção da glândula mamária,

tanto para o controle e a prevenção, quanto para o monitoramento de rebanhos. A reação inflamatória pode estar presente mesmo que a glândula não apresente processo infeccioso, em razão de lesões traumáticas ou agressões por agentes químicos, entre outros fatores (RIBEIRO et al., 2003).

A seguir estão citados os principais fatores que influenciam a suscetibilidade à mastite em vacas leiteiras:

- Tipo de bactéria: algumas bactérias têm mais capacidade de causar mastite do que outras.
- Estado fisiológico da vaca: embora a infecção possa ocorrer em qualquer momento, a maioria das novas infecções se dá durante as três primeiras semanas do período seco e durante o primeiro mês pós-parto, sugerindo que o nível de produção de leite não está diretamente relacionado à mastite. Supõe-se, então, que a pressão intramamária seja um fator predisponente para a mastite durante esses períodos.
- Idade da vaca: a incidência de mastite aumenta com o avançar da idade da vaca. No entanto, o úbere de novilhas pode ficar infectado.
- Nível de produção de leite: não está diretamente relacionado com a incidência de mastite. No entanto, outros fatores que afetam a produção de leite, tais como número de ordenhas ou úberes pendulares, podem estar relacionados à incidência de mastite.
- Características hereditárias da vaca: o comprimento da perna em proporção ao tamanho do úbere e o úbere pendular são dois fatores que tendem a forçar a capacidade dos ligamentos, o que poderá sujeitar o úbere a lesões físicas e, portanto, aumentar a incidência de mastite.
- Máquina de ordenha: o uso inadequado do equipamento de ordenha (flutuação irregular de nível de vácuo, sobreordenha ou ordenha incompleta) está relacionado com a irritação dos tecidos e a incidência de mastite.

Segundo Philpot e Nickerson (2002), existem mais de 140 tipos de microrganismos causadores de mastite, podendo ser agrupados em diversas categorias, como: patógenos contagiosos, patógenos ambientais, patógenos oportunistas e outros microrganismos.

A mastite contagiosa apresenta maior ocorrência nos quadros subclínicos, acarretando, nesses casos, a elevação da contagem de células somáticas (FONSECA; SANTOS, 2000). Ela é causada por patógenos cujo principal habitat é a superfície da pele dos

tetos e os úberes. *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma bovis*, *Corynebacterium bovis* são agentes causadores da mastite contagiosa (BRITO et al., 1999; MARTINS et al., 2010; PHILPOT; NICKERSON 2002). A disseminação desses patógenos ocorre no momento da ordenha, pelo contato com microrganismos presentes na pele e por contato entre tetos infectados e tetos sadios, através das teteiras utilizadas na ordenha mecânica, das mãos dos ordenhadores e manipuladores, e dos panos utilizados para a secagem dos tetos e dos demais utensílios que tenham tido contato com o leite contaminado (COSTA et al., 2001; PHILPOT; NICKERSON, 2002; SILVA et al., 2000). Suas características acarretam, em sua maioria, infecções subclínicas, de longa duração, levando a quadros crônicos de mastite (BRESSAN, 2000).

A mastite ambiental é causada por microrganismos oportunistas que habitam o ambiente de ordenha, ou seja, pelo curral e pela cama, por materiais orgânicos (fezes, alimentos, plantas, ração), pela água contaminada, entre outros. Sua transmissão ocorre no período de ordenhas ou entre elas, principalmente quando as vacas se deitam em ambientes contaminados, deixando os tetos expostos ao contato com fezes e outras sujeiras (BRESSAN, 2000; FONSECA; SANTOS, 2000; PHILPOT; NICKERSON, 2002; SILVA et al., 2000). Por sua vez, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e *Enterobacter aerogenes* (grupo dos coliformes), *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp. (conhecidos como estreptococos ambientais, diferentes do *Streptococcus agalactiae*) são os agentes causadores da mastite ambiental (BRITO et al., 1999; HOGAN; SMITH, 1987; PHILPOT; NICKERSON, 2002).

De acordo com Costa et al. (2008), em virtude de mudanças ocorridas nos sistemas de produção de leite e nos programas de controle da mastite bovina nos últimos anos, as leveduras têm sido referidas como patógenos emergentes, entre os agentes considerados patógenos causadores de mastites ambientais. Várias espécies dos gêneros *Cryptococcus*, *Rhodotorula* e *Trichosporon* foram isoladas de leite obtido de animais acometidos pela mastite, sendo as espécies do gênero *Candida* spp. as mais frequentes (KRUKOWSKI et al., 2000; SANTOS; MARIN, 2005).

