

PATRICIA NUNES COSENTINO

Níveis de substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia na dieta de vacas leiteiras: dinâmica folicular, qualidade oocitária e desenvolvimento embrionário inicial

Cuiabá – MT
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

PATRICIA NUNES COSENTINO

**Níveis de substituição do farelo de soja pelo farelo de
algodão de alta energia na dieta de vacas leiteiras:
dinâmica folicular, qualidade oocitária e desenvolvimento
embrionário inicial**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Keiko Hatamoto-Zervoudakis

Co-orientador: Prof. Dr. Joanis Tilemahos Zervoudakis

Cuiabá – MT
2008

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES
TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA
FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na publicação

C834n

Cosentino, Patrícia Nunes.

Níveis de substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia na dieta de vacas leiteiras: dinâmica folicular, qualidade oocitária e desenvolvimento embrionário inicial. / Patrícia Nunes Cosentino. - Cuiabá, 2008. 84 f. ; il.

Dissertação (Mestre em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso.

Orientador(a): Prof^ª Dra. Luciana Keiko Hatamoto-Zervoudakis

Co-orientador: Prof. Dr. Joanis Tilemahos Zervoudakis

1. Zootecnia. 2. Nutrição Animal. 3. Análise de Alimentos para Animal. 4. Dieta Animal. 5. Consumo Alimentar para Animal. I. Universidade Federal de Mato Grosso.

CDU 636.084.5

Bibliotecária Valéria Oliveira dos Anjos CRB1/1713

Fonte: CDU (2007)

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Aluno: Patricia Nunes Cosentino

**Título: NÍVEIS DE SUBSTITUIÇÃO DO FARELO DE SOJA PELO FARELO DE
ALGODÃO DE ALTA ENERGIA NA DIETA DE VACAS LEITEIRAS:
DINÂMICA FOLICULAR, QUALIDADE OOCITÁRIA E
DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO INICIAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da Universidade
Federal de Mato Grosso para obtenção do título
de Mestre em Ciência Animal

Aprovada em: 12/05/2008.

Banca examinadora

Prof.a. Dra. Luciana Keiko Hatamoto-Zervoudakis
(FAMEV/UFMT) (Orientador)

Prof. Dr. Joanis Tilemahos Zervoudakis
(FAMEV /UFMT)

Prof. Dr. Luciano da Silva Cabral
(FAMEV/UFMT)

Dra. Carmen Neusa Martins Cortada
(Pesquisador - TECPAR)

Dedicatória

*Dedico este trabalho a todos
que me incentivaram e me ajudaram
na sua realização*

Agradecimentos

A Deus pela minha existência.

Aos meus pais, Roberto e Maria Eugênia, pelas lições de vida diárias.

À Universidade Federal de Mato Grosso e à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária pela minha formação acadêmica.

À Bunge Alimentos pelo fornecimento do farelo de soja e de algodão de alta energia para realização do experimento.

À equipe da Gentec pelo auxílio nas aspirações foliculares.

À minha orientadora Luciana Keiko Hatamoto-Zervoudakis e ao meu co-orientador Joanis Tilemahos Zervoudakis pelo aprendizado, orientação, incentivo e amizade durante o período do mestrado.

Ao professor Luciano Cabral pelos ensinamentos, por estimular o conhecimento científico diário e por ceder o Laboratório de Nutrição Animal para as análises.

Ao professor Luis Fernando Suíta por ceder tão gentilmente os animais e o local para realização do experimento.

Aos funcionários da Fazenda Experimental, especialmente ao Farpa e Gordo, pela ajuda e apoio no manejo e alimentação dos animais durante a execução do experimento.

Às vacas Mensagem, Lembrança, Alegria, Karina e Melinda; sem vocês não teria conseguido realizar este experimento.

Ao Douglas, secretário da Pós-Graduação, pela simpatia diária.

Aos alunos Alexandre Rodrigues (Nhonho), Cristiane Chitarra, Daniela Farias, Glaucy Kelly, Izabel Sousa, Kátia Schmidt, Letícia Soares, Letícia Lerner, Luciana Carvalho, Malu, Marcela Almeida, Matias Stocco, Sílvia C. da Costa, estagiários que auxiliaram nos finais de semana na alimentação dos animais.

Aos estagiários do LABRA Luiz Rodolfo, Marília, Mário Fábio, Mauro, Rafael pela ajuda durante a semana e fim de semana na execução do experimento.

À Claudia Macêdo pela ajuda nos dias de coleta e descontração durante o período de trabalho de campo.

Ao amigo Celso Tarso pelos “90 dias” de auxílio diário, pronto pro que desse e viesse.

Aos meus colegas do mestrado, “os pioneiros de paradigma”, Alisson, Antônio, Daniel, Danillo, Evandro, Marcelino, Maria Cristina, Valney, Welton pela convivência e amparo nas horas de estudos.

Aos amigos Bruno, Guto e Walter, pela descontração durante as idas na fazenda e finais de semana, sempre animando o ambiente.

Ao meu grande amigo Lourival Júnior, um verdadeiro irmão, que me apoiou nos melhores e piores momentos e me ajudou muito quando mais precisei.

Aos amigos Nelcino e Isis pela ajuda, paciência e apoio nas análises feitas no Laboratório de Nutrição Animal.

À Carol, Flávia, Giselde e Priscila pelas risadas, estudos, *happy hours*, conselhos, mas acima de tudo, muita amizade em todos os momentos.

Ao meu namorado Marcos Vinícius pelo carinho, amparo, incentivo, companheirismo e muita tranquilidade durante todos os momentos em mais essa fase da minha vida.

A todos que de alguma maneira contribuíram para a conclusão deste trabalho.

RESUMO

COSENTINO, P.N. **Níveis de substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia na dieta de vacas leiteiras: dinâmica folicular, qualidade oocitária e desenvolvimento embrionário inicial.** 2008. 84f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2008.

O experimento foi realizado no Setor de Bovinocultura Leiteira da Fazenda Experimental da Universidade Federal de Mato Grosso, localizada no município de Santo Antonio do Leverger, com o objetivo de avaliar níveis de substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia no concentrado para vacas leiteiras em terço médio de lactação sobre as características reprodutivas. Foram utilizadas cinco vacas Girolando, em um delineamento em quadrado latino 5 X 5 (5 períodos X 5 níveis de substituição). A duração dos períodos experimentais foi de 18 dias, sendo 7 dias para adaptação dos animais à dieta e 11 dias para a coleta de dados. Os animais receberam dieta composta de silagem de milho e concentrado na proporção de 60:40. O concentrado fornecido aos animais foi composto por farelo de soja e/ou farelo de algodão de alta energia, uréia, sal mineral e milho grão triturado. Nas dietas experimentais o farelo de soja foi substituído pelo farelo de algodão de alta energia nas seguintes proporções: 0, 15, 30, 45 e 60% (tratamentos: FA0, FA15, FA30, FA45, FA60, respectivamente). Durante os 11 dias de coleta de dados foram mensurados a variação de peso vivo, o escore corporal, tamanho ovariano, diâmetro e classificação dos folículos ovarianos, presença de corpos lúteos e cistos. Ao final de cada período foi feita a aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU) para coleta de oócitos, em seguida foi feita a classificação dos oócitos que posteriormente foram utilizados para a produção *in vitro* de embriões. As avaliações ovarianas foram realizadas através de ultrassonografia transretal. Não houve efeito de tratamento sobre o diâmetro folicular médio ($p=0,1039$), a presença de corpos lúteos ($p=0,6781$) e cistos ($p=0,8158$). Não foi observado efeito de tratamento sobre a classificação oocitária ($p>0,05$), estruturas clivadas ($p=0,9758$) e número de embriões produzidos ($p=0,8364$). Somente o número de oócitos maturados foi influenciado pelos tratamentos ($p=0,0131$), onde o tratamento FA30 ($38,40\pm 6,76$) diferiu do tratamento FA15 ($26,20\pm 5,81$). A substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia em até 60% do concentrado para vacas Girolando em terço médio de lactação produzindo 14 kg de leite/dia não altera os parâmetros reprodutivos avaliados.

Palavras-chave: atividade ovariana; biotecnologia; fontes de proteína; Girolando

ABSTRACT

This present experiment was realized in Dairy Cows Production Unit of Experimental Farm of UFMT, localized in city of Santo Antonio do Leverger and aimed evaluate if the increasing of substitution levels of soybean meal to high energy cottonseed meal in concentrate for dairy cows in middle third of lactation influences productive and reproductive characteristics. Five Holstein-Zebu breeding cows were used in a Latin square design 5X5 (5 periods X 5 levels of substitution). The period's durations were 18 days, being 7 days to adapt animals to the diet and 11 days for data collection. The animals received a diet consisting of corn silage and concentrate in the proportion of 60:40. The concentrate provided to the animals consisted of soybean meal and/or cottonseed meal, urea, mineral salt, maize meal. In the experimental diets soybean meal has been replaced by high energy cottonseed meal in the following proportions 0, 15, 30, 45 and 60% (treatments FA0, FA15, FA30, FA45, FA60, respectively). During the 11 days of collecting data were measured the live weight variation, body score, ovarian size, diameter and classification of ovarian follicles, presence of corpora lutea and cysts. At the end of each period was did the aspiration follicular guided by ultrasound (OPU) for collection, than was did the oocytes classification that were subsequently used for the *in vitro* embryo production. The assessments were made through ovarian trans-rectal ultrasound. There weren't treatment effect on average follicle diameter ($p=0.1039$), corpora lutea ($p=0.6781$) and cists ($p=0.8158$) presence. There weren't possible observe treatment effect on oocyte classification ($p>0,05$), cleavage structures ($p=0.9758$) and number of embryos produced ($p=0.8364$). Only the number of matured oocytes was influenced by the treatments ($p=0.0131$), where the treatment FA30 (38.40 ± 6.76) differ of treatment FA15 (26.20 ± 5.81). The substitution of soybean meal by high energy cottonseed meal at level of 60% on concentrate for Holstein-Zebu breeding cows in middle third of lactation producing 14 kg of milk/day can't alter the reproductive parameters evaluated.

Key words: ovarian activity; biotechnology; protein sources; Holstein-Zebu breeding cows

Lista de tabelas

Capítulo 1:

- Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais fornecidas para vacas leiteiras da raça Girolando.....50
- Tabela 2. Composição químico-bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais fornecidas para vacas leiteiras da raça Girolando.....50
- Tabela 3. Média e erro padrão da média para o consumo de matéria seca (CMS, kg), consumo de matéria seca relativo (CMS, %), produção de leite (PL, litros), peso vivo (kg), escore de condição corporal (ECC, 1-5) e de vacas leiteiras da raça Girolando.....52
- Tabela 4. Média e erro padrão da média das dimensões (largura maior, LMA e largura menor, LME) e volume ovariano (VOL) de vacas leiteiras da raça Girolando.....55
- Tabela 5. Média e erro padrão da média do número total de folículos segundo a classificação (classe 1, 2, 3, 4, SC) de vacas leiteiras da raça Girolando.....56
- Tabela 6. Média e erro padrão da média do diâmetro médio (mm) e diâmetro máximo (mm) de folículos observados em vacas leiteiras da raça Girolando.....57
- Tabela 7. Média e erro padrão da média do diâmetro (mm) de corpos lúteos (CL) e cistos observados em vacas leiteiras da raça Girolando.....59

Capítulo 2:

- Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais fornecidas para vacas leiteiras da raça Girolando.....69
- Tabela 2. Composição químico-bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais fornecidas para vacas leiteiras da raça Girolando.....70
- Tabela 3. Média e erro padrão da média dos oócitos aspirados, segundo sua classificação, de vacas leiteiras da raça Girolando.....73
- Tabela 4. Média e erro padrão da média do número de oócitos submetidos à MIV, número de estruturas clivadas e número de embriões produzidos e respectivas porcentagens segundo os tratamentos de vacas leiteiras da raça Girolando.....74

Lista de abreviaturas

°C.....	Graus Celsius
%.....	Porcentagem
<.....	Menor
>.....	Maior
±.....	Mais ou menos
Ø.....	Diâmetro
µL.....	Microlitro
AAs.....	Aminoácidos
BEN.....	Balanço energético negativo
rBST.....	Somatotropina recombinante bovina (Recombinant Bovine Somatotropin)
C1.....	Folículo classe 1
C2.....	Folículo classe 2
C3.....	Folículo classe 3
C4.....	Folículo classe 4
CCO.....	Complexo cumulus-oócito
CIV.....	Cultivo <i>in vitro</i> de embriões
CL.....	Corpo Lúteo
cm ³	Centímetro cúbico
CMS.....	Consumo de matéria seca
CO ₂	Dióxido de carbono
ECC.....	Escore de condição corporal
EE.....	Extrato etéreo
FA0.....	Tratamento com 0% de substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia
FA15.....	Tratamento com 15% de substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia
FA30.....	Tratamento com 30% de substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia
FA45.....	Tratamento com 45% de substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia

FA60.....	Tratamento com 60% de substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia
FDN.....	Fibra em detergente neutro
FEC.....	Meio de cultura utilizado para fecundação <i>in vitro</i> de oócitos maturados
FIV.....	Fecundação <i>in vitro</i> de oócitos maturados
FSH.....	Hormônio folículo-estimulante (Follicle Stimulant Hormone)
GnRH.....	Hormônio liberador de gonadotrofinas (Gonadotropin Release Hormone)
ha.....	hectare
IGF.....	Fator de crescimento semelhante à insulina (Insulin Growth Factor)
kg.....	Quilograma
km.....	Quilômetro
L.....	Litros
LH.....	Hormônio luteinizante (Luteinizing Hormone)
LMA.....	Largura maior (ovariana)
LME.....	Largura menor (ovariana)
MHz.....	Megahertz
MIV.....	Maturação <i>in vitro</i>
mL.....	Mililitro
mm.....	Milímetro
MM.....	Matéria mineral
MS.....	Matéria Seca
N.....	Nitrogênio
NDT.....	Nutrientes digestíveis totais
NH ₃	Amônia
NNP.....	Nitrogênio não-protéico
OML.....	Fator de inibição de maturação do oócito
OPU.....	Aspiração de oócitos por via intra-vaginal guiada por ultrassom (“Ovum pick up”)
p.....	Probabilidade
P4.....	Progesterona

PB.....Proteína Bruta
PDR.....Proteína degradável no rúmen
pH.....Potencial hidrogeniônico
PIV.....Produção *in vitro* de embriões
PL.....Produção leiteira
PNDR.....Proteína não-degradável no rúmen
r.....coeficiente de correlação
SC.....Folículo sem classe
SOF.....Meio de cultura utilizado para cultivo celular *in vitro* para
embriões
ton.....Tonelada
UFMT.....Universidade Federal de Mato Grosso
VOL.....Volume ovariano
X.....“Versus”

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1. Importância da pecuária leiteira no Brasil.....	16
2.2. Aspectos raciais da raça Girolando.....	17
2.3. Eficiência produtiva de vacas leiteiras.....	18
2.4. Estágio de lactação X partição de nutrientes.....	19
2.5. Proteínas na alimentação de ruminantes.....	20
2.6. Co-produtos da agroindústria.....	21
2.7. Fontes de proteína utilizadas na alimentação de vacas leiteiras.....	21
2.8. Silagem de milho como volumoso para vacas leiteiras.....	23
2.9. Interação proteína X reprodução.....	25
2.10. Interação balanço energético X reprodução.....	26
2.11. Escore de Condição Corporal.....	27
2.12. Fatores que influenciam a dinâmica folicular ovariana.....	28
2.13. O folículo dominante.....	30
2.14. Produção <i>in vitro</i> de embriões.....	31
2.15. Referências bibliográficas.....	33
3. Capítulo 1: SUBSTITUIÇÃO DO FARELO DE SOJA PELO FARELO DE ALGODÃO DE ALTA ENERGIA SOBRE A DINÂMICA FOLICULAR OVARIANA EM VACAS LEITEIRAS.....	45
3.1. Introdução.....	47
3.2. Material e Métodos.....	48
3.3. Resultados e Discussão.....	52
3.4. Conclusão.....	60
3.5. Agradecimentos.....	61
3.5. Referências.....	61
4. Capítulo 2: FONTES PROTÉICAS E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE EMBRIÕES BOVINOS <i>IN VITRO</i>.....	65
4.1. Introdução.....	67
4.2. Material e Métodos.....	68
4.3. Resultados e Discussão.....	72
4.4. Conclusão.....	76
4.5. Agradecimentos.....	76
4.6. Referências.....	76
5. Conclusão geral.....	78
6. Anexos.....	79

1. Introdução

Após a liberação dos preços dos produtos lácteos pelo governo e o fim dos embargos econômicos, ocorridos na década de 1980 (FARINA, 1995), a produção leiteira nacional passou de 11,1 bilhões de litros de leite em 1980 para 25,7 bilhões em 2006. Naquele ano, o rebanho leiteiro de Mato Grosso somava 519.178 cabeças e produziu 583,9 milhões de litros de leite (CNPGL, 2007).

Mato Grosso alcançou o 11º lugar na produção leiteira do Brasil em 2006 apresentando uma produção de apenas 2,3% do volume nacional produzido (IBGE, 2008). Apesar disso, o Estado tem potencial para ser um grande produtor leiteiro pela grande extensão territorial e adaptação da raça Girolando ao clima tropical (ABCG, 2008).

As fêmeas Girolando são originadas do cruzamento entre duas outras raças, a Gir e a Holandês; onde cada uma possui características diferentes. A primeira é mais rústica, com menor produção leiteira, contudo mais resistente às temperaturas ambientais acima de 27°C e a ectoparasitas, adaptando-se bem em locais de clima tropical. Já a raça Holandesa apresenta maior produção leiteira que a raça Gir, entretanto não suporta temperaturas ambientais elevadas (acima de 27°C), podendo ter seu desempenho produtivo prejudicado em regiões de clima tropical (ALVES et al., 2002; ABCG, 2008).

As vacas leiteiras de alta produção são bastante exigentes, quando comparadas com vacas leiteiras de média a baixa produção, podendo ter seu desempenho produtivo e reprodutivo alterado se não receberem uma nutrição adequada. Suas necessidades em energia e proteína também são mais elevadas quando se compara com vacas leiteiras de menor produção de leite, uma vez que devem ser suficientes para atender os requisitos de manutenção, como também para a produção de leite e as funções reprodutivas (ALLEN, 2000; LEÃO et al., 2004; KNORR, 2007).

Como a proteína é o nutriente mais oneroso na alimentação de vacas leiteiras, freqüentemente procuram-se fontes protéicas alternativas para substituir um dos produtos mais usados, o farelo de soja, e assim reduzir o custo de produção (DA SILVA, 1995; PINA et al., 2006).

O farelo de soja possui aminoácidos essenciais (lisina) e só perde em qualidade para a proteína microbiana (MAESOOMI et al., 2006). Devido ao seu alto custo procuram-se fontes protéicas alternativas, como o farelo de algodão. Atualmente o produtor pode utilizar o farelo de algodão de alta energia que é extrusado e depois prensado e possui uma maior quantidade de energia quando comparado ao farelo de algodão comum (7% e 5% de extrato etéreo,

respectivamente). Contudo a presença de gossipol no farelo de algodão limita a sua utilização na alimentação animal, pois ele liga-se às proteínas presentes no rúmen prejudicando o metabolismo ruminal, além de ser tóxico (LINDSEY et al, 1980; SANTOS, 2006).

A escolha da fonte protéica e a sua forma de administração na dieta devem ser feitas com prudência uma vez que a nutrição interfere na reprodução. Caso ela não atenda às exigências do animal a função afetada será a reprodutiva. Em fêmeas, a deficiência nutricional acarreta atraso na entrada à puberdade, falha na detecção de cio e falha na ovulação, entre outros efeitos negativos (CARROL et al., 1988; LUCY et al., 1991; ARMSTRONG et al., 2001).

Nas fêmeas a eficiência reprodutiva pode ser mensurada através da dinâmica folicular, na qual se avalia o ciclo estral, duração das ondas foliculares, ovulação, formação de corpo lúteo e prenhez (DISKIN et al., 2003).

Para avaliar os efeitos da nutrição no desenvolvimento embrionário pode-se utilizar a produção *in vitro* (PIV) de embriões bovinos, pois nesta técnica simulam-se os processos de maturação oocitária, fecundação e desenvolvimento embrionário inicial, até formação de blastocisto, em laboratório (DE WIT et al., 2000; VIANA e BOLS, 2005); e com isso, pode-se avaliar se há interferência nutricional em cada fase do processo (BOLAND e LONERGAN, 2003).

Neste sentido, existe a necessidade de mais estudos que promovam uma melhora na eficiência reprodutiva das vacas leiteiras em lactação em função da fonte protéica dietética fornecida; levando-se em conta também a substituição por fontes protéicas alternativas, menos onerosas e presentes em grande quantidade no Estado de Mato Grosso, de modo que esta substituição minimize os custos.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Importância da pecuária leiteira no Brasil

A década de 1990 foi importante para a indústria láctea, pois nela ocorreu a liberação dos preços do leite ao produtor e ao consumidor. Houve também a liberação da importação dos produtos derivados do leite e de equipamentos necessários para modernização da indústria leiteira; com isso o Brasil passou a produzir mais leite (FARINA, 1995; GOMES e PONCHIO, 2007).

O Brasil é o 6º maior produtor de leite do mundo, com cerca de 23,5 bilhões de litros por ano, ficando atrás dos Estados Unidos, Índia, Alemanha, França e Rússia. No país, a indústria láctea gera 197 empregos diretos a cada R\$ 1 milhão faturado. No ano de 2006 foram produzidos no Brasil cerca de 25,40 bilhões de litros de leite de um rebanho de vacas ordenhadas de 20,95 bilhões de animais, gerando uma produtividade de 1.213 litros/vaca/ano. (IBGE, 2008).

Em 2006 a região Sudeste produziu 9,74 bilhões de litros de leite, seguida pelas regiões Sul, Centro-Oeste, Nordeste e Norte (7,04; 3,72; 3,19; 1,70 bilhões de litros de leite, respectivamente). Dentre os Estados, Minas Gerais produziu aproximadamente 28% da produção nacional de leite de 2006, seguida por Paraná (10,6%), Rio Grande do Sul (10,3%), Goiás (10,2%), São Paulo (6,9%), Santa Catarina (6,7%); Mato Grosso ficou em 11º lugar com 2,3% da produção nacional (IBGE, 2008).

Segundo a Associação Brasileira dos Criadores de Girolando os pequenos produtores de leite são responsáveis por cerca de 80% da produção láctea nacional. Entretanto, apesar deste montante a produtividade é pequena, quando se relaciona a quantidade de animais presentes com a quantidade de leite ordenhado, bem como o lucro obtido, principalmente em função das práticas que são realizadas em cada propriedade (ABCG, 2008).

Em 2003 Mato Grosso possuía um rebanho bovino de 584.727 cabeças e produziu 472,7 milhões de litros de leite. No ano de 2006 o Estado reduziu seu rebanho leiteiro para 519.178 cabeças e a produção foi de 583,9 milhões de litros de leite. Este aumento na produção leiteira deveu-se à maior especialização do produtor e ao melhoramento genético das fêmeas bovinas (IBGE, 2008).

2.2. Aspectos raciais da raça Girolando

Grande parte do rebanho leiteiro mato-grossense é constituída por animais mestiços, resultado de cruzamentos entre vacas Holandesas e Zebuínas, dentre eles a raça Girolando (ABCG, 2008).

A raça Girolando é composta por duas outras raças, a Gir e a Holandesa. A raça Holandesa é uma raça taurina (*Bos taurus taurus*) de origem européia (norte da Frísia, Holanda). No Brasil, os maiores produtores de gado Holandês são os Estados do Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo e Rio de Janeiro. Nestas regiões o clima favorece a criação desta raça, pois em temperaturas ambientais acima de 27°C estes animais têm o seu desempenho prejudicado. Os animais da raça Holandesa apresentam um maior porte e maior produção leiteira, necessitando ingerir uma maior quantidade de proteína e energia. O peso das fêmeas adultas varia de 500 a 700 kg enquanto os touros pesam de 900 a 1000 kg. A produção leiteira é de 4000 a 7000 kg por lactação de 305 dias, com teor de gordura de 3,5 a 4,0% (DUARTE, 2007).

A raça Gir é uma raça zebuína (*Bos taurus indicus*) de origem indiana (noroeste da Índia, montanhas de Gir). No Brasil é amplamente criada nas regiões áridas e semi-áridas, por ser uma raça mais resistente à presença de ectoparasitas e temperaturas ambientais mais elevadas. Seu peso médio é de 350 kg para fêmeas e 550 kg para touros, sendo considerada como um animal de porte médio. Sua produção leiteira pode variar de 1600 kg a 3600 kg por lactação de 305 dias, com teor de gordura em torno de 4,5% (DUARTE, 2007).

Os registros brasileiros de cruzamentos destas duas raças (Holandês e Gir) têm início a partir de 1940 e originaram a raça Girolando, que é produzida através de cruzamentos com graus de sangue 5/8 Holandês e 3/8 Gir (ABCG, 2008).

A produção leiteira, maior em fêmeas Holandesas, tende a diminuir quando ocorre o cruzamento com o animal Gir. Entretanto, a rusticidade e a capacidade de adaptação ao clima tropical aumentam, pois são características presentes nessa raça zebuína. Os zebuínos são mais resistentes ao estresse térmico, à baixa qualidade e disponibilidade de alimentos, à presença de parasitas, ao manejo inadequado da pastagem, entre outros (ALVES et al., 2002; ABCG, 2008).

Facó et al. (2002) avaliaram a produção leiteira de vacas Girolando e chegaram aos seguintes resultados: a produção média de leite por lactação foi de 3.168,3 kg e a duração média de lactação foi de 242,6 dias; obtendo um total de 13,06 L/leite por dia. Já Freitas et al. (2004) encontraram resultados com vacas mestiças Girolando na qual a média de

produção leiteira em 305 dias foi de 3.490 ± 1.737 kg e a lactação total, de 3.722 ± 1.968 kg. Estes dados indicam que houve melhoramento genético do gado mestiço Gir/Holandês voltado para a produção leiteira.

2.3. Eficiência produtiva de vacas leiteiras

A máxima capacidade produtiva de vacas leiteiras depende primeiramente de seu potencial genético, contudo a idade do animal, o “status” fisiológico (como prenhez, lactação), a nutrição, a sanidade, o manejo e o clima influenciam a expressão plena da capacidade reprodutiva (ALLEN, 2000).

A nutrição para a categoria das vacas leiteiras pode atingir até 70% dos custos de produção, sendo considerado o principal fator de eficiência num sistema de produção. Se estes animais forem nutricionalmente supridos a produção de leite será maior em comparação com fêmeas mal-nutridas (KNORR, 2007).

O consumo de matéria seca (CMS) é uma medida usada para se quantificar os nutrientes consumidos pelos animais, necessários para sua saúde e produção. Ele é influenciado pelo animal, pelo tamanho das partículas do alimento, pela frequência de alimentação e pelos fatores de dieta que afetam a fome e a saciedade, como palatabilidade (ALLEN, 2000; LEÃO et al., 2004).

Em vacas leiteiras a capacidade produtiva tende a ser melhor aproveitada quando se administra uma proteína de melhor qualidade na dieta, uma vez que estes animais possuem metabolismo diferente de vacas com aptidão para corte, em consequência do gasto calórico utilizado na manutenção, produção de leite e reprodução (BRITT et al., 2003). Vacas leiteiras nutricionalmente deficientes podem diminuir seu desempenho produtivo, implicando não só em menor produção leiteira, como em funções reprodutivas prejudicadas, como alteração na dinâmica folicular, diminuição na qualidade oocitária, maior intervalo entre cios, ocasionando maior intervalo entre partos (CARROL et al., 1988; BOLAND E LONERGAN, 2003).

No Brasil, as vacas leiteiras que possuem baixa a média produção de leite (até 15 litros de leite/dia no pico de lactação) podem ser criadas somente a pasto, visto que as gramíneas tropicais, quando o pasto é bem manejado, conseguem suprir as exigências das fêmeas. Entretanto, se a produção leiteira for acima de 12 a 15L/leite por animal no pico de lactação devem-se utilizar concentrados protéicos e energéticos que proporcionem ao animal maior eficiência produtiva (MATOS, 2007).

2.4. Estágio de lactação X partição de nutrientes

Para que uma vaca leiteira seja corretamente nutrida deve-se levar em consideração em qual fase de lactação ela está, pois a cada fase muda-se a forma com que os nutrientes são metabolizados pelo animal. Além disso, a idade da vaca, o nível de produção leiteira, a condição corporal, o consumo esperado de matéria seca (MS), o valor nutritivo dos alimentos que serão utilizados na formulação de rações também são relevantes (EMBRAPA, 2008).

Em cada fase de lactação das vacas leiteiras seu consumo e suas exigências nutricionais mudam no que diz respeito à quantidade de proteína e energia que deve ser ingerida, pois estão passando por fases fisiológicas (gestação, parto, lactação) totalmente distintas ao longo do ano (DAMASCENO et al., 2008). Por isso, o estágio de lactação influencia a partição de nutrientes de acordo com a fase em que se encontram: em terço inicial, terço médio e terço final de lactação. O terço inicial corresponde às primeiras semanas que sucedem o parto. Esta categoria bovina não consegue consumir alimentos em quantidades suficientes para manter a produção leiteira neste período (EMBRAPA, 2008).

Os requisitos nutricionais de vacas leiteiras aumentam rapidamente ao parto, quando a produção de leite tem início e a fêmea entra em balanço energético negativo (BEN) (ATHIÊ, 1992). Nesta fase, o rúmen possui menor capacidade física de enchimento devido ao aumento do útero durante a fase final de gestação. Mesmo com a pouca capacidade física de enchimento ruminal, a fêmea deve consumir o alimento fornecido e conseguir produzir uma grande quantidade de leite. Em virtude disso há mobilização de nutrientes do tecido adiposo, músculos e ossos nesse período e com isso as fêmeas acabam perdendo peso, pois os requisitos nutricionais são superiores ao consumo de alimentos (BUTLER, 2000).

Associado a isto, tem-se um pico de lactação, que acontece em torno de 5 a 7 semanas após o parto, período em que a capacidade de enchimento do rúmen ainda é baixa; já que o pico de consumo de alimentos ocorre cerca de 9 a 10 semanas pós-parto, ou seja, após o pico de produção (SVENNERSTEN-SJAUNJA e OLSSON, 2005). Por isso, é necessário que estas fêmeas sejam alimentadas com uma dieta que permita uma maior ingestão de nutrientes para que não percam muito peso e não comprometam sua atividade reprodutiva (CUMMINS et al., 2004).

No terço médio da lactação, as vacas já recuperaram parte das reservas corporais que foram perdidas no início da lactação e já estão prenhes novamente. Há uma diminuição na produção de leite e as vacas continuam a ganhar peso. Como o BEN já teve fim é mais fácil fazer com que as fêmeas ganhem peso durante o terço médio de lactação (EMBRAPA, 2008).

No terço final de lactação as vacas precisam recuperar suas reservas corporais e a produção de leite já está bem menor que nas outras fases. Após o terço final, 60 dias antes do parto, ocorre a secagem do leite, quando a fêmea se prepara para o próximo parto e lactação (EMBRAPA, 2008).