Além desses, existe outro grupo de microrganismos, denominados oportunistas, constituídos por mais de 20 espécies de estafilococos (exceto o *Staphylococcus aureus*), conhecidos como *Staphylococcus coagulase-negativo* (SCN). Esses são frequentemente isolados em todos os rebanhos, o que desperta um interesse especial por esses microrganismos; no entanto, as infecções causadas por tais patógenos são de características brandas, sendo rara a apresentação de sintomatologia clínica (PHILPOT; NICKERSON, 2002).

Há outros microrganismos que também podem ser considerados agentes causadores de mastite, como: bactérias dos gêneros *Pseudomonas* spp., *Arcanobacterium pyogenes*, espécies de *Nocardia* sp., fungos, algas, bacilos e várias espécies de leveduras. Esses microrganismos geralmente causam mastite clínica, cujos sintomas são fistulações, gangrenas e fibroses, que são de difícil tratamento, muitas vezes acarretando a perda do quarto mamário e, conseqüentemente, o descarte dos animais afetados (BRESSAN, 2000; PHILPOT; NICKERSON, 2002).

Entre os microrganismos frequentemente isolados em quartos acometidos por mastite, as espécies pertencentes ao gênero *Staphylococcus* são as que apresentam maior predominância, podendo ser identificadas em mais de 70% dos casos de mastite avaliados (FERREIRA et al., 2007; FONTANA et al., 2010; ZAFALON et al., 2005).

A mastite subclínica apresenta maior predominância do que a mastite clínica. Fontana et al. (2010) observaram que, dos 174 animais avaliados, 55,2% foram considerados positivos no teste do CMT. Estudos de Bueno et al. (2002) verificaram que 63,68% dos animais avaliados apresentaram mastite subclínica em pelo menos um dos quartos avaliados, enquanto esse valor para mastite clínica foi de apenas 7,46%. Estes últimos autores citam também uma relação de 1:15 entre quartos mamários afetados clínica e subclínicamente.

Prevenção

A redução quantitativa e qualitativa do leite provocada pela mastite no quarto infectado, na vaca ou no rebanho, varia muito. A ordenha é uma prática aparentemente simples, mas de importância fundamental na exploração leiteira, porque influencia diretamente a qualidade do leite.

Os animais devem ser conduzidos para a sala de ordenha, de forma tranquila, sem atropelos ou agressões. O bom funcionamento da sala de ordenha é obrigatório para se medir o nível de eficiência e qualidade. Ela deve estar bem arejada e limpa. Para tanto, deve ser desinfetada uma vez por semana, com produtos à base de cresóis ou cal virgem. Latões e baldes devem ser previamente limpos com água e sabão, e colocados com a abertura para baixo. Deve-se evitar a presença de pessoas estranhas, para não estressar os animais (SANTOS et al., 2004).

É importante estabelecer uma “linha de ordenha”, ou seja, vacas com infecções, principalmente mastite, devem ser ordenhadas por último, para não contaminarem animais saudáveis. Sugere-se ordenhar animais em lotes de acordo com o estado sanitário. Em primeiro

lugar, as novilhas primíparas, seguidas pelas vacas que nunca tiveram mastite; depois, pelas que foram curadas; e, por último, deve-se ordenhar as que estão em tratamento (PEELER et al., 2003).

Antes da ordenha, indica-se que os ordenhadores façam a lavagem completa das mãos, com água e sabão, seguida, preferencialmente, pela desinfecção em solução desinfetante à base de cloro, iodo ou clorexidina. Os primeiros três ou quatro jatos devem ser retirados em uma caneca telada ou de fundo preto, com o objetivo de diagnosticar a mastite clínica e estimular a “descida” do leite (SANTOS et al., 2004).

Proceder, então, ao pré- e pós-*dipping*, que consiste na imersão dos tetos em solução desinfetante antes da ordenha, para reduzir o número de novas infecções, lembrando que, após a execução do pré-*dipping*, deve ser feita a secagem dos tetos com papel-toalha descartável. É recomendada a imersão de tetos na pós-ordenha em solução desinfetante que cubra toda a extensão do teto, principalmente para o controle da mastite ambiental. Realizado o pós-*dipping*, o animal é retirado da sala e recebe alimentação e água de boa qualidade. Essa prática faz o animal permanecer de pé durante o período em que o esfínter da teta ainda não esteja completamente fechado (DINGWELL et al., 2004).

Em termos de manejo externo, o período seco é um momento crucial para as vacas, pois elas se estressam por causa da interrupção da ordenha e deixam de receber cuidados diários de desinfecção de tetos, tornando-se, assim, extremamente suscetíveis à mastite (SONDERGAARD et al., 2002).

De acordo com Müller (2002), o tratamento das vacas no dia da secagem tem por finalidade a cura de infecções subclínicas e a prevenção de novas infecções no período seco. Nas primeiras semanas pós-secagem, a taxa de risco para novas infecções é muito alta. O tratamento da mastite subclínica apresenta taxas de cura mais elevadas do que o tratamento durante a lactação. O correto é tratar todas as vacas ao secar, por via intramamária, com produtos de longa ação.

Segundo Busato et al. (2000), na prática, é muito mais fácil prevenir a mastite contagiosa do que a ambiental. Uma particularidade da mastite ambiental é que geralmente se manifesta em rebanhos bem manejados e com baixa contagem de células somáticas. Os autores citam, ainda, que rígidos manejo e higiene na ordenha, mas sem adoção de medidas de controle ambiental (barro, lama, esterco, cama orgânica, etc.), podem resultar na queda significativa na CCS, seguida de surtos de mastite ambiental clínica aguda.

Tratamento

Controlar a mastite é importante não só para prevenir grandes perdas econômicas para o produtor e para a indústria láctea, como também para proteger a saúde do consumidor, exposto a um leite de má qualidade, higiênica e nutritivamente falando (LANGONI et al., 2000a).

Para otimizar o estado sanitário da glândula mamária, é essencial manter cuidadosos registros dos casos clínicos e subclínicos de mastites, assim como primar pelo uso correto de antimicrobianos, com o intuito de evitar o desenvolvimento de resistência dos microrganismos. É preciso também proceder, com ganho qualitativo, ao controle e ao monitoramento da mastite bovina em um rebanho leiteiro produtivo (LANGONI et al., 2000b).

O uso da antibioticoterapia é o principal método de tratamento utilizado para os casos de mastite clínica. Como há, porém, uma grande quantidade de produtos no mercado, corre-se o risco de escolher uma droga para a qual o agente não é suscetível. Por isso, um prévio estudo sobre a identificação dos agentes causadores da mastite e o perfil de sensibilidade microbiana desses antibióticos podem, muitas vezes, facilitar o tratamento. Owens et al. (1997) estudaram a suscetibilidade antimicrobiana in vitro com 11 antibióticos diferentes, incluindo a enrofloxacin, que demonstrou ser sensível a *Staphylococcus aureus* (n = 20), *Streptococcus uberis* (n = 22), *Streptococcus dysgalactiae* (n = 20), *Streptococcus* sp. (n = 13), *Staphylococcus* sp. (n = 21), respectivamente, em 80%, 86%, 80%, 69% e 95% das amostras.

Trinidad et al. (1990), ao avaliarem a suscetibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* (n = 48), *Staphylococcus chromogenes* (n = 167), *Staphylococcus hyicus* (n = 71) e outros *Staphylococcus* sp. (n = 17) isolados de mastite em novilhas e primíparas, testando a associação de amoxicilina e ácido clavulânico, obtiveram sensibilidade em 90,5%, 100%, 100% e 100% das amostras, respectivamente.

Langoni et al. (2000b), ao diagnosticarem casos de mastite clínica e subclínica de um rebanho, fizeram a coleta do leite para a identificação dos agentes e, conseqüentemente, para a avaliação de três tratamentos para os microrganismos envolvidos. Os microrganismos isolados foram: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Escherichia coli*, nos casos subclínicos e clínicos. Independentemente do microrganismo envolvido, foram alcançados 80% de cura nos tratamentos com amoxicilina, enrofloxacin e com a associação das duas drogas, demonstrando a viabilidade dessas drogas no tratamento das mastites. O melhor resultado foi obtido quando os dois princípios

medicamentosos estavam associados, especialmente nos casos de *Streptococcus agalactiae* e *Escherichia coli*.

Uma medida complementar no controle da mastite é a vacinação. No caso das mastites ambientais por coliformes, existem vacinas no mercado que, quando aplicadas no período seco e no momento do parto, reduzem a incidência e a gravidade dos sintomas na lactação subsequente.