Uma maneira de se potencializar a ingestão dos alimentos é fornecer uma alimentação complementar composta por suplementos protéicos e energéticos. Estes suplementos disponibilizariam uma maior quantidade de nutrientes para os microrganismos ruminais e conseqüentemente para o animal, mesmo que este consuma uma menor quantidade de alimento (BUTLER, 2000; McNAMARA et al., 2003).

2.5. Proteínas na alimentação de ruminantes

Quando se consideram as exigências nutricionais de vacas leiteiras a proteína é o nutriente mais oneroso na dieta de vacas em lactação; e como a produção leiteira é dependente do aumento no consumo de proteína o custo de fontes protéicas tende a ser elevado (BUTLER, 2000; PINA et al., 2006).

O ideal é que a proteína bruta (PB) da dieta contenha proteína degradável no rúmen (PDR), pois os microrganismos ruminais utilizam o nitrogênio (N) oriundo da degradação da PDR. A PDR é encontrada em algumas fontes protéicas e em fontes de nitrogênio não-protéico (NNP) para produção de proteína microbiana. As proteínas não degradadas no rúmen (PNDR) e as proteínas microbianas vão ser digeridas no intestino (OLMOS COMONERO e BRODERICK, 2006; VÉRAS et al., 2007).

O conteúdo de PB freqüentemente está associado com o consumo de MS que o animal ingere (PINA, 2005). Segundo o National Research Council (NRC, 2001) vacas leiteiras com peso vivo em torno de 450 kg em terço médio de lactação produzindo 10 kg de leite/dia com 4% gordura devem consumir 11,9% de PB, sendo 84% de PDR, com base na matéria seca (MS).

A degradabilidade das proteínas da dieta também é muito importante, pois indica quanto da proteína será disponibilizada para digestão no rúmen do animal. Esta taxa é bem variável (30 a 100%), dependendo da fonte protéica e do seu processamento, mas a média de degradabilidade fica em torno de 60% (CUNHA et al., 1998). O farelo de soja possui 60% de degradabilidade, o farelo de algodão 62,3% e o milho possui 40% (LANA, 2007).

A PNDR deve possuir quantidades adequadas de lisina e metionina, pois são alguns dos aminoácidos essenciais na alimentação de ruminantes. Se houver um desbalanço de

aminoácidos fornecidos pela PNDR pode haver diminuição na produção de vacas leiteiras, pois os aminoácidos essenciais participam de reações enzimáticas e exercem funções hormonais ou estruturais importantes (SANTOS et al., 1998; VÉRAS et al., 2007).

À medida que se aumenta a densidade energética da dieta, aumentam-se as exigências em PDR, pois ocorre um aumento da energia fermentável no rúmen causando a multiplicação da microbiota ruminal e conseqüentemente, será necessária maior quantidade de N no rúmen (DAMASCENO et al., 2008).

2.6. Co-produtos da agroindústria

Para suprir as necessidades protéicas dos bovinos utilizam-se o farelo de soja e o farelo de algodão, que possuem aminoácidos essenciais (CUNHA et al., 1998). Os co-produtos fornecidos para os ruminantes são fontes muito ricas em proteína, energia e fibra (MAESOOMI et al., 2006).

O Estado do Mato Grosso se destaca como celeiro do Brasil. Por ser grande exportador de soja, milho e algodão acaba gerando co-produtos que podem ser utilizados na alimentação animal, barateando os custos de produção (IBGE, 2008).

A utilização destes co-produtos não é recente, mas vem crescendo atualmente em função da preocupação ecológica, do aproveitamento total dos alimentos e também da grande variação de preços ao longo do ano dos produtos tradicionais como a soja. Deve-se levar em consideração a vantagem econômica destes co-produtos, sem que se tenha prejuízo financeiro e produtivo (PEDROSO, 2006).

Os ruminantes conseguem transformar estes co-produtos em carne e leite, que têm, comparativamente, valor mais elevado (CUNHA et al., 1998). Essa transformação é realizada por microrganismos ruminais que realizam a fermentação do alimento, possibilitando o melhor aproveitamento dos co-produtos utilizados na dieta (SAMPAIO et al., 2000).

2.7. Fontes de proteína utilizadas na alimentação de vacas leiteiras

A soja pode ser utilizada na alimentação de ruminantes na forma de grão, podendo ser fornecida crua, tratada termicamente e/ou moída, ou como farelo de soja, mais comum. O grão de soja possui 91% de nutrientes digestíveis totais (NDT) (SANTOS, 2006) e 36 a 40% de proteína bruta (DA SILVA, 1995) sendo uma excelente fonte de nutrientes para os ruminantes além de ter boa aceitabilidade pelo animal (COSTA et al., 2005). Sua proteína está

entre as proteínas vegetais melhor balanceadas em aminoácidos, sendo superado em qualidade somente pela proteína microbiana. O farelo de soja contém um teor de proteína de 40 a 48% e é obtido após a extração do óleo do grão (LANA, 2007).

Beran et al. (2007) avaliaram diferentes tipos de dietas protéicas contendo girassol integral ou na forma de torta e soja: integral, parcialmente desengordurada ou farelo. Os resultados obtidos demonstraram que as dietas à base de soja obtiveram a melhor digestibilidade total, chegando a 99,40% da matéria seca, seguidos pelo girassol (cerca de 76% de digestibilidade). O farelo de soja apresentou o maior coeficiente de digestibilidade *in vitro* da MS (60,43% com 12 horas de incubação ruminal) indicando ser uma ótima opção de fonte de proteína para ruminantes.

Por questões econômicas tem havido interesse dos produtores em substituir o farelo de soja por fontes protéicas alternativas que possibilitem a manutenção da produtividade das fêmeas bovinas (IMAIZUMI, 2005). Uma fonte alternativa de proteína muito utilizada na alimentação de vacas leiteiras é o farelo de algodão. O farelo de algodão é um co-produto oriundo da extração do óleo obtido a partir do grão e possui 44,3% de PB, 5% de extrato etéreo (EE), 6,6% de matéria mineral (MM), 28% de fibra em detergente neutro (FDN) e 78% de nutrientes digestíveis totais (NDT) na MS (CUNHA et al., 1998; EMBRAPA, 2007).

Atualmente existe um novo tipo de farelo de algodão, que possui uma quantidade maior de EE, sendo chamado de farelo de algodão de alta energia. Este produto é obtido a partir da extrusão do caroço e posterior prensagem para a extração do óleo, o que confere ao alimento uma melhor digestibilidade quando comparado à torta de algodão e ao caroço de algodão integral. Sua composição bromatológica é: PB 26%, EE 7%, MM 7% (BUNGE, 2008).

O farelo de algodão é bastante usado na alimentação de ruminantes, devido ao seu baixo custo. Contudo, apresenta como limitações a concentração de lisina e metionina, que são aminoácidos essenciais. E, quando o farelo de algodão é administrado como única fonte de proteína na dieta de vacas leiteiras em lactação os requerimentos destes aminoácidos não são atendidos (MAESSOMI et al., 2006).

Além disso, a presença de gossipol também é um fator que pode restringir o uso do farelo de algodão para vacas em lactação, pois suas moléculas, quando em excesso, causam diminuição na fertilidade e exercem efeitos anti-proliferativos e citotóxicos que reduzem o metabolismo animal (UZAL et al., 2005; ROSSI JUNIOR et al., 2007).

O gossipol é um pigmento amarelo polifenólico presente na semente do algodão que funciona como uma proteção contra insetos, entretanto pode causar toxicidade em ruminantes.

A baixa intoxicação provocada pelo gossipol em ruminantes se deve ao pouco uso e também a pouca inclusão do farelo de algodão na formulação das dietas (LINDSEY et al, 1980).

Lindsey et al. (1980) realizaram um estudo com vacas em início de lactação em que foi utilizado farelo de soja ou farelo de algodão e observaram que mesmo com a presença do gossipol no farelo de algodão não houve redução no consumo deste tipo de ração.

Cunha et al. (1998) compararam a degradabilidade do caroço de algodão integral, o farelo de algodão e o caroço de algodão integral quebrado. Os resultados demonstraram que a dieta à base de farelo de algodão apresentou a maior degradabilidade (62,32% às 48 horas de incubação) quando comparado com o caroço de algodão integral (22,06% às 48 horas) e o caroço de algodão integral quebrado (57,15% às 48 horas).

Pina et al. (2006) compararam a digestibilidade do farelo de soja com o farelo de algodão em vacas Holandesas e observaram que o farelo de algodão teve menor digestibilidade na MS e PB (61,81% e 66,18%, respectivamente) que o farelo de soja (68,19% e 72,57%, respectivamente). Vêras et al. (2007) afirmaram que o farelo de algodão pode ser utilizado como 80% de PB da matéria natural do concentrado para bovinos sem afetar o consumo e digestibilidade.

Moreira et al. (2003) avaliaram a degradabilidade ruminal efetiva de diferentes fontes protéicas, entre elas o farelo de soja e o farelo de algodão. O farelo de soja apresentou maior degradabilidade (entre as fontes pesquisadas) de 77%; já o farelo de algodão apresentou degradabilidade efetiva de 59%. Isto indica que o farelo de algodão também possui uma boa disponibilidade de nitrogênio (N) para os microrganismos ruminais podendo ser, portanto, utilizado na alimentação de ruminantes.

2.8. Silagem de milho como volumoso para vacas leiteiras

Mesmo utilizando proteínas de boa qualidade, os ruminantes necessitam de fibra para manutenção do equilíbrio e atividade da microbiota ruminal e por isso, devem consumir alimentos volumosos, como fenos ou silagens. Na época seca, as forrageiras não conseguem suprir as necessidades qualitativas e/ou quantitativas da proteína bruta para o rebanho bovino; por isso é importante que se tenha uma reserva alimentar deste nutriente. Um método muito utilizado para obtenção desta reserva é a silagem (JOBIM et al., 2003).

A silagem é resultado da fermentação, na ausência de ar, da planta forrageira, após esta ser picada e acondicionada em uma estrutura de armazenamento. O processo de

ensilagem não melhora a qualidade da forragem, somente preserva por maior tempo seus nutrientes (JOBIM et al., 2003; LIZIERI, 2008).

A silagem pode ser feita com milho, sorgo, capim elefante entre outros. Entretanto, o custo de produção, a qualidade da fermentação e o valor nutritivo da silagem são muito variáveis e dependem de uma série de fatores, principalmente o tipo do material a ser ensilado e as técnicas e cuidados utilizados no processo de ensilagem (MELO et al., 1999, BERNDT et al., 2002; MAGALHÃES et al., 2004).

O milho (*Zea mays* L.) é bastante utilizado na confecção de silagem, pois é amplamente cultivado em todo o país, possui alto conteúdo de energia, facilidade de manejo no processo de ensilagem e tem alta produção de MS/ha (LIZIERI, 2008); além disso, aumenta a produção leiteira e a quantidade de proteína no leite quando comparada com a silagem de capim (BURKE et al., 2007).

Como os animais se adaptam bem à silagem de milho, a quantidade de concentrado utilizado na alimentação animal pode ser reduzida, diminuindo os custos com a alimentação (DIAS et al., 2001). Entretanto, seu custo de produção tende a ser mais elevado, quando comparado com a silagem de capim elefante, pois a produção por área é menor e isto pode restringir o uso da silagem de milho; além disso, deve ser misturada diariamente ao concentrado (JOBIM et al., 2003; ALVES et al., 2007). Ainda assim, a silagem de milho é muito utilizada como volumoso na alimentação de vacas leiteiras, representando de 40 a 50% da MS consumida por animais de alta produção (BURKE et al., 2007).

Diversos trabalhos têm testado diferentes fontes de volumosos para vacas leiteiras. Oliveira (2007) trabalhando com silagem de milho, silagem de capim elefante e cana-de-açúcar, em diferentes proporções concentrado:volumoso, para vacas leiteiras de média produção, observou que a silagem de milho na proporção 40% obteve os melhores resultados no consumo de nutrientes em relação aos demais volumosos. Dias et al. (2001) utilizaram silagem de milho ou silagem de sorgo junto com palma forrageira como volumoso para vacas leiteiras em lactação e obtiveram um maior consumo de MS no tratamento à base de silagem de milho.

A silagem de milho é uma opção de volumoso a ser utilizada na alimentação de vacas leiteiras. Contudo, deve ser associada a fontes protéicas para que se potencialize o metabolismo da microbiota ruminal.

2.9. Interação proteína X reprodução

A PB fornecida na dieta vai ser hidrolisada até ser convertida em peptídeo e em seguida em aminoácidos (AAs) no interior do rúmen pela microbiota ruminal. Os AAs são digeridos pelas bactérias as quais utilizam estes componentes para a síntese de proteína microbiana, ocasionando o crescimento deste microrganismo no rúmen. Entretanto, para que haja síntese de proteína microbiana no rúmen, deve haver ingestão de carboidratos pelo animal, os quais vão fornecer a energia necessária para os microorganismos ruminais realizarem sua síntese protéica. Se houver diminuição da disponibilidade de energia na dieta a microbiota ruminal irá converter os AAs em amônia (NH_3), que pode ser utilizada para síntese de proteína microbiana pelo próprio microrganismo ruminal ou ser transformada em uréia após absorção no epitélio ruminal e hepático, através do ciclo da uréia (CANFIELD et al., 1990; NRC, 2001).

O nível de proteína para vacas leiteiras de peso vivo médio de 450 kg, no terço médio de lactação, produzindo 10 kg de leite preconizado pelo NRC (2001) deve ser de 11,9% de PB, com base na MS, para que consigam suportar e estimular a produção de leite.

Para aumentar a produção das vacas leiteiras alguns produtores fornecem uma dieta com quantidades de proteína bruta acima do necessário; podendo, deste modo, causar problemas produtivos e reprodutivos (CANFIELD et al., 1990). Se houver excesso de PDR, há aumento de amônia na circulação além do normal (BUTLER, 1998; MCCORMICK et al., 1999), e este excesso não consegue ser metabolizado totalmente o que compromete as funções reprodutivas como, manutenção de níveis hormonais adequados para ocorrência da foliculogênese e conseqüente ovulação, além de alterar o pH uterino impedindo a fecundação e implantação do embrião no útero (OLIVEIRA et al., 2004).

Se houver excesso de uréia no plasma ocorre diminuição da qualidade oocitária (ARMSTRONG et al., 2001). Segundo Carrol et al. (1988) a alta concentração de uréia no plasma além de alterar o pH do ambiente reprodutivo também diminui a ligação do hormônio luteinizante (LH) com os receptores das células luteais ovarianas, o que leva a uma diminuição na concentração de progesterona (P4), interferindo negativamente na fertilidade (OLIVEIRA, 2001).

Howard et al. (1987) avaliaram dois níveis de proteína bruta (20% PB e 15% PB) para vacas leiteiras de alta produção no pós-parto e observaram que as fêmeas do grupo de 20% PB consumiram além (190%) dos seus requerimentos protéicos, tendo uma produção de leite

maior em relação ao outro grupo. Isto indica que dependendo da disponibilidade da proteína da dieta há um maior consumo sem haver prejuízo para as funções produtivas.

Armstrong et al. (2001) analisaram como a ingestão de proteína e energia influencia a dinâmica folicular e o desenvolvimento da competência oocitária em vacas. Os autores administraram 27 e 20 MJ/energia metabolizável de proteína bruta para as fêmeas (alto e baixo nível de proteína) e observaram que quanto maior a quantidade de proteína (27 MJ/energia metabolizável), maior o diâmetro dos folículos (12 mm de diâmetro).