Investigações recentes também apresentam resultados promissores em relação ao controle das mastites por *S. aureus*. A conscientização por parte do produtor dos prejuízos causados pela mastite, a adoção criteriosa e persistente das medidas preventivas e de controle anteriormente citadas e a aceitação de novas técnicas de prevenção e controle por parte dos produtores e técnicos podem servir de obstáculos a infecções da glândula mamária, não afetando, assim, negativamente, a renda do produtor. Se adotadas, essas mesmas medidas permitirão a obtenção e o fornecimento de um leite de melhor qualidade para a indústria e, por consequência, ao consumidor (MÜLLER, 2002).

Incidência de mastite na região sul do Rio Grande do Sul

A identificação dos agentes etiológicos de mastite é fundamental para determinar os fatores predisponentes da doença e para o direcionamento das estratégias de controle. A Embrapa Clima Temperado realizou um projeto de monitoração da mastite bovina no sul do Rio Grande do Sul para diagnosticar os principais agentes etiológicos (RIBEIRO, 2003).

O estudo foi realizado no período de novembro de 1998 a novembro de 2002, tendo sido monitoradas dez unidades de produção de leite. Mensalmente, foi acompanhada a ordenha dos animais, sendo examinadas todas as vacas em lactação quanto à ocorrência de mastite clínica e subclínica, por meio dos testes de caneca de fundo preto e do Califórnia mastitis test (CMT), respectivamente. Dos quartos mamários que apresentavam reação positiva aos testes citados, foram coletadas amostras para a identificação microbiológica.

Durante o acompanhamento, foram examinadas 15.002 vacas em lactação, totalizando 60.008 quartos mamários. Dessas, foram excluídas 85 vacas em tratamento e 102 vacas na fase de colostro, além de 484 quartos secos, e foram considerados 58.776 quartos em lactação. Os resultados desse projeto encontram-se na Tabela 2 e nas Figuras 1 a 3.

Tabela 2. Diagnóstico da mastite bovina no sul do Rio Grande do Sul, no período de novembro de 1998 a novembro de 2002.

Diagnóstico	Número de quartos mamários	%
Mastite clínica	716	1,2
Mastite subclínica	18.319	31,2
Total	58.776	100,0

Fonte: Ribeiro et al. (2003).

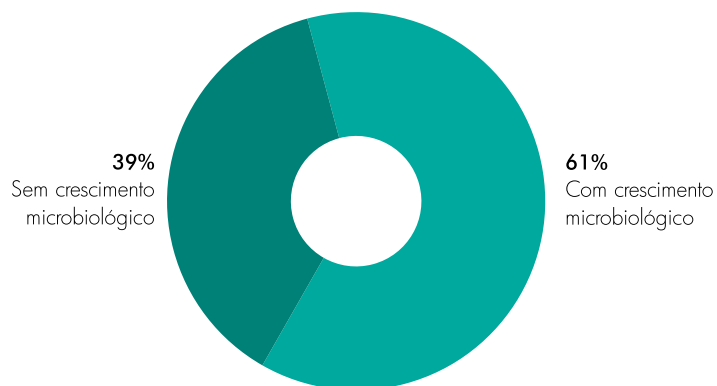


Figura 1. Porcentagem de quartos mamários segundo o crescimento microbiológico no monitoramento da mastite bovina no sul do Rio Grande do Sul, no período de novembro de 1998 a novembro de 2002.

Fonte: Ribeiro et al. (2003).

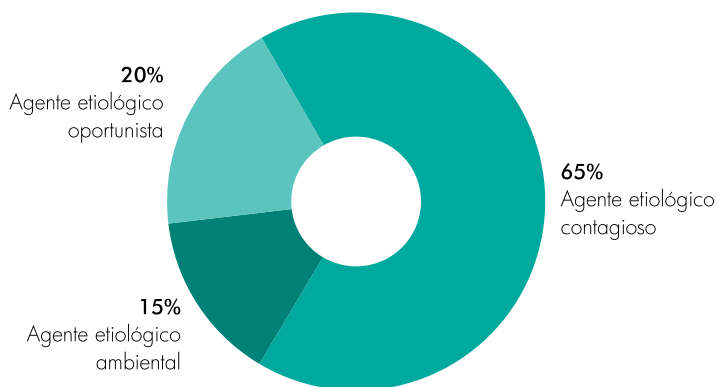


Figura 2. Tipos de agentes etiológicos (porcentagem) isolados no monitoramento da mastite bovina no sul do Rio Grande do Sul, no período de novembro de 1998 a novembro de 2002.