2.10. Interação balanço energético X reprodução

O “status” nutricional é o principal fator que controla a fertilidade em vacas (ARMSTRONG et al., 2001); mas, logo após o parto, ocorre um aumento nos requerimentos nutricionais das fêmeas bovinas, para manutenção e produção de leite; assim a energia disponível para manutenção e lactação é superior à consumida, o que ocasiona uma mobilização de reserva corporal fazendo a fêmea entrar em balanço energético negativo (BEN) (BUTLER, 2000).

A intensidade e duração do BEN causam ineficiência reprodutiva em vacas leiteiras (LUCY et al., 1991). Como exemplos de alterações reprodutivas têm-se: falha nos folículos ovarianos em alcançar o tamanho adequado para maturação e ovulação, anestro, tempo anormal de desenvolvimento dos folículos, formação de cistos foliculares e demonstração de estro pouco expressiva (KENDRICK et al., 1999; ARMSTRONG et al., 2001). Além disso, pode ocorrer atraso na puberdade, ciclos estrais anormais, baixas taxas de concepção, baixas taxas de produção de embriões e reduzido peso de bezerros ao nascimento (BUTLER, 2000).

O melhoramento genético para produção leiteira fez com que houvesse um aumento na produção animal, contudo, houve um decréscimo na função reprodutiva (LEROY et al., 2005). Durante o BEN o retorno à ciclicidade ovariana das fêmeas bovinas leiteiras de alta produção pode ser mais demorado; pois como estas fêmeas possuem maior produção leiteira em relação às demais fêmeas, demandam maior gasto com energia para manutenção e produção, levando a uma diminuição das funções reprodutivas (BOLAND e LONERGAN, 2003).

Durante o BEN os níveis de hormônios reprodutivos, como o GnRH encontram-se muito baixos, pois não há reserva energética suficiente para manter os níveis hormonais normais (BEAM e BUTLER, 1998). A magnitude e a duração do BEN é um importante

regulador para o retorno da demonstração de estro e da ciclicidade após o parto (GWAZDAUSKAS et al., 2000).

A leptina é um hormônio que está relacionado com o BEN e a reprodução; é secretado pelos adipócitos e interfere na reprodução, pois a fêmea deve possuir uma quantidade mínima de tecido adiposo para que os níveis hormonais de leptina exerçam influência na alimentação e reprodução deste animal (LIEFERS et al., 2003; BERNABUCCI et al., 2006).

A leptina induz à saciedade do animal; conseqüentemente se houver perda de reserva corporal (tecido adiposo) o nível de leptina estará baixo, pois há mobilização da gordura e o animal sentirá mais fome. Entretanto, se houver reserva de tecido adiposo, os níveis de leptina estarão altos e este animal estará saciado. Ao restabelecer sua condição corporal, seus depósitos de gordura, o balanço energético estará normalizado e a reprodução não será mais afetada (BLOCK et al., 2003; SALMAN et al., 2007).

2.11. Escore de Condição Corporal

A condição corporal das vacas também pode ser uma ferramenta utilizada para avaliar o BEN e o retorno à atividade folicular ovariana. O escore de condição corporal (ECC) é um método subjetivo de avaliar a quantidade de energia que está depositada (reserva corporal) em forma de gordura e músculo nos animais. Essa avaliação é bastante usada em gado de leite e os animais devem ser examinados em três grandes áreas: lombo, pelve e inserção de cauda (EDMONSON et al., 1989; NRC, 2001).

O ECC é avaliado através de uma escala de 1 a 5 na qual 1 corresponde a uma vaca muito magra, sem depósito de gordura e 5, a um animal com excesso de gordura localizada entre as costelas, processos transversos e espinhosos, osso coxal e na inserção da cauda (EDMONSON et al., 1989; NRC, 2001).

Os ECC extremos são prejudiciais para a produção e reprodução das fêmeas; no escore 1, pelo fato da vaca não possuir energia suficiente para a atividade reprodutiva e no escore 5, por haver acúmulo excessivo de gordura no aparelho reprodutor feminino; os quais dificultam a ovulação e a secreção de hormônios reprodutivos, o que prejudica a eficiência reprodutiva (GWAZDAUSKAS et al., 2000).

O ECC tem ligação direta com o BEN. Quando as fêmeas estão em balanço energético negativo muito exacerbado, nota-se uma diminuição acentuada no ECC, prejudicando sua produtividade. Pode-se associar esse menor escore com atrasos no cio após o parto, intervalos entre ciclos maiores que 21 dias e ovulação pós-parto atrasada (SARTORI e MOLLO, 2007)

2.12. Fatores que influenciam a dinâmica folicular ovariana

Entende-se por dinâmica folicular o processo de crescimento e regressão contínuo dos folículos até o desenvolvimento do folículo dominante (LUCY et al., 1992). Durante o ciclo estral ocorrem de uma a quatro ondas foliculares, sendo mais comum acontecerem duas a três ondas por ciclo (RIBADU e NAKAO, 1999). Denomina-se onda a cada crescimento sincrônico de populações foliculares (LUCY et al., 1992; ALVES et al. 2002).

Para bovinos, cada onda da dinâmica folicular consiste em recrutamento, seleção e dominância de folículos. O recrutamento folicular tem duração de três a quatro dias e nesta fase um determinado número de folículos é selecionado e continua seu desenvolvimento. Inicia-se com o aumento dos níveis do hormônio folículo estimulante (FSH) (DRIANCOURT, 2001).

A onda de crescimento folicular inicia-se no dia zero, no qual uma população de folículos é recrutada e continua até que haja a seleção de um folículo que continua a crescer. Este é chamado de dominante; os outros folículos (os subordinados) regridem e têm-se então a fase de dominância. O primeiro folículo dominante de um ciclo de duas ondas ou o primeiro e o segundo, de um ciclo de três, regridem, pois os níveis de LH ainda não são suficientes para que ocorra a ovulação. O que inibe o pico de secreção de LH é a presença da progesterona (P4) secretada pelo corpo lúteo. O folículo dominante somente ovulará após o pico de hormônio luteinizante (LH); e isto só se consegue quando não há P4 presente na circulação (FORTUNE et al., 2001; EVANS, 2003).

Nas fêmeas bovinas existe um grande número de folículos primordiais presentes desde o seu nascimento; entretanto, esta quantidade tende a diminuir conforme essas estruturas vão se desenvolvendo, para pré-ovulatórios (de 100 a 1000 folículos) e ovulatórios (de 50 a 300 folículos) (DRIANCOURT, 2001).

De acordo com o seu diâmetro os folículos ovarianos podem ser classificados em 4 classes; os classe 1 possuem entre 3 e 5 mm de diâmetro, são pequenos e não possuem capacidade de ovulação; os classe 2 possuem de 6 a 9 mm de diâmetro e também não conseguem ovular; os classe 3 têm diâmetro de 10 a 15 mm e já podem ovular; os classe 4 são maiores que 15 mm de diâmetro e também podem ovular. Os folículos que iniciam o recrutamento folicular pertencem à classe 1. Durante a fase de recrutamento, ao ultrassom, observa-se uma diminuição dos folículos de classe 1 e aumento dos folículos classe 2. Esta mudança ocorre porque os folículos classe 1 crescem e passam a ser classificados como classe 2 e nesta fase não há reposição dos classe 1. O folículo dominante pertence à classe 3; quando

ele está presente o número de folículos classe 2 também diminui, passam a ser chamados de folículos subordinados, param de crescer e depois regridem. Em seguida, o folículo dominante torna-se classe 4, e concomitantemente, ocorre um novo aumento de folículos classe 1 (LUCY et al., 1992; FORTUNE et al., 2001).

As células da teca e granulosa, presentes em folículos que possuem 3 a 6 mm de diâmetro, secretam substâncias, como a aromatase e os hormônios como estradiol, progesterona, fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), inibina, activina, folistatina, entre outros que se acumulam no interior dos folículos formando o fluido folicular (GLISTER et al., 2006). O fluido folicular está em contato direto com as células da granulosa, participando das modificações que ocorrem dentro do folículo. Este fluido possui presença de determinados hormônios quando os folículos estão em crescimento e outros hormônios em folículos que já se tornaram dominantes; com isto auxiliam a determinar a maturação folicular (ZELEZNIK, 2004; LEROY et al., 2005).

A aromatase é uma enzima que está presente em folículos classes 2, 3 e 4. Ela é regulada pelo FSH, é responsável pela conversão de andrógeno em estrógeno (durante a esteroidogênese) que se acumula no interior do folículo e estimula o crescimento folicular (TIAN et al., 1995; FORTUNE et al., 2001).

O IGF também tem função importante no crescimento folicular uma vez que estimula a proliferação das células da granulosa e promove sinergismo com o FSH e LH, que realizam a diferenciação das células dos folículos em células da teca e da granulosa (ARMSTRONG et al., 2001; GLISTER et al., 2006). O nível de IGF está alto quando há divisão celular, ou seja, nas fases de recrutamento e seleção foliculares. Quando o nível de IGF estiver baixo não haverá multiplicação de células foliculares (DRIANCOURT, 2001).

A activina, folistatina e inibina agem em conjunto e são produzidas pelas células da granulosa dos folículos. A activina estimula a produção dos receptores de FSH nas células da granulosa, aumentando a esteroidogênese (GLISTER et al., 2006); já a inibina estimula o aumento dos andrógenos produzidos pelas células da teca. A folistatina, entretanto, vai regular a activina, pois estes dois hormônios vão se ligar e diminuir a produção de esteróides no folículo (PATEL et al., 2007).

A aromatase, a IGF e a activina estão presentes em folículos nas fases de recrutamento, seleção e dominância, pois estes folículos estão em constante crescimento (BEG e GINTHER, 2006). Já a folistatina e inibina estão presentes no folículo dominante, para que inibam o desenvolvimento dos demais folículos subordinados (GLISTER et al., 2006).

2.13. O folículo dominante

A divergência da onda folicular se inicia quando o folículo dominante começa a se desenvolver mais que os subordinados, sobressaindo-se em tamanho. Entretanto é difícil avaliar quando ocorre esta divergência. Uma das formas de se avaliar é comparar as características do folículo dominante com os subordinados durante uma onda de crescimento folicular (FORTUNE et al., 2001).

A capacidade de ovulação dos folículos pré-ovulatórios de fêmeas bovinas começa quando eles alcançam o tamanho mínimo de 10 mm de diâmetro, desenvolvem receptores para LH, que estão localizados na sua membrana plasmática e possuem de seis a sete camadas de células da granulosa (DRIANCOURT, 2001).

Após a formação da segunda camada de células da granulosa, a camada de células da teca interna começa a se pronunciar e a formação da cavidade antral se inicia. Esta cavidade é preenchida por um fluido constituído por hormônios esteróides, produzidos pelas células da teca e granulosa, o hormônio inibina e o fator de inibição de maturação do oócito (OMI). Posteriormente este folículo continua seu desenvolvimento sendo então chamado de folículo dominante ou antral nesta fase. O oócito presente em seu interior vai estar maduro, pronto para ser fecundado (ZELEZNIK, 2004; PERRY et al., 2005).

O que diferencia o folículo dominante dos subordinados é a produção de estradiol em grande quantidade. Fortune et al. (2001) avaliaram diferenças entre o folículo dominante e os folículos subordinados já nas fases iniciais de desenvolvimento. Embora o tamanho do folículo dominante seja ligeiramente superior aos demais os autores constataram que ele já secreta estradiol em maiores quantidades passando a apresentar características diferenciadas como: melhor suprimento sanguíneo, melhor resposta ao FSH e maior produção de estradiol e inibina. A inibina inibirá o crescimento dos demais folículos que se tornarão atresícos.

Quando o folículo começa a se tornar dominante ocorre uma de-sensibilização aos receptores de FSH e o folículo pré-ovulatório torna-se responsivo ao LH (DRIANCOURT, 2001). O folículo dominante ao secretar grandes quantidades de estradiol acaba por causar um *feedback* negativo na secreção de FSH, e intensifica a secreção de LH, proporcionando um pico. A grande quantidade de LH liberada liga-se aos receptores de membrana do folículo e ocorre a ovulação (ALVES et al., 2002; BEG e GINTHER, 2006).

2.14. Produção *in vitro* de embriões

As técnicas de produção *in vitro* (PIV) de embriões têm importante valor no estudo dos eventos biológicos básicos que ocorrem durante a maturação dos oócitos, fertilização e desenvolvimento embrionário inicial (GONÇALVES et al., 2001; SAGIRKAYA et al., 2006).

Uma das técnicas para obtenção de oócitos é feita através da aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU - *ovum pick up*), desenvolvida na década de 80, como uma forma mais simples e menos traumática para as fêmeas e sem a necessidade de sincronização prévia dos animais, podendo também ser utilizada em animais pré-púberes (SIRARD e LAMBERT, 1985; VIANA e BOLS, 2005).

Devido ao potencial de capacitação dos oócitos, estas células maturadas *in vivo* são de melhor qualidade de desenvolvimento que os oócitos maturados *in vitro*. Durante o processo de maturação oocitária ocorrem mudanças moleculares importantes, como maturação do citoplasma e núcleo, sendo que estas mudanças são mais aparentes quando *in vivo*. Estas mudanças indicam se o oócito é competente ou não para ser fecundado e esta competência é adquirida gradativamente durante o desenvolvimento folicular. Após a fecundação deve ocorrer a extrusão do grânulo cortical, descondensação da cabeça do espermatozóide, clivagem e ativação do genoma embrionário (BILODEAU-GOESEELS e PANISH, 2002; MACHATKOVA et al., 2004).

Os oócitos captados através da OPU vêm de folículos que estão em diferentes estágios de desenvolvimento, sofrendo ações de diferentes hormônios, como estrógeno, progesterona, LH, FSH (CASTILHO et al., 2007), afetando a quantidade de oócitos ideais para a fecundação, ou seja, os maturados (DE WIT et al., 2000).

Através do uso da PIV 60 a 80% dos oócitos de boa qualidade são fertilizados e 30 a 40% destes chegam ao estágio de blastocistos (CHAUHAN et al., 1999). Se o oócito possuir células do cumulus ao seu redor, cuja função é proteger o oócito, haverá um desenvolvimento oocitário melhor quando comparado com oócitos que não possuem células do cumulus. Além disso, as células do cumulus são responsáveis pela manutenção da maturação citoplasmática dos oócitos até estágio de metáfase II. Se não houver o complexo cumulus-oócito (CCO) haverá falha na maturação do oócito, pois não há proteção para o mesmo (TATEMOTO et al., 2000; CASTILHO et al., 2007). Os oócitos classificados em grau 4 de acordo com IETS (1998) não possuem células do cumulus e dificilmente irão clivar após fecundação (TATEMOTO et al., 2000).

Tatemoto et al. (2000) avaliaram o efeito dos complexos cumulus-oócitos (CCO) sobre a maturação nuclear e citoplasmática e verificaram que as células do cumulus protegeram os oócitos e permitiram sua maturação nuclear e citoplasmática, enquanto os oócitos sem CCO sofreram apoptose e não se desenvolveram.

Os oócitos provenientes de folículos de maiores tamanhos resultam em maiores taxas de clivagem, provavelmente porque correspondam aos folículos dominantes, prontos para ovular e possuam oócitos capacitados para fecundação (CASTILHO et al., 2007).

Castilho et al. (2007) avaliaram a porcentagem de embriões clivados e blastocistos desenvolvidos provenientes de oócitos obtidos antes, durante e após a divergência folicular da primeira onda folicular (60, 96 e 108 horas, respectivamente) e verificaram que a taxa de clivagens e a taxa de blastocistos formados diminuem de maneira significativa ($p < 0,05$) à proporção que se afasta do início da primeira onda folicular (60 horas; 80,90% e 48,91%; 96 horas; 61,90% e 22,85%; 108 horas; 46,08% e 10,43%, respectivamente); provavelmente devido à existência de um folículo dominante e os demais atrésicos ou subordinados.