Fonte: Ribeiro et al. (2003).

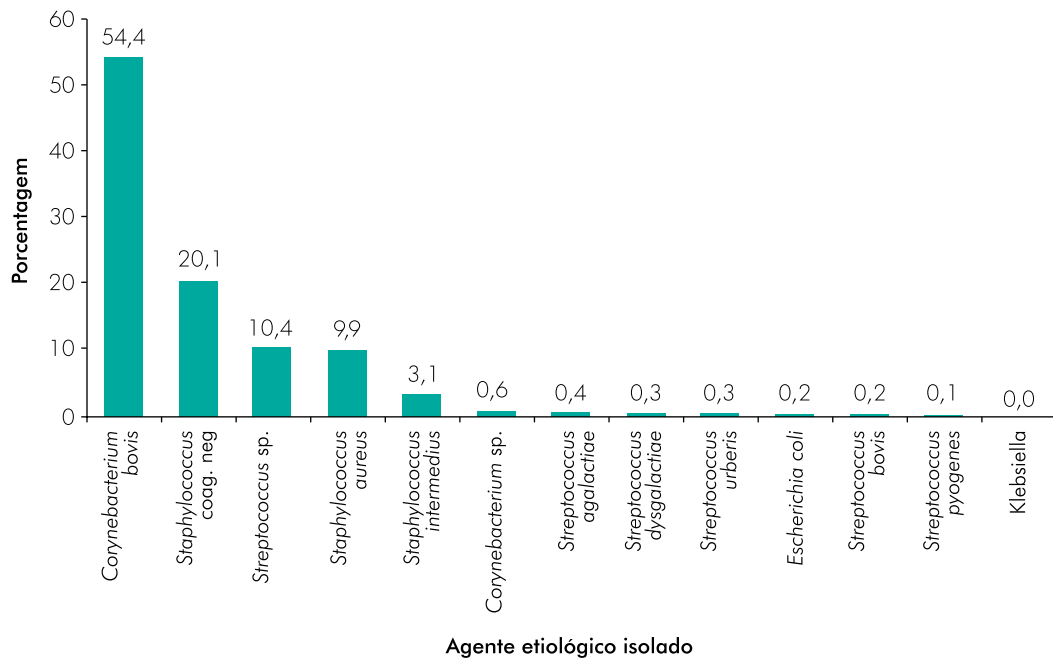


Figura 3. Agentes etiológicos de mastite (%) isolados no monitoramento da mastite bovina no sul do Rio Grande do Sul, no período de novembro de 1998 a novembro de 2002.

Fonte: Ribeiro et al. (2003).

No diagnóstico da mastite, observou-se uma grande incidência de casos subclínicos, possivelmente em decorrência da ineficiência no uso dos testes de diagnóstico no campo e de falhas no manejo adequado da ordenha. Com relação à mastite clínica, foram encontradas porcentagens dentro do esperado (próximo a 1%).

Foram encaminhadas 18.491 amostras para análise microbiológica, e em 276 amostras foi isolado mais de um agente etiológico de mastite.

Os resultados demonstram que uma elevada porcentagem de amostras com mastite não apresentou crescimento microbiano, possivelmente em razão de processos de autocura ou de ocorrência de mastites não infecciosas, entre outros motivos. Isso reforça a orientação técnica de não realizar tratamento de mastite subclínica.

O estudo realizado identificou maior ocorrência de agentes contagiosos nos rebanhos monitorados, o que indica falhas no manejo de ordenha das unidades de produção de leite.

Os principais agentes etiológicos isolados foram: a) os contagiosos: *Corynebacterium bovis* e *Staphylococcus aureus*; b) os ambientais: *Streptococcus* sp.; c) os oportunistas: *Staphylococcus* coagulase negativa. Esses resultados demonstram que os principais problemas de mastite na região sul do Rio Grande do Sul estão associados a falhas no manejo dos sistemas de produção de leite.

Considerações finais

Na busca de maior competitividade e sustentabilidade para o agronegócio do leite, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) instituiu, em 2002, o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL). O PNMQL tem por objetivo desenvolver estratégias para melhorar a qualidade do leite brasileiro e propor mudanças na legislação vigente, adequando a qualidade do leite às exigências dos mercados interno e externo.