Bilodeau-Goeseels e Panish (2002) avaliaram os efeitos da qualidade oocitária no desenvolvimento dos oócitos. Os oócitos foram classificados de acordo com a aparência do cumulus e citoplasma oocitário em graus I, II, III, IV, onde I são os oócitos de melhor qualidade e IV os de pior qualidade. Os oócitos grau I e II apresentaram uma maior taxa de clivagem (77,2% e 83,6%) quando comparados com os oócitos classes III e IV (35,9%). Quanto melhor a classificação dos oócitos clivados, maior o número de blastocistos produzidos (13,9; 13,7 e 0,3% para os graus I, II, e III+IV, respectivamente). Os autores concluíram que a qualidade dos oócitos é função do número de camadas do cumulus e que a textura do ooplasma tem efeito significativo na clivagem.

Devido às condições agroindustriais do Estado de Mato Grosso a utilização de co-produtos da agroindústria, como farelo de soja e farelo de algodão na alimentação de animais leiteiros tem-se mostrado uma alternativa interessante, principalmente pela redução nos custos. Entretanto, não existem muitos trabalhos realizados na região Centro-Oeste avaliando o fornecimento destes co-produtos quanto aos aspectos produtivos e reprodutivos de vacas da raça Girolando.

Com base nisto, o presente trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar níveis de substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia em concentrados para vacas de leite em lactação sobre a dinâmica folicular e o desenvolvimento embrionário inicial.

Os trabalhos serão submetidos à Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal (Normas da Revista em Anexo).

2.15. Referências bibliográficas

ABCG. Associação Brasileira de Criadores de Girolando. **Generalidades**. Disponível em: <<http://www.girolando.com.br/site/ogirolando/generalidades.php>>, Acesso em 07 de janeiro de 2008.

ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1598–1624, 2000.

ALVES, N.G., DA COSTA, E.P., GUIMARÃES, J.D., SILVA, M.R., ZAMPERLINI, B., COSTA, F.M.J., SANTOS, A.D.F., NETO, T.M. Atividade ovariana em fêmeas bovinas da raça holandesa e mestiças holandês x zebu, durante dois ciclos estrais normais consecutivos - **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.627-634, 2002.

ALVES, A.C.N., MATTOS, W.R.S., SANTOS, F.A.P., LIMA, M.L.P., DE PAZ, C.C.P., PEDROSO, A.M. Substituição parcial de silagem de milho por farelo de glúten de milho desidratado na alimentação de vacas holandesas em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, supl, p.1590-1596, 2007.

ARMSTRONG, D.G., MCEVOY, T.G., BAXTER, G., ROBINSON, J.J., HOGG, C.O., WOAD, K.J., WEBB, R., SINCLAIR, K.D. Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production *in vitro*: Associations with the ovarian insulin-like growth factor system. **Biology of Reproduction**, v.64, p.1624-1632, 2001.

ATHIÊ, F. **Gado leiteiro: Uma proposta adequada ao manejo**. São Paulo:Nobel, 101 f., 1992.

BEAM, S.W., BUTLER, W.R. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.121-131, 1998.

BEG, M.A., GINTHER, O.J. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. **Reproduction**, v.132, p.365–377, 2006.

BERAN, F.H.B., SILVA, L.D.F., RIBEIRO, E.L.A., ROCHA, M.A., EZEQUIEL, J.M.B., CORREA, R.A., CASTRO, V.S., SILVA, K.C.F. Avaliação da digestibilidade de nutrientes, em bovinos, de alguns alimentos concentrados pela técnica de três estádios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.130-137, 2007.

BERNABUCCI, U., BASIRICO, L., LACETERA, N., MORERA, P., RONCHI, B., ACCORSI, P. A., SEREN, E., NARDONE, A. Photoperiod affects gene expression of leptin and leptin receptors in adipose tissue from lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.4678–4686, 2006.

BERNDT, A., HENRIQUE, W., LANNA, D.P.D., LEME, P.R., ALLEONI, G.F. Milho Úmido, Bagaço de Cana e Silagem de Milho em Dietas de Alto Teor de Concentrado. 2. Composição Corporal e Taxas de Deposição dos Tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.5, p.2105-2112, 2002.

BILODEAU-GOESSELS, S., PANISH, P. Effects of oocyte quality on development and transcriptional activity in early bovine embryos. **Animal Reproduction Science**. v.71, p.143-155, 2002.

BLOCK, S. S., SMITH, J. M., EHRHARDT, R. A., DIAZ, M. C., RHOADS, R. P., VAN AMBURGH, M. E., BOISCLAIR, Y. R. Nutritional and developmental regulation of plasma leptin in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3206–3214, 2003.

BOLAND, M.P., LONERGAN, P. Effects of nutrition on fertility in dairy cows. **Advances in Dairy Technology**, v.5, p.19-33, 2003.

BRITT, J.S., THOMAS, R.C., SPEER, N.C., HALL, M.B. Efficiency of converting nutrient dry matter to milk in Holstein herds. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3796–3801, 2003.

BUNGE ALIMENTOS. **Farelo de algodao de alta energia**. Disponível em: <<http://www.bungealimentos.com.br/nutricao/artigos.asp?id=3048>>, Acesso em: 20 de janeiro de 2008.

BURKE, F., MURPHY, J.J., O'DONOVAN, M.A., O'MARA, F.P., KAVANAGH, S., MULLIGAN, F.J. Comparative Evaluation of Alternative Forages to Grass Silage in the Diet of Early Lactation Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.908–917, 2007.

BUTLER, W.R. Symposium: Optimizing protein nutrition for reproduction and lactation. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2533-2539, 1998.

BUTLER, W.R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v.60–61, p.449-457, 2000.

CANFIELD, R.W., SNIFFEN, C.J., BUTLER, W.R. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.2342-2349, 1990.

CARROLL, D.J., BARTON, B.A., ANDERSON, G.W., SMITH, R.D. Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.3470-3481, 1988.

CASTILHO, C., ASSIS, G.S., GARCIA, J.M. Influência do diâmetro e da fase folicular sobre a competência in vitro de oócitos obtidos de novilhas da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.2, p.288-294, 2007.

CHAUHAN, M.S., NADIR, S., BAILEY, T.L., PRYOR, A.W., BUTLER, S.P., NOTTER, D.R., VELANDER, W.H., GWAZDAUSKAS, F.C. Bovine follicular dynamics, oocyte recovery, and development of oocytes microinjected with a green fluorescent protein construct. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.918–926, 1999.

CNPGL. Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Leite. **Produção de leite no Brasil cresceu 131% desde 1980.** Disponível em: <<http://www.cnpgl.embrapa.br/jornaleite/jornaldoleite.php?id=265>>, Acesso em: 22 de dezembro de 2007.

COSTA, M.A.L., VALADARES FILHO, S.C., VALADARES, R.F.D., PAULINO, M.F., CECON, P.R., PAULINO, P.V.R., PAIXÃO, M.L., CHIZZOTTI, M.L. Validação das equações do NRC (2001) para predição do valor energético de alimentos nas condições brasileiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.280-287, 2005.

CUMMINS, K.A., LONERGAN, S.M., HUFF-LONERGAN, E. Short communication: Effect of dietary protein depletion and repletion on skeletal muscle calpastatin during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.1428–1431, 2004.

CUNHA, J.A., MELOTTI, L., LUCCI, C.S. Degradabilidade no rúmen da matéria seca e da proteína do caroço integral e do farelo de algodão (*Gossypium hirsutum L.*) pela técnica dos sacos de náilon *in situ* com bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.35, n.2, p.96-100, 1998.

DA SILVA, A. Soja na alimentação de bovinos leiteiros. In: PEIXOTO, A.M., MOURA, J.C., FARIA, V.P. **Nutrição de bovinos: conceitos básicos e aplicados**. 5^a ed., Piracicaba:FEALQ, 1995, p.339-358.

DAMASCENO, J.C.; DOS SANTOS, G.T.; CÔRTEZ, C., REGO, F.C.A. **Aspectos da alimentação da vaca leiteira**. Disponível em: <<http://www.nupel.uem.br/pos-ppz/aspecto-08-03.pdf>>, Acesso em: 07 de Janeiro de 2008.

DE WIT, A.A.C., WURTH, Y.A., KRUIP, T.A.M. Effect of ovarian phase and follicle quality on morphology and developmental capacity of the bovine cumulus-oocyte complex. **Journal of Animal Science**, v.78, p.1277–1283, 2000.

DIAS, A.M.A., BATISTA, A.M.V., FERREIRA, M.A., LIRA, M.A., SAMPAIO, I.B.M. Efeito do estágio vegetativo do sorgo (*Sorghum bicolor*, (L.) Moench) sobre a composição química da silagem, consumo, produção e teor de gordura do leite para vacas em lactação, em comparação à silagem de milho (*Zea mays* (L.)). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, (6S), p.2086-2092, 2001.

DISKIN, M.G., MACKEY, D.R., ROCHE, J.F., SREENAN, J.M. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.345–370, 2003.

DRIANCOURT, M.A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v.55, p.1211-1239, 2001.

DUARTE, A.A. **Principais raças de bovinos leiteiros do Brasil**. Disponível em: <<http://www.etecjbento.com.br/downloads/antonio/prblb.doc>>, Acesso em: 15 de dezembro de 2007.

EDMONSON, A.J., LEAN, I.J., WEAVER, L.D., FARVER, T., WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.72, p.68-78, 1989.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Subprodutos do Algodão**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoAgriculturaFamiliar/subprodutos.htm>>, Acesso em: 22 de agosto de 2007.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistemas de Alimentação**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteCerrado/alimentacao/13.html>>, Acesso em: 07 de janeiro 2008.

EVANS, A.C.O. Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. **Reproduction in Domestic Animals**,v.38, p.240-246, 2003.

FACÓ, O., LOBO, R.N.B., MARTINS FILHO, R., MOURA, A.A.A. Análise do desempenho produtivo de diversos grupos genéticos Holandês x Gir no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.5, p.1944-1952, 2002.

FARINA, E.M.M.Q. Cadeia produtiva do leite: situação atual e perspectivas do mercado. In: Simpósio Internacional O Futuro dos Sistemas de Produção de Leite no Brasil. Juiz de Fora. 1995. **Anais...**Juiz de Fora:EMBRAPA-CNPGL, 1995.

FREITAS, A.F., FREITAS, M.S., COSTA, C.N., TEIXEIRA, N.M., MENEZES, C.R.Â., CUNHA, I.A., JÚNIOR, J.L. Avaliação genética de vacas da raça Girolando utilizando modelo animal. In: V Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal. **Anais...**Pirassununga:SP, 2004.

FORTUNE, J.E., RIVERA, G.M., EVANS, A.C.O., TURZILLO, A.M. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biology of Reproduction** v.65, p.648–654, 2001.

GLISTER, C., GROOME, N.P., KNIGHT, P.G. Bovine follicle development is associated with divergent changes in activin-A, inhibin-A and follistatin and the relative abundance of different follistatin isoforms in follicular fluid. **Journal of Endocrinology**, v.188, p.215-225, 2006.

GOMES, A.L., PONCHIO, L.A. **A função custo no setor do leite: uma abordagem para a região centro-sul do Brasil.** Disponível em: <http://www.cepea.esalq.usp.br/pdf/artigo_leite_01.pdf>, Acesso em: 16 de dezembro de 2007.

GONÇALVES, P.B.D., VISITIN, J.A., OLIVEIRA, M.A.L., MONTAGNER, M.M., COSTA, L.F.S. Produção *in vitro* de embriões. In: GONÇALVES, P.B.D., FIGUEIREDO, J.R., FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal.** São Paulo:Varela, 2001. p.195-226.

GWAZDAUSKAS, F.C., KENDRICK, K.W., PRYOR, A.W., BAILEY, T.L. Symposium: folliculogenesis in the bovine ovary - Impact of follicular aspiration on folliculogenesis as influenced by dietary energy and stage of lactation. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1625–1634, 2000.

HOWARD, H. J., AALSETH, E.P., ADAMS, G.D., BUSH, L.J. Influence of dietary protein on reproductive performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.1563-1571, 1987.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal**. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal_\[anual\]/2006/](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal_[anual]/2006/)>, Acesso em: 07 de janeiro de 2008.

IETS. **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões**. 3 ed. Illinois Stringfellow, D.A. & Seidel, S.M., p.180,1998.

IMAIZUMI, H. **Suplementação protéica, uso de subprodutos agroindustriais e processamento de milho em dietas para vacas leiteiras em confinamento**. 2005. 182f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2005.

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, 2003.

KENDRICK, K.W., BAILEY, T.L., GARST, A.S., PRYOR, A.W., AHMADZADEH, A., M.AKERS, R., PEARSON, R.E., EYESTONE, W.E., GWAZDAUSKAS, F.C. Effects of energy balance on hormones, ovarian activity, and recovered oocytes in lactating Holstein cows using transvaginal follicular aspiration. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.1731 – 1740, 1999.

KNORR, M. **O leite como indicador nutricional em vacas**. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal (VET 00036) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS. 2002. Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/leite_indicador.pdf>, Acesso em 23 de dezembro de 2007.

LANA, R.P. Metabolismo dos macronutrientes. In: LANA, R.P. **Nutrição e alimentação animal (mitos e realidades)**. 2ª ed., Viçosa:UFV, 2007, p.77-102.

LEÃO, M.I., VALADARES FILHO, S.C., RENNÓ, L.N., GONÇALVES, L.C., CECON, P.R., AZEVEDO, J.A.G., VALADARES, R.F.D. Consumos e digestibilidades totais e parciais de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e extrato etéreo em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas metodologias de coleta de digestas abomasal e omasal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1604-1615, 2004.

LEROY, J.L.M.R., BOLS, P.E.J., OPSOMER, G., VAN SOOM, A., DE KRUIF, A. Aspiração de oócitos (ovum pick-up), a técnica ideal para o estudo do ambiente intra-folicular e da qualidade oocitária em vacas de leite de alta produção. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, p.5-18, Supl.1, 2005.

LIEFERS, S.C., VEERKAMP, R.F., TEPAS, M.F.W., DELAVAUD, C., CHILLIARD, Y., VANDERLENDE, T. Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight and estrus in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.799–807, 2003.

LINDSEY, T.O., HAWKINS, G.E., GUTHRIE, L.D. Physiological responses of lactating cows to gossypol from cottonseed meal rations. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.562-573, 1980.

LIZIERI, R.S. **Ensilagem de forrageiras tropicais**. Disponível em: <<http://www.forragicultura.com.br/arquivos/Ensilagemforrageirastropicais.pdf>>, Acesso em: fevereiro de 2008.

LUCY, M.C., STAPLES, C.R., MICHEL, F.M., THATCHER, W.W. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, p. 473-482, 1991.

LUCY, M.C., SAVIO, J.D., BADINGA, L., DE LA SOTA, R.L., THATCHER, W.W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3615-3626, 1992.

MACHATKOVA, M., KRAUSOVA, K., JOKESOVA, E., TOMANEK, M. Developmental competence of bovine oocytes: effects of follicle size and the phase of follicular wave on in vitro embryo production. **Theriogenology**, v.61, p.329–335, 2004.

MAESOOMI, S.M., GHORBANI, G.R., ALIKHANI, M., NIKKHAH, A. Short Communication: Canola Meal as a Substitute for Cottonseed Meal in Diet of Midlactation Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.5, p.1673–1677, 2006.

MAGALHÃES, A.L.R., CAMPOS, J.M.S., VALADARES FILHO, S.C., TORRES, R.A., MENDES NETO, J., ASSIS, A.J. Cana-de-Açúcar em substituição à silagem de milho em dietas para vacas em lactação: Desempenho e viabilidade econômica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.5, p.1292-1302, 2004.

MATOS, L.L. **Estratégias para redução do custo de produção de leite e garantia de sustentabilidade da atividade leiteira.** Disponível em: <<http://www.nupel.uem.br/custosleite.pdf>>, Acesso em 23 de dezembro de 2007.