No que concerne à legislação, o Mapa estabeleceu, pela Instrução Normativa nº 51, de 2002, os requisitos mínimos de qualidade para o leite cru nas propriedades rurais, incluindo a composição química, a contagem de células somáticas (CCS), a contagem bacteriana total (CBT) e a instabilidade do leite. Essa norma estabeleceu limites máximos para CCS e CBT, reduzindo-os, progressivamente, de 2005 a 2011 (BRASIL, 2002). Porém, em julho de 2011, tendo em vista que parte dos produtores ainda não havia conseguido atingir o padrão máximo estabelecido, a redução dos padrões foi prorrogada por mais 6 meses, pela Instrução Normativa nº 32 (BRASIL, 2011). Ainda em 2011, o Mapa publicou a Instrução Normativa nº 62 (IN 62), que alterou a IN 51. A IN 62, publicada no Diário Oficial da União em 30 de dezembro de 2011, redefiniu algumas exigências: a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT) para medir a qualidade do leite. Pela IN 62, os limites são de 600 mil CCS por mililitro de CCS e 500 mil UFC por mililitro de CBT para os produtores das regiões Sul e Sudeste. Para o Nordeste e o Norte, esses limites passaram a valer em 2013. Em 2014, os limites máximos passaram a 500 mil CCS por mililitro de CCS e 300 mil UFC por mililitro de CBT. A instrução normativa prevê que, até 2016, esses índices deverão ser de 400 mil CCS mL⁻¹ e 100 mil UFC mL⁻¹ para o Centro-Sul, enquanto Norte e Nordeste devem alcançar essas metas em 2017.

Estudos sobre a qualidade do leite do Rio Grande do Sul demonstram que um elevado número de unidades de produção de leite ainda não consegue se adequar aos padrões legais. Ribeiro et al. (2012a, 2012b), ao monitorarem a qualidade do leite da Região Metropolitana de Porto Alegre, encontraram CCS média de 710 mil células por mililitro e

46,80% das UPL avaliadas com médias acima dos padrões máximos legais; quanto à CBT, as médias foram de 680 mil UFC por mililitro, havendo 61,36% das UPL fora do padrão, o que sugere a necessidade urgente da intensificação de ações de capacitação de técnicos e produtores de leite, para evitar que novas medidas tenham de ser adotadas para prorrogar a implementação dos índices de qualidade previstos pela legislação vigente.

Pelo visto, para atender às exigências dos padrões de qualidade do leite, previstos na legislação vigente, novos trabalhos de pesquisas em mastite deverão ser feitos, para identificar os agentes causadores, a resistência a antimicrobianos e novas formas de prevenção, tratamento e controle da mastite na região Sul.

Referências

- BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. **The Veterinary Journal**, v. 163, p. 1-13, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Aprova e oficializa o Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru e refrigerado. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 set. 2002. Seção 1, p. 13.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 32 de 30 de junho de 2011. Prorroga por seis meses a vigência dos prazos estabelecidos para a adoção de novos limites microbiológicos e de células somáticas, que entrariam em vigor a partir de 1º de julho de 2011 para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1º jul. 2011. Seção 1, p. 11.
- BRESSAN, M. **Práticas de manejo sanitário em bovinos de leite**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2000. 65 p.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 2, p. 33-35, 1999.
- BUENO, V. F. F.; NICOLAU, E. S.; MESQUITA, A. J.; RIBEIRO, A. R.; SILVA, J. A. B.; COSTA, E. O.; COELHO, K. O.; NEVES, R. B. S. Mastite bovina clínica e subclínica, na região de Pirassununga, SP: frequências e redução na produção. **Ciência Animal Brasileira**, v. 3, n. 2, p. 47-52, 2002.
- BUSATO, A.; TRACHSEL, P.; SCHALLIBAUM, M.; BLUM, J. W. Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 44, n. 3-4, p. 205-220, 2000.
- COSTA, E. O.; GARINO JÚNIOR, F.; WATANABE, E. T.; RIBEIRO, A. R.; SILVA, J. A. B. Proporção de ocorrência de mastite clínica em relação à subclínica correlacionada aos principais agentes etiológicos. **Revista do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira**, v. 4, n. 3, p. 10-13, 2001.
- COSTA, E. O.; WATANABE, E. T. Tratamento de mastite. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITE, 3., 1999, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-Universidade Estadual Paulista, 1999. p. 87-101.
- COSTA, G. M.; SILVA, N.; ROSA, C. A.; FIGUEIREDO, H. C. P.; PEREIRA, U. P. Mastite por leveduras em bovinos leiteiros do Sul do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, v. 38, n. 7, p. 1938-1942, 2008.
- CULLOR, J. S.; TYLER, J. W.; SMITH, B. P. Distúrbios de tratado de medicina glândula mamária. In: SMITH, B. P. (Ed.). **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole, 1994. v. 2, p. 1041-1060.