MCCORMICK, M.E., FRENCH, D.D., BROWN, T.F., CUOMO, G.J., CHAPA, A.M., FERNANDEZ, J.M., BEATTY, J.F., BLOUIN, D.C. Crude protein and rumen undegradable protein effects on reproduction and lactation performance of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p.2697–2708, 1999.

McNAMARA, S., O'MARA, F.P., RATH, M., MURPHY, J.J. Effects of different transition diets on dry matter intake, milk production, and milk composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2397–2408, 2003.

MELO, W.M.C., VON PINHO, R.G., CARVALHO, M.L.M., VON PINHO, E.V.R. Avaliação de cultivares de milho para produção de silagem na região de Lavras – MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.23, n.1, p.31-39, 1999.

MOREIRA, J.F.C., RODRÍGUEZ, N.M., FERNANDES, P.C.C., VELOSO, C.M., SALIBA, E.O.S., GONÇALVES, L.C., BORGES, I., BORGES, A.L.C.C. Concentrados protéicos para bovinos. 1. Digestibilidade *in situ* da matéria seca e da proteína bruta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.55, n.3, 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) **Nutrient requirement of the dairy cattle.** 7.ed. Washington:National Academic Science. 2001. 381p.

OLIVEIRA, M.M.N.F. **Uréia para vacas leiteiras no pós-parto: dinâmica folicular e características reprodutivas**. 2001. 93f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

OLIVEIRA, M.M.N.F., TORRES, C.A.A., COSTA, E.P., CARVALHO, G.R. Uréia para vacas leiteiras no pós-parto: Teor plasmático de uréia e pH uterino. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.1, p.123-127, 2004.

OLIVEIRA, I.S. **Avaliação de volumosos na deita de vacas leiteiras na época seca: consumo, digestibilidade, produção de leite e simulação do CNCPS**. 2007. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2007.

OLMOS COLMENERO, J.J., BRODERICK, G.A. Effect of amount and ruminal degradability of soybean meal protein on performance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.1635–1643, 2006.

PATEL, O.V., BETTEGOWDA, A., IRELAND, J.J., COUSSENS, P.M., LONERGAN, P., SMITH, G.W. Functional genomics studies of oocyte competence: evidence that reduced transcript abundance for follistatin is associated with poor developmental competence of bovine oocytes. **Reproduction**, v.133, p.95-106, 2007.

PEDROSO, A.M. **Substituição do milho em grãos por subprodutos da agroindústria na ração de vacas leiteiras em confinamento**. 2006. 119f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens, Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2006.

PERRY, G.A., SMITH, M.F., LUCY, M.C., GREEN, J.A., PARKS, T.E., MACNEIL, M.D., ROBERTS, A.J., GEARY, T.W. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.102, n.14, p.5268–5273, 2005.

PINA, D.S. **Fontes de proteína para vacas em lactação**. 2005. 61 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

PINA, D.S., VALADARES FILHO, S.C., VALADARES, R.F.D., CAMPOS, J.M.S., DETMANN, E., MARCONDES, M.I., OLIVEIRA, A.S., TEIXEIRA, R.M.A. Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes, produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1543-1551, 2006.

RIBADU, A.Y., NAKAO, T. Bovine reproductive ultrasonography: A review. **Journal of Reproduction and Development**, v.45, n.1, p.13-28, 1999.

ROSSI JUNIOR, P., SAMPAIO, A.A.M., VIEIRA, P.F. Disponibilidade e absorção de aminoácidos em bovinos alimentados com diferentes fontes de compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.960-967, 2007.

SAGIRKAYA, H., MISIRLIOGLU, M., KAYA, A., FIRST, N.L., PARRISH, J.J., MEMILI, E. Developmental potential of bovine oocytes cultured in different maturation and culture conditions. **Animal Reproduction Science**, v. 101, p. 225-240, 2006.

SALMAN, A.K.D., COSTA, R.B., GIACHETTO, P.F. Gene da leptina em ruminantes. **Revista electrónica de Veterinaria**, v.8, n.12, 2007.

SAMPAIO, A.A.M., VIEIRA, P.F., BRITO, R.M. Digestão total e parcial de nutrientes em bovinos alimentados com rações contendo levedura, uréia ou farelo de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.2, p.589-597, 2000.

SANTOS, F.A.P., SANTOS, J.E.P., THEURER, C.B., HUBER, J.T. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: A 12-year literature review. *Journal of Dairy Science*, v.81, p.3182–3213, 1998.

SANTOS, F.A.P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T., PIRES, A.V., OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. 1ª ed., Jaboticabal:FUNEP, 2006, p. 255-284.

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.

SIRARD, M.A., LAMBERT, R.D. *In vitro* fertilization of bovine follicular oocytes obtained by laparoscopy. **Biology of Reproduction**, v.33, p.487-494, 1985.

SVENNERSTEN-SJAUNJA, K., OLSSON, K. Endocrinology of milk production. **Domestic Animal Endocrinology**, v.29, p.241–258, 2005.

TATEMOTO, H., SAKURAI, N., MUTO, N. Protection of porcine oocytes against apoptotic cell death caused by oxidative stress during *in vitro* maturation: role of cumulus cells. **Biology of Reproduction**, v.63, p.805-810, 2000.

TIAN, X.C., BERNDTSON, A.K., FORTUNE, J.E. Differentiation of bovine preovulatory follicles during the follicular phase is associated with increases in messenger ribonucleic acid for cytochrome P450 side-chain cleavage, 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase, and P450 17 α -hydroxylase, but not P450 aromatase. **Endocrinology**, v.136, p.5102-5110, 1995.

UZAL, F. A., PUSHNER, B., TAHARA, J.M., NORDHAUSEN, R.W. Gossypol toxicosis in a dog consequent to ingestion of cottonseed bedding. **Journal of Veterinary Diagnostic and Investigation**. v.17, p.626-629, 2005.

VÉRAS, R.M.L., VALADARES FILHO, S.C., AZEVÊDO, J.A.G., DETMANN, E., PAULINO, M.F., FONSECA, M. A., SAMPAIO, C.B. Níveis de proteína na dieta de bovinos Nelore de três condições sexuais: Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, (supl.), p.1199-1211, 2007.

VIANA, J.H.M., BOLS, P.E.J. Variáveis biológicas associadas a recuperação de complexos cumulus-oócito por aspiração folicular. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, Suplemento 1, p.1-4, 2005.

ZELEZNIK, A.J. The physiology of follicle selection. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.2, n.31, p.1-7, 2004.

3. Capítulo 1

Substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia sobre a dinâmica folicular ovariana em vacas leiteiras

*Replacement of soybean meal for high energy cottonseed meal on ovarian follicular
dynamics in dairy cows*

Resumo

O presente trabalho foi realizado com objetivo de avaliar a substituição do farelo de soja pelo de farelo de algodão de alta energia no concentrado sobre o consumo de matéria seca, escore corporal e dinâmica folicular em vacas leiteiras. Foram utilizadas cinco vacas Girolando, distribuídas em quadrado latino 5x5, e foram submetidas a dietas com cinco níveis de substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia: 0% (FA0), 15% (FA15), 30% (FA30), 45% (FA45) e 60% (FA60). Cada período teve duração de 18 dias, sendo 7 dias para adaptação e 11 dias para coleta de dados. Foram avaliados: consumo de matéria seca, produção leiteira, peso vivo, escore corporal, dimensão ovariana, diâmetro e classificação dos folículos ovarianos e presença de corpos lúteos e cistos. As avaliações ovarianas foram realizadas através de ultrassonografia trans-retal. Foi observado efeito de tratamento ($p < 0,0001$) sobre consumo de matéria seca, consumo de matéria seca relativo e produção leiteira. Os consumos de matéria seca dos tratamentos FA15 ($16,1 \pm 0,6$ kg) e FA60 ($15,9 \pm 0,6$ kg) diferiram dos tratamentos FA0 ($14,4 \pm 0,5$ kg) e FA45 ($14,0 \pm 0,6$ kg). O CMS relativo dos tratamentos FA15 ($2,9 \pm 0,001\%$) e FA60 ($2,8 \pm 0,001\%$) diferiram do tratamento

25 FA45 ($2,5 \pm 0,001\%$). Os tratamentos FA0 ($14,4 \pm 0,2$ L), FA30 ($14,6 \pm 0,3$ L) e FA45
26 ($14,5 \pm 0,2$ L) diferiram ($p < 0,0001$) dos tratamentos FA15 ($12,4 \pm 0,4$ L) e FA60
27 ($13,7 \pm 0,4$ L) para produção de leite. Não houve diferença ($p > 0,05$) nas demais
28 variáveis. Com base nos resultados conclui-se que substituições do farelo de soja pelo
29 farelo de algodão de alta energia até o nível de 60% não alteram escore corporal e
30 dinâmica folicular ovariana.

31

32 **Palavras-chave:** co-produtos, folículos, fontes de proteína, Girolando

33

34 **Summary**

35

36 This work was realized with aim to evaluate the replacement of soybean meal for
37 cottonseed meal in the composition of concentrate on the dry matter intake, milk yield,
38 body score and ovarian follicular dynamics of dairy cows. Were used five Holstein-
39 Zebu breeding cows, arranged in latin square 5x5, and tested five levels of replacement
40 of soybean meal by high-energy cottonseed meal: 0% (FA0), 15% (FA15), 30%
41 (FA30), 45% (FA45) and 60% (FA60). Each period had duration of 18 days, being 7
42 days for adaptation and 11 days for collecting data. It was evaluated dry matter intake,
43 milk yield, live weight, body score, ovarian size, diameter and classification of ovarian
44 follicles and presence of corpora lutea and cysts. The assessments were made through
45 ovarian trans-rectal ultrasound. It was possible to demonstrate effect of treatment
46 ($p < 0.0001$) on dry matter intake, relative dry matter intake and milk yield. The dry
47 matter intake of treatment FA15 (16.1 ± 0.6 kg) and FA60 (15.9 ± 0.6 kg) differ from
48 treatments FA0 (14.4 ± 0.5 kg) and FA45 (14.0 ± 0.6 kg). The relative dry matter intake of

49 treatments FA15 ($2.9\pm 0.001\%$) and FA60 ($2.8\pm 0.001\%$) differ of treatment FA45
50 ($2.5\pm 0.001\%$). The treatments FA0 (14.4 ± 0.2 L), FA30 (14.6 ± 0.3 L) and FA45
51 (14.5 ± 0.2 L) differ of treatments FA15 (12.4 ± 0.4 L) and FA60 (13.7 ± 0.4 L) for milk
52 yield. There was no difference ($p>0.05$) for others variables. With base on results it's
53 concluded that level substitutions of soybean meal to cottonseed meal of high energy
54 even 60% can't alter the body score and ovarian follicular dynamics.

55

56 **Key words:** co-products, follicles, protein sources, Holstein-Zebu breeding

57

58 **Introdução**

59

60 Alguns dos fatores que influenciam o desempenho produtivo e reprodutivo de
61 vacas leiteiras são: o tipo e a forma de fornecimento dos nutrientes, que podem ser
62 fornecidos peletizados, a idade e o estágio de lactação das fêmeas. Dentre estes fatores,
63 um dos mais importantes é a nutrição; principalmente o tipo de fonte protéica fornecida
64 (ALLEN, 2000).

65 As exigências nutricionais de fêmeas bovinas leiteiras de média a alta produção
66 são maiores em relação às vacas com aptidão para corte (LANA, 2007), visto que além
67 de disponibilizar nutrientes para as funções reprodutivas, como dinâmica folicular
68 ovariana, ovulação e gestação, devem dispor de nutrientes para o desenvolvimento de
69 suas funções produtivas, como produção de leite (CARROL et al., 1988). Para que isso
70 ocorra é necessário que consumam fontes de proteína que contenham aminoácidos
71 essenciais para seu metabolismo (BOLAND e LONERGAN, 2003).

72 O farelo de soja é uma fonte protéica muito utilizada, contudo, possui um custo
73 elevado (LINDSEY et al., 1980), principalmente em função da oscilação de preço da
74 soja durante o ano. Por isso, buscaram-se novas fontes de proteína com menor custo,
75 como o farelo de algodão (MAESOOMI et al., 2006).

76 O farelo de algodão de alta energia apresenta uma melhor palatabilidade por
77 possuir um nível de extrato etéreo (EE) mais elevado (7%) em comparação com outros
78 tipos de farelo de algodão (5% EE). Já existem alguns estudos comprovando a boa
79 palatabilidade do farelo de algodão para vacas leiteiras em lactação, entretanto para o
80 farelo de algodão de alta energia ainda não há muitas pesquisas realizadas.

81 O presente estudo foi realizado com o objetivo de verificar a substituição do
82 farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia para alimentação de vacas leiteiras
83 em lactação interfere no consumo de matéria seca, escore corporal, produção leiteira e
84 dinâmica folicular ovariana em vacas Girolando em lactação.

85

86 **Material e Métodos**

87

88 O experimento foi realizado no setor de bovinocultura de leite da Fazenda
89 Experimental da Universidade Federal de Mato Grosso, situada no município de Santo
90 Antônio de Leverger, latitude 15°51'56" sul e longitude 56°04'36" oeste, estando a uma
91 altitude de 141 metros, à 30 Km de Cuiabá, entre os meses de maio a julho de 2007.

92 Foram utilizadas cinco vacas Girolandos (5/8), com peso vivo médio de 530 kg,
93 estágio médio de lactação e produção média de 14 kg de leite/dia, em delineamento em
94 quadrado latino 5X5.

95 A distribuição dos animais em cada tratamento foi feita aleatoriamente. Cada
96 período teve duração de 18 dias, sendo os sete dias iniciais destinados para adaptação
97 dos animais às dietas e os 11 dias consecutivos para avaliação de consumo de matéria
98 seca (CMS), escore corporal, peso vivo, e avaliação da dinâmica folicular ovariana.

99 Foi feito um período pré-experimental para adaptação dos animais à dieta
100 (volumoso e concentrado) e ao local de alimentação e descanso. Após este período
101 iniciou-se o experimento propriamente dito, onde os animais foram mantidos em um
102 piquete coletivo com disponibilidade de sombra e água e a dieta fornecida em baias
103 individuais em uma instalação coberta ao lado da sala de ordenha, sempre duas vezes ao
104 dia após a ordenha. A proporção volumoso:concentrado na composição da dieta foi de
105 60:40, sendo a silagem de milho utilizada como volumoso e os concentrados
106 formulados com níveis diferentes de substituição do farelo de soja pelo farelo de
107 algodão de alta energia: 0%, 15%, 30%, 45% e 60% (Tabela 1). As dietas foram
108 fornecidas na proporção de 3% do peso vivo/dia, de modo que houvesse uma sobra em
109 relação à quantidade ofertada em torno de 10%, segundo o NRC (2001). Foi feita
110 também a análise químico-bromatológica dos tratamentos (Tabela 2).

111 Os animais foram pesados no início e ao final de cada período experimental
112 sempre antes da alimentação matinal. Semanalmente, foi feita avaliação do escore
113 corporal (ECC) de cada vaca utilizando a escala de 1 a 5 através de avaliação do dorso e
114 osso sacral (EDMONSON et al., 1989).

115 Após cada trato as sobras foram pesadas para avaliação do consumo. Foram
116 recolhidas amostras das sobras da dieta para determinação do consumo de matéria seca
117 (CMS), bem como da silagem de milho e do volumoso. As amostras foram armazenadas
118 em sacos plásticos, devidamente identificadas e acondicionadas em freezer à

119 temperatura de -20°C, para posterior análise da composição químico-bromatológica
 120 (SILVA E QUEIRÓZ, 2002), no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade
 121 Federal de Mato Grosso.

122

123 Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais fornecidas para vacas
 124 leiteiras da raça Girolando

Ingredientes	Dietas				
	FA0 ¹	FA15 ²	FA30 ³	FA45 ⁴	FA60 ⁵
Silagem de milho	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00
Farelo de soja	13,70	11,65	9,59	7,54	5,48
Farelo de algodão de alta energia	0,00	3,48	6,96	10,44	13,92
Milho moído	24,90	23,44	21,97	20,50	19,02
Uréia:AS*	0,60	0,63	0,68	0,73	0,78
Mistura Mineral	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80

125 ¹ Farelo de Algodão de alta energia 0% de substituição; ² Farelo de Algodão de alta energia 15% de
 126 substituição; ³ Farelo de Algodão de alta energia 30% de substituição; ⁴ Farelo de Algodão de alta energia
 127 45% de substituição; ⁵ Farelo de Algodão de alta energia 60% de substituição; * uréia e sulfato de amônia
 128 (1:9)

129

130

131 Tabela 2. Composição químico-bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais
 132 fornecidas para vacas leiteiras da raça Girolando

	Ingredientes					
	FA0 ¹	FA15 ²	FA30 ³	FA45 ⁴	FA60 ⁵	SM ⁶
MS	82,69	82,72	82,11	82,94	83,82	34,33
PB*	26,55	26,36	26,51	26,61	25,49	7,08
PDR*	54,63	55,02	55,91	56,83	57,73	-
FDN*	14,48	16,12	18,66	20,23	21,33	54,48
EE*	2,30	3,20	3,24	4,01	4,87	1,86
MM*	4,88	5,84	5,58	5,77	5,73	4,64

133 *com base na matéria seca; ¹ Farelo de Algodão de alta energia 0% de substituição; ² Farelo de Algodão
 134 de alta energia 15% de substituição; ³ Farelo de Algodão de alta energia 30% de substituição; ⁴ Farelo de
 135 Algodão de alta energia 45% de substituição; ⁵ Farelo de Algodão de alta energia 60% de substituição; ⁶
 136 Silagem de Milho

137

138 A produção de leite foi avaliada semanalmente através de medição do copo
139 coletor duas vezes ao dia após a ordenha de cada animal.

140 A avaliação da dinâmica folicular ovariana foi realizada diariamente por meio de
141 ultrassonografia via trans-retal, utilizando aparelho Pie Medical, modelo Scanner
142 100LC, probe linear, frequência 6-8 MHz, do 7º ao 18º dia de cada período em que
143 foram mensurados as seguintes variáveis: a largura maior e a largura menor dos ovários,
144 para cálculo do volume ovariano; o diâmetro e quantidade dos folículos; presença de
145 corpo lúteo e cistos ovarianos. Os folículos ovarianos foram classificados de acordo
146 com seu diâmetro em: sem classe (SC, <3mm), classes 1 (C1, 3 a 5mm), classe 2 (C2, 6
147 a 9mm), classe 3 (C3, 10 a 15mm) e classe 4 (C4, >15mm) (LUCY et al. 1992).

148 Os dados foram avaliados por meio da análise de variância, teste de média
149 (Tukey-Kramer) e a correlação simples de Pearson com nível de significância de 5%,
150 através do programa SAS (2001). Os dados não-paramétricos foram submetidos a
151 transformações para que obedecessem a normalidade dos resíduos e a homogeneidade
152 das variâncias. Os resultados foram expressos na forma de média \pm erro padrão da
153 média dos dados originais.

154

155 **Resultados e Discussão**

156

157 O CMS observado diferiu entre os tratamentos ($p < 0,0001$; Tabela 3), assim
158 como a produção de leite ($p < 0,0001$; Tabela 3). Lindsey et al. (1980) utilizaram vacas
159 no terço inicial da lactação (mais de 30 kg leite/dia) alimentadas com silagem de milho
160 como volumoso e farelo de soja ou farelo de algodão como concentrado e observaram
161 que não houve efeito sobre o CMS nem sobre a produção de leite dos animais, contudo

162 os consumos de matéria seca (20,8 a 22,5 kg/dia) e produção leiteira (24,2 a
 163 28,1 kg/dia) foram superiores aos resultados deste experimento (Tabela 3), visto que os
 164 animais estavam em diferente estágio de lactação, influenciando a partição de
 165 nutrientes, o CMS e a produção leiteira, pois no início de lactação as exigências
 166 nutricionais são mais elevadas devido a alta produção leiteira em comparação com o
 167 terço médio de lactação (BUTLER, 2000).

168

169 Tabela 3. Média e erro padrão da média para o consumo de matéria seca (CMS, kg),
 170 consumo de matéria seca relativo (CMS, %), produção de leite (PL, litros),
 171 peso vivo (kg), escore de condição corporal (ECC, 1-5) e de vacas leiteiras da
 172 raça Girolando

Tratamento	CMS	CMS relativo	PL	Peso Vivo	ECC
FA0 ¹	14,4±0,5 bc	2,6±0,001 bc	14,4±0,2 a	549,8±3,7	2,9±0,03
FA15 ²	16,1±0,6 a	2,9±0,001 a	12,4±0,4 b	551,4±2,0	2,9±0,07
FA30 ³	14,9±0,4 ab	2,7±0,0009 ab	14,6±0,3 a	548,0±3,2	2,9±0,05
FA45 ⁴	14,0±0,6 c	2,5±0,001 c	14,5±0,2 a	551,3±3,8	2,9±0,03
FA60 ⁵	15,9±0,6 a	2,8±0,001 a	13,7±0,4 c	550,3±2,3	2,9±0,07
p*	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,5266	0,3002

173 ¹ Farelo de Algodão de alta energia 0% de substituição; ² Farelo de Algodão de alta energia 15% de
 174 substituição; ³ Farelo de Algodão de alta energia 30% de substituição; ⁴ Farelo de Algodão de alta energia
 175 45% de substituição; ⁵ Farelo de Algodão de alta energia 60% de substituição

176 a, b, c, em uma mesma coluna indicam que houve diferença estatística pelo teste de Tukey-Kramer
 177 (p<0,05); *nível de significância.

178

179 Pina et al. (2006) trabalharam com vacas leiteiras no terço médio de lactação
 180 (25 kg leite/dia) consumindo silagem de milho como volumoso e farelo de soja, farelo
 181 de algodão ou farelo de soja+uréia como concentrado e também observaram que o
 182 consumo (18,57 a 19,56 kg/dia) e a produção de leite (22,69 a 23,85 kg/dia) não
 183 diferiram entre os tratamentos, entretanto foram igualmente superiores ao encontrado no
 184 presente experimento (Tabela 3). Isto se deve ao fato de que Pina et al. (2006)
 185 utilizaram vacas da raça Holandesa, que necessitam de uma quantidade maior de

186 nutrientes para manter seu potencial de produção quando comparadas com vacas
187 Girolando (ALVES et al., 2002).

188 Silva et al. (2001) trabalharam com vacas mestiças Gir x Holandês em início de
189 lactação alimentadas com níveis crescentes de uréia na dieta (0%, 0,7%, 1,4% e 2,1%) e
190 observaram que à medida que se aumentava a quantidade de uréia na dieta, diminuía-se
191 o CMS e a produção leiteira; contudo encontraram valores inferiores e semelhantes de
192 CMS à medida que se aumentava o nível de uréia na dieta (16,04 kg/dia, 16,49 kg/dia,
193 11,64 kg/dia e 11,93 kg/dia) para os níveis 0%, 0,4%, 1,4% e 2,1% de uréia,
194 respectivamente. Já para a produção leiteira os autores também observaram uma
195 diminuição na produção à proporção que se aumentava o nível de uréia na dieta (21,18 a
196 18,83 kg/dia; de 0% a 21% de uréia, respectivamente), todavia os valores foram
197 superiores em relação ao presente experimento (Tabela 3) em função da fase de lactação
198 ser diferente entre ambos os experimentos.

199 Pereira et al. (2005) avaliaram vacas leiteiras no terço inicial de lactação (30 kg
200 leite/dia) consumindo níveis crescentes de PB no concentrado e observaram diferenças
201 lineares crescentes ($p < 0,05$) no CMS à medida que se aumentava o nível de PB na dieta,
202 mas não encontraram diferenças produção leiteira ($p > 0,05$). Todavia os resultados para
203 produção leiteira encontrados por Pereira et al. (2005) foram superiores
204 (24,55 kg leite/dia a 27,23 kg leite/dia) aos encontrados no presente experimento
205 (Tabela 3), pois em seu experimento os animais encontravam-se no terço inicial de
206 lactação, diferente do presente trabalho.

207 O CMS relativo teve efeito ($p < 0,0001$) entre os tratamentos (Tabela 3) e este foi
208 semelhante ao CMS (Tabela 3).

209 O ECC pode ser usado para monitorar a quantidade de tecido adiposo que a
210 fêmea possui; em casos de escores extremos (1 ou 5) tem-se prejuízo nas funções
211 produtivas e reprodutivas. Segundo Edmonson et al. (1989) e Corassin et al. (2002) o
212 ECC ideal para que não haja interferência nas função produtiva e reprodutiva é de 2,5 a
213 3,5 para fêmeas em terço médio de lactação. Os animais do presente experimento
214 encontravam-se dentro destes padrões, apresentando ECC médios em torno de 2,9
215 (Tabela 3).

216 Foi possível demonstrar efeito estatístico ($p < 0,05$) do tratamento sobre as
217 dimensões ovarianas no ovário esquerdo (Tabela 4).

218 Neves et al. (2002) encontraram valores de 6,37 cm³ para volume do ovário
219 esquerdo e 7,16 cm³ para o ovário direito de vacas azebuadas. Chacur et al. (2006)
220 avaliando ovários de vacas Zebu coletados de abatedouros encontraram valores para
221 volume ovariano esquerdo de 7,26 mL e para o direito, 6,23 mL. Entretanto,
222 Fernandes et al. (2001) encontraram valores de volume ovariano inferiores (3,4 cm³ e
223 4,1 cm³, respectivamente) ao presente experimento (Tabela 4) ao trabalharem com vacas
224 zebuínas. Em função da raça avaliada no presente experimento ter sido diferente as
225 raças utilizadas pelos autores acima relacionados tem-se valores para volume ovariano
226 diferentes.

227

228

229

230

231

232

233 Tabela 4. Média e erro padrão da média das dimensões (largura maior, LMA e largura
 234 menor, LME) e volume ovariano (VOL) de vacas leiteiras da raça Girolando,
 235 no terço médio de lactação em função do tratamento, Fazenda Experimental –
 236 UFMT, 2007

Tratamento	Ovário esquerdo		
	LMA (cm)	LME (cm)	VOL (cm ³)
FA0 ¹	3,37±0,05 ac	2,25±0,06 ab	5,89±0,08 ac
FA15 ²	3,37±0,07 ac	2,37±0,07 a	6,01±0,13 a
FA30 ³	3,12±0,06 b	2,03±0,06 b	5,40±0,10 b
FA45 ⁴	3,56±0,06 a	2,40±0,07 a	6,28±0,11 a
FA60 ⁵	3,19±0,07 bc	2,24±0,06 ab	5,69±0,11 bc
p*	<0,0001	0,0005	<0,0001

Tratamento	Ovário direito		
	LMA (cm)	LME (cm)	VOL (cm ³)
FA0 ¹	3,62±0,07	2,44±0,06	6,35±0,11
FA15 ²	3,60±0,06	2,36±0,06	6,25±0,10
FA30 ³	3,65±0,06	2,49±0,07	6,43±0,10
FA45 ⁴	3,62±0,07	2,40±0,06	6,31±0,10
FA60 ⁵	3,64±0,06	2,46±0,06	6,40±0,11
p*	0,8799	0,4193	0,3962

237 ¹ Farelo de Algodão de alta energia 0% de substituição; ² Farelo de Algodão de alta energia 15% de
 238 substituição; ³ Farelo de Algodão de alta energia 30% de substituição; ⁴ Farelo de Algodão de alta energia
 239 45% de substituição; ⁵ Farelo de Algodão de alta energia 60% de substituição

240 a, b, c na mesma coluna indicam que houve diferença estatística pelo teste de Tukey-Kramer (p<0,05).

241 * nível de significância.

242

243 Não foi possível demonstrar efeito de tratamento sobre o número de folículos
 244 (p>0,05) (Tabela 5).

245 A quantidade de folículos de diferentes classes pode indicar o potencial de
 246 desenvolvimento folicular que a fêmea possui. Os folículos sem classe (SC) são aqueles
 247 que se encontram em processo de recrutamento. Estes estão presentes em maior número
 248 e pertencem à fase de recrutamento folicular ovariano (DRIANCOURT, 2001).

249 Tabela 5. Média e erro padrão da média do número total e número de folículos segundo
 250 a classificação (classe 1, 2, 3, 4, SC) de vacas leiteiras da raça Girolando, no
 251 terço médio de lactação em função do tratamento, Fazenda Experimental –
 252 UFMT, 2007

Tratamento	Classes					Total
	C1 ^I (2-6mm)	C2 ^{II} (6-9mm)	C3 ^{III} (9-15mm)	C4 ^{IV} (>15 mm)	SC ^V (<2mm)	
FA0 ^I	10,71±0,75	1,46±0,18	0,36±0,07	0,12±0,04	13,02±0,87	25,69±1,22
FA15 ²	11,12±0,90	1,16±0,19	0,55±0,10	0,10±0,04	13,14±0,89	26,08±1,31
FA30 ³	11,57±0,80	1,55±0,21	0,42±0,08	0,20±0,06	13,08±0,83	26,83±1,12
FA45 ⁴	10,91±0,75	1,61±0,22	0,51±0,08	0,04±0,02	12,81±0,99	25,89±1,28
FA60 ⁵	10,91±0,70	1,44±0,22	0,36±0,08	0,10±0,05	13,24±0,92	26,08±1,01
p*	0,8644	0,5143	0,3713	0,2318	0,9796	0,8133

253 ^I Farelo de Algodão de alta energia 0% de substituição; ² Farelo de Algodão de alta energia 15% de
 254 substituição; ³ Farelo de Algodão de alta energia 30% de substituição; ⁴ Farelo de Algodão de alta energia
 255 45% de substituição; ⁵ Farelo de Algodão de alta energia 60% de substituição; ^I Classe 1; ^{II} Classe 2; ^{III}
 256 Classe 3; ^{IV} Classe 4; ^V Sem classe; * nível de significância.
 257

258 A quantidade de folículos SC e C1 foi superior às classes C2, C3 e C4 (Tabela
 259 5), pois observa-se durante o recrutamento um grande número de folículos SC, que vão
 260 se desenvolver para C1. Após o recrutamento ocorrem os processos de seleção e
 261 dominância, onde há uma diminuição dos folículos C1 (folículos subordinados) e
 262 aparecimento dos folículos C2 que estão presentes em menor número (Tabela 5), pois
 263 somente há um ou dois folículos dominantes, que foram os selecionados para continuar
 264 o desenvolvimento (folículos dominantes) (FORTUNE et al., 2001).

265 Castilho et al. (2007) verificaram que ocorre um maior aumento de folículos
 266 menores que 5 mm de diâmetro durante o recrutamento e conforme essa fase vai
 267 passando esse número diminui. Entretanto, o número de folículos maiores que 7 mm de

268 diâmetro aumenta durante a fase de divergência, pois há o aparecimento do folículo
269 dominante.

270 Kassa et al (2002) avaliaram a quantidade folicular ovariana divididas em
271 classes (classe 1, de 2 a 5 mm; classe 2, de 6 a 9 mm e classe 3, ≥ 10 mm) em vacas
272 leiteiras tratadas com caroço de algodão e/ou somatotropina recombinante bovina (bST)
273 e não observaram diferenças estatísticas na classificação folicular, nas classes 1 e 3, no
274 tamanho entre os folículos dominantes.