DIAZ GONZÁLEZ, F. H.; NORO, G. Variação na composição do leite no subtropical brasileiro. In: DIAZ GONZÁLEZ, F. H.; PINTO, A. T.; ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; BONDAN, C. (Org.). **Qualidade do leite bovino: variações no trópico e no subtropical**. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2011. p. 11-27.

DINGWELL, R. T.; LESLIE, K. E.; SCHUKKEN, Y. H.; SARGEANT, J. M.; TIMMS, L. L.; DUFFIELD, T. F.; KEEFE, G. P.; KELTON, D. F.; LISSEMORE, K. D.; CONKLIN, J. Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 63, n. 1-2, p. 75-89, 2004.

FERREIRA, J. L.; LINS, J. L. F. H. A.; CAVALCANT, T. V.; MACEDO, N. A.; BORJAS, A. R. Prevalência e etiologia da mastite bovina no município de Teresina, Piauí. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 261-266, 2007.

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

FONTANA, V. L. D. S.; GIANNINI, M. J. S. M.; LEITE, C. Q. F.; MIRANDA, E. T.; ALMEIDA, A. M. F.; FONTANA, C. A. P.; SOUZA, C. M.; STELLA, A. E. Etiologia da mastite bovina subclínica, sensibilidade dos agentes às drogas antimicrobianas e detecção do gene da Beta-lactamase em *Staphylococcus aureus*. **Veterinária e Zootecnia**, v. 17, n. 4, p. 552-559, 2010.

HOGAN, J. S.; SMITH, K. L. A practical look at environmental mastitis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing in Veterinary**, v. 9, n. 10, p. 341-346, 1987.

KITCHEN, B. J. Review of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, v. 48, n. 1, p. 167-188, 1981.

KOLLING, G. J. **Influência da mastite na qualidade do leite e leite instável não ácido em diferentes quartos mamários**. 2012. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

KRUKOWSKI, H.; TIETZE, M.; MAJEWSKI, T.; RÓZAŃSKI, P. Survey of yeast mastitis in dairy herds of small-type farms in the Lublin region, Poland. **Mycopathologia**, v. 150, n. 1, p. 5-7, 2000.

LANGONI, H. Tendências de modernização do setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. **Revista Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 3, n. 3, p. 57-64, 2000a.

LANGONI, H.; ARAÚJO, W. N.; SILVA, A. V.; SOUZA, L. C. Tratamento da mastite bovina com amoxicilina e enrofloxacin bem como com a sua associação. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 67, n. 2, p. 177-180, 2000b.

LARANJA, L. F.; AMARO, F. Contagem de células somáticas: conceitos e estratégias de controle. **Balde Branco**, n. 408, p. 28-34, 1998.

LEITE, L. A.; BARBOSA, F. A.; CAMPOS, W. E. Controle zootécnico e econômico na pecuária leiteira. In: NEIVA, A. C. G. R.; NEIVA, J. N. M. (Org.). **Do campus para o campo: tecnologias para produção de leite**. Fortaleza: Expressão, 2006. p. 101-128.

LESCOURRET, F.; COULON, J. B. Modeling the impact of mastitis on milk production by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 8, p. 2289-2301, 1994.

MARTINS, R. P.; SILVA, J. A. G.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; ALMEIDA FILHO, E. S. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 181-187, 2010.

MÜLLER, E. E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2., 2002, Toledo. **Anais...** Maringá: UEM-NUPEL, 2002. p. 206-217.

OSTRENSKY, A. **Efeitos de ambiente sobre a contagem de células somáticas no leite de vacas da raça holandesa no Paraná**. 1999. 114 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

OWENS, W. E.; RAY, C. H.; WATTS, J. L.; YANCEY, R. J. Comparison of success of antibiotic therapy during lactation and results of antimicrobial susceptibility tests for bovine mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 2, p. 313-317, 1997.