275 A partir de 9 mm de diâmetro os folículos possuem receptores para LH e quando
276 alcançam 10 mm já são capazes de ovular (LUCY et al., 1992). O diâmetro médio
277 observado no presente experimento não variou ($p=0,1039$) entre os tratamentos
278 (Tabela 6).

279

280 Tabela 6. Média e erro padrão da média do diâmetro médio (mm) e diâmetro máximo
281 (mm) de folículos observados em vacas leiteiras da raça Girolando

Tratamentos	Folículos	
	Diâmetro médio	Diâmetro máximo
FA0 ¹	8,47±0,39	15,10
FA15 ²	9,89±0,64	17,90
FA30 ³	9,07±0,33	16,90
FA45 ⁴	8,57±0,34	14,90
FA60 ⁵	8,39±0,32	18,30
p*	0,1039	-

282 ¹ Farelo de Algodão de alta energia 0% de substituição; ² Farelo de Algodão de alta energia 15% de
283 substituição; ³ Farelo de Algodão de alta energia 30% de substituição; ⁴ Farelo de Algodão de alta energia
284 45% de substituição; ⁵ Farelo de Algodão de alta energia 60% de substituição

285 a, b, c, na mesma linha indicam que houve diferença estatística pelo teste de Tukey-Kramer ($P<0,05$).

286 * nível de significância

287

288 Sartori et al. (2002) compararam novilhas e vacas Holandesas em lactação para
289 determinar o tamanho de folículos ovulatórios presentes. O diâmetro máximo do
290 folículo ovulatório foi igual para novilhas e vacas (16,5±0,2 mm e 15,8±0,4 mm,

291 respectivamente), alguns valores foram inferiores e outros superiores aos tratamentos do
292 presente experimento (Tabela 6).

293 No pós-parto a exigência nutricional é muito elevada, as fêmeas encontram-se
294 no balanço energético negativo (BEN) e isto causa uma diminuição no aporte de
295 nutrientes destinados às funções reprodutivas, influenciando o diâmetro folicular
296 máximo observado (BUTLER, 2000). Os animais utilizados no presente experimento
297 estavam vazios, apresentando ciclos estrais normais e em terço médio de lactação, por
298 isso não apresentavam balanço energético negativo; provavelmente em função disso os
299 valores observados no presente experimento foram maiores (Tabela 6) que os
300 encontrados por Oliveira et al. (2004) (15 mm de diâmetro) ao avaliarem vacas leiteiras
301 no pós-parto alimentadas com crescentes níveis de nitrogênio não-proteico (NNP) na
302 dieta. Além disso, o fato de que os autores administram níveis crescentes de uréia (0%,
303 0,7%, 1,4% e 2,1%) diferentemente do presente experimento que não variou a
304 quantidade de uréia fornecida (1,5 a 1,9%), necessária para manter as rações
305 isoprotéicas, pode ter influenciado no resultado.

306 O tamanho folicular está relacionado com a quantidade de células da granulosa,
307 que irão sofrer luteinização e tornar-se o corpo lúteo. Assim quanto maior a quantidade
308 de células da granulosa, maior o tamanho das células luteais, pois estas crescem em
309 tamanho, fazendo com que o corpo lúteo (CL) se desenvolva mais
310 (FORTUNE et al., 2001). A presença do CL indica que a fêmea está ciclando, pois deve
311 ocorrer ovulação para que se forme o corpo lúteo e subsequente secreção de
312 progesterona, hormônio que auxilia na gestação, inibindo as contrações uterinas até o
313 final da gestação. Assim sendo, quanto maior o tamanho do corpo lúteo, maior a
314 quantidade de progesterona (P4) secretada (SARTORI et al., 2002).

315 Kassa et al (2002) avaliaram o diâmetro de CL em vacas leiteiras tratadas com
 316 caroço de algodão e/ou bST, e não observaram diferenças estatísticas entre tratamentos.
 317 Os autores obtiveram um diâmetro do CL de $32,7\pm 0,3$ mm, sendo maior que o
 318 observado no presente experimento (Tabela 7), possivelmente porque o bST promove
 319 um aumento na secreção de hormônio luteinizante (LH) intensificando o
 320 desenvolvimento folicular ovariano e conseqüentemente produz um CL maior
 321 (LUCY et al., 1992).

322

323

324 Tabela 7. Média e erro padrão da média do diâmetro (mm) de corpos lúteos (CL) e
 325 cistos observados em vacas leiteiras da raça Girolando

Tratamento	CL	Cisto
FA0 ¹	20,60±0,7	15,38±0,8
FA15 ²	21,15±0,7	27,13±1,3
FA30 ³	21,85±0,6	-
FA45 ⁴	21,10±0,9	22,56±1,5
FA60 ⁵	20,40±1,0	17,62±1,4
p*	0,6781	0,8158

326

327

328

329

330

¹ Farelo de Algodão de alta energia 0% de substituição; ² Farelo de Algodão de alta energia 15% de substituição; ³ Farelo de Algodão de alta energia 30% de substituição; ⁴ Farelo de Algodão de alta energia 45% de substituição; ⁵ Farelo de Algodão de alta energia 60% de substituição; *nível de significância

331

332

333

334

335

336

337

338

Os cistos não são estruturas fisiológicas da foliculogênese em vacas, por isso não é ideal que sejam observados já que são conseqüências da falha na ovulação. Ocorrem quando não há uma quantidade mínima de hormônio luteinizante (LH) ou não há receptores para LH na membrana celular dos folículos (KERSLER e GARVERICK, 1982). Assim, eles podem prejudicar o funcionamento do ciclo estral normal, pois se não houver a ovulação não há possibilidade de fecundação oocitária nem formação do CL. Além disso, os cistos ovarianos continuam produzindo hormônios em seu interior (estrógeno, inibina, entre outros) que alteram também a

339 secreção hormonal de LH e folículo estimulante (FSH) e impedem o desenvolvimento
340 de uma nova onda folicular ovariana (GARVERICK, 1997). Butler (2000) relaciona
341 negativamente a produção leiteira com a reprodução, afirmando que ao aumentar a
342 produção leiteira tem-se uma diminuição na ovulação de folículos, podendo acontecer
343 aparecimento de cistos foliculares neste trabalho essa afirmação foi evidenciada através
344 da correlação positiva ($r=0,80187$, $p<0,0001$) entre a produção leiteira e média de cistos
345 encontrada.

346 Quando há mobilização de gordura para manutenção, a reprodução é afetada,
347 prejudicando a ovulação e aumentando a incidência de cistos ovarianos
348 (BUTLER, 2000), o que pode ser comprovado pela correlação apresentar-se negativa
349 ($r= -0,66308$; $p<0,0001$) entre ECC e média de cistos observados no presente
350 experimento; indicando que os cistos aparecem quando o escore corporal está muito
351 baixo. Existe um hormônio chamado leptina que se relaciona com a quantidade de
352 gordura corporal e as funções produtivas e reprodutivas. Quando o tecido corporal da
353 fêmea é mobilizado para produção de energia ela apresenta baixo ECC; com isso os
354 níveis de leptina, que é secretada por adipócitos, vão estar baixos. Quando há
355 deficiência energética sinalizada pela baixa de leptina, há supressão do aporte de
356 nutrientes destinados à reprodução, interferindo assim, na secreção hormonal de LH,
357 impedindo a ovulação e favorecendo o surgimento de cisto ovarianos
358 (LIEFERS et al., 2003).

359 Em função dos resultados observados neste experimento de não houve diferença
360 ($p>0,05$) entre os tratamentos à base de farelo de soja e os tratamentos em que houve
361 substituição pelo farelo de algodão de alta energia no escore corporal, peso vivo,
362 volume ovariano, classificação folicular e diâmetro de folículos, corpos lúteos e cistos;

363 pode-se fazer a substituição até 60% de farelo de algodão de alta energia sem prejuízo
364 para a dinâmica folicular ovariana de vacas Girolando no terço médio de lactação,
365 produzindo 14 kg de leite/dia.

366

367 **Agradecimentos**

368

369 *À Bunge alimentos pela disponibilização do farelo de soja e de algodão de alta energia.*

370

371 **Referências**

372

373 ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy
374 cattle. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1598–1624, 2000.

375

376 ALVES, N.G., DA COSTA, E.P., GUIMARÃES, J.D., SILVA, M.R., ZAMPERLINI,
377 B., COSTA, F.M.J., SANTOS, A.D.F., NETO, T.M. Atividade ovariana em fêmeas
378 bovinas da raça holandesa e mestiças holandês x zebu, durante dois ciclos estrais
379 normais consecutivos - **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.627-634, 2002.

380

381 BOLAND, M.P.; LONERGAN, P. Effects of nutrition on fertility in dairy cows.
382 **Advances in Dairy Technology**, v.5, p.19-33, 2003.

383

384 BUTLER, W.R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle.
385 **Animal Reproduction Science**, v.60–61, p.449-457, 2000.

386

387 CARROLL, D. J.; BARTON, B. A.; ANDERSON, G. W.; SMITH, R. D. Influence of
388 protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. **Journal**
389 **of Dairy Science**, v.71, p.3470-3481, 1988.

390

391 CASTILHO, C.; ASSIS, G.S.; GARCIA, J.M. Influência do diâmetro e da fase folicular
392 sobre a competência in vitro de oócitos obtidos de novilhas da raça Nelore. **Arquivo**
393 **Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.2, p.288-294, 2007.

394

- 395 CHACUR, M.G.M.; VALENTIM, N.C.; MARTINEZ, A.I.S.; TOSTES, R.A.;
396 KRONKA, S.N. Morfometria de ovários de fêmeas zebu *Bos taurus indicus* coletados
397 em matadouro. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p.65-70, 2006.
398
- 399 CORASSIN, C.H.; COLDEBELLA, A.; MEYER, P.M.; MACHADO, P.F.; SORIANO,
400 S.; CASSOLI, L.D.; SOBREIRA, A.C. Administração de somatotropina bovina no
401 período pré-parto sobre parâmetros produtivos, sanitários e reprodutivos da primeira
402 lactação de vacas holandesas. **Acta Scientiarum**, v.24, n.4, p.1045-1051, 2002.
403
- 404 DRIANCOURT, M. A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals.
405 Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v.55, p.1211-1239,
406 2001.
407
- 408 EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A
409 body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.72,
410 p.68-78, 1989.
411
- 412 FERNANDES, C.E.; DODE, M.A.N.; GODOY, K.; RODOVALHO, N. Efeito
413 estacional sobre características ovarianas e produção de oócitos em vacas *Bos indicus*
414 no Mato Grosso do Sul. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal
415 Science**, v.38, n.3, p.131-135, 2001.
416
- 417 FORTUNE, J.E.; RIVERA, G.M.; EVANS, A.C.O.; TURZILLO, A.M. Differentiation
418 of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biology of Reproduction** v.65,
419 p.648–654, 2001.
420
- 421 GARVERICK, H. A. Ovarian follicular cysts in dairy cows. **Journal of Dairy Science**,
422 v.80, p.995–1004, 1997.
423
- 424 KASSA, T.; AMBROSE, J.D.; ADAMS, A.L.; RISCO, C.; STAPLES, C.R.;
425 THATCHER, M.-J.; VANHORN, H.H.; GARCIA, A.; HEAD, H.H.; THATCHER,
426 W.W. effects of whole cottonseed diet and recombinant bovine somatotropin on ovarian
427 follicles in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2823–2830, 2002.
428
- 429 KESLER, D. J.; GARVERICK, H. A. Ovarian cysts in dairy cattle: a review. **Journal
430 of Animal Science**, v.55, p.1147-1159,1982.
431
- 432 LANA, R.P. Metabolismo dos macronutrientes. In: LANA, R.P. **Nutrição e
433 alimentação animal (mitos e realidades)**. 2ª ed., Viçosa:UFV, 2007, p.77-102.
434

- 435 LIEFERS, S.C.; VEERKAMP, R.F.; TEPAS, M.F.W.; DELAVALD, C.; CHILLIARD,
436 Y.; VANDERLENDE, T. Leptin concentrations in relation to energy balance, milk
437 yield, intake, live weight and estrus in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86,
438 p.799–807, 2003.
- 439
- 440 LINDSEY, T.O.; HAWKINS, G.E.; GUTHRIE, L.D. Physiological responses of
441 lactating cows to gossypol from cottonseed meal rations. **Journal of Dairy Science**,
442 v.63, p.562-573, 1980.
- 443
- 444 LUCY, M.C.; SAVIO, J.D.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R.L.; THATCHER, W.W.
445 Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**,
446 v.70, p.3615-3626, 1992.
- 447
- 448 MAESOOMI, S.M.; GHORBANI, G.R.; ALIKHANI, M.; NIKKHAH, A. Short
449 communication: canola meal as a substitute for cottonseed meal in diet of midlactation
450 Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.5, p.1673–1677, 2006.
- 451
- 452 NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) **Nutrient requirement of the dairy**
453 **cattle**. 7.ed. Washington: National Academic Science. 2001. 381p.
- 454
- 455 NEVES, M.M.; MARQUES JUNIOR, A.P.; SANTANA, C.V.; LIMA, F.P.C.;
456 ZAMBRANO, W.J. Características de ovários de fêmeas zebu (*Bos taurus indicus*),
457 colhidos em abatedouros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e**
458 **Zootecnia**, v.54, n.6, 2002.
- 459
- 460 OLIVEIRA, M.M.N.F.; TORRES, C.A.A.; VALADARES FILHO, S.C.; SANTOS,
461 A.D.F.; PROPERI, C.P. Uréia para vacas leiteiras no pós-parto: desempenhos produtivo
462 e reprodutivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.2266-2273, (Supl. 3),
463 2004.
- 464
- 465 PEREIRA, M.L.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; CAMPOS,
466 J.M.S.; LEÃO, M.I.; PEREIRA, C.A.R.; PINA, D.S.; MENDONÇA, S.S. Consumo,
467 digestibilidade aparente total, produção e composição do leite em vacas no terço inicial
468 da lactação alimentadas com níveis crescentes de proteína bruta no concentrado.
469 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.3, p.1029-1039, 2005.
- 470
- 471 PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; CAMPOS, J.M.S.;
472 DETMANN, E.; MARCONDES, M.I.; OLIVEIRA, A.S.; TEIXEIRA, R.M.A.
473 Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes, produção e composição do leite
474 de vacas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de proteína. **Revista**
475 **Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1543-1551, 2006.

- 476 SARTORI, R.; ROSA, G.J.M.; WILTBANK, M.C. Ovarian structures and circulating
477 steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter.
478 **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2813–2822, 2002.
- 479
- 480 SAS. **The statistical analyze systems for windows**: version 8. Cary, 1999-2001. CD-
481 Rom.
- 482
- 483 SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULO
484 CECON, R.; CAMPOS, J.M.S.; OLIVEIRA, G.A.; OLIVEIRA, A.S. Uréia para vacas
485 em lactação. 1. Consumo, digestibilidade, produção e composição do leite. **Revista**
486 **Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p,1639-1649, 2001.
- 487
- 488 SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**.
489 3ª ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

Capítulo 2

Fontes protéicas e desenvolvimento inicial de embriões bovinos *in vitro*

Protein sources and initial development of bovine embryo in vitro

Resumo

O presente estudo realizou-se com objetivo de analisar os efeitos da substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia como fonte protéica na dieta de vacas leiteiras sobre o desenvolvimento inicial de embriões. Foram utilizadas cinco vacas Girolando, no terço médio de lactação, distribuídas num quadrado latino 5x5 (5 tratamentos X 5 períodos). Os tratamentos consistiram em níveis de substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão 0%, 15%, 30%, 45% e 60% (FA0, FA15, FA30, FA45 e FA60). Cada