PEELER, E. J.; GREEN, M. J.; FITZPATRICK, J. L.; GREEN, L. E. The association between quarter somatic-cell counts and clinical mastitis in three British dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 59, n. 3, p. 169-180, 2003.

PHILPOT, N. W.; NICKERSON, S. C. **Vencendo a luta contra a mastite**. Piracicaba: Westfalia Surge-Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002. 192 p.

RIBEIRO, M. E. R. **Relatório final do projeto**: estudo da incidência de mastite em novilhas e vacas leiteiras na região de clima temperado em unidades com e sem assistência técnica. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2003. 31 p. Projeto 06.0.97.481-04.

RIBEIRO, M. E. R.; KOLLING, G. J.; ZANELA, M. B.; SANTOS, C. da S. dos; ALVES, L. da R.; CORRÊA, M. de F.; CUNHA, C. R. V. da. Monitoramento da qualidade do leite da Região Metropolitana de Porto Alegre, RS: 2. contagem de células somáticas. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DO LEITE, 11., 2012, Goiânia. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2012a. p. 1-3.

RIBEIRO, M. E. R.; KOLLING, G. J.; ZANELA, M. B.; SANTOS, C. da S. dos; ALVES, L. da R.; CORRÊA, M. de F.; CUNHA, C. R. V. da. Monitoramento da qualidade do leite da Região Metropolitana de Porto Alegre, RS: 3. contagem bacteriana total. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DO LEITE, 11., 2012, Goiânia. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2012b. p. 1-3.

RIBEIRO, M. E. R.; PETRINI, L. A.; AITA, M. F.; BALBINOTTI, M.; STUMPF JÚNIOR, W.; GOMES, J. F.; SCHIRAMM, R. C.; MARTINS, P. R.; BARBOSA, R. S. Relação entre mastite clínica e subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 3, p. 287-290, 2003.

SANTOS, J. E. P.; CERRI, R. L.; BALLOU, M. A.; HIGGINBOTHAM, G. E.; KIRK, J. H. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 80, n. 1-2, p. 31-45, 2004.

SANTOS, R. C.; MARIN, J. M. Isolation of *Candida* spp. from mastitic bovine milk in Brazil. **Mycopathologia**, v. 159, n. 2, p. 251-253, 2005.

SCHULTZ, L. H. Somatic cells in milk physiological aspects and relationship to amount and composition of milk. **Journal of Food Protection**, v. 40, p. 125-131, 1977.

SILVA, L. F. P.; PEREIRA, A. R.; MACHADO, P. F.; SARRIÉS, G. A. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II-lactose e sólidos totais. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, n. 4, p. 330-333, 2000.

SONDERGAARD, E.; SORENSEN, M. K.; MAO, I. L.; JENSEN, J. Genetic parameters of production, feed intake, body weight, body composition, and udder health in lactating dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 77, n. 1, p. 23-34, 2002.

SWINKELS, J. M.; HOGEVEEN, H.; ZADOKS, R. N. A partial budget model to estimate economic benefits of lactational treatment of subclinical *Staphylococcus aureus* mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 12, p. 4273-4287, 2005.

TOZZETTI, D. S.; BATAIER NETO, M.; ALMEIDA, L. R. de; PICCININ, A. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano 6, n. 10, p. 1-7, 2008. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/YFbjMNRGCotOL73_2013-5-28-15-25-40.pdf>. Acesso em: 10 jan 2016.

TRINIDAD, P.; NICKERSON, P. C.; ALLEY, T. K. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 1, p. 107-114, 1990.

ZAFALON, L. F.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, J. V.; RESENDE, F. D. Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos do leite como métodos auxiliares de diagnóstico na mastite subclínica bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 159-163, 2005.



Na Livraria Embrapa, você encontra
livros e e-books sobre agricultura, pecuária,
negócio agrícola, etc.

Para fazer seu pedido, acesse:
www.embrapa.br/livraria

ou entre em contato conosco
Fone: (61) 3448-4236
Fax: (61) 3448-2494
livraria@embrapa.br

Você pode também nos encontrar nas redes sociais:



facebook.com/livrariaembrapa



twitter.com/livrariaembrapa

Impressão e acabamento
Embrapa Informação Tecnológica

O papel utilizado nesta publicação foi produzido conforme a certificação
do Bureau Veritas Quality International (BVQI) de Manejo Florestal.

Embrapa

Clima Temperado



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



CGPE 12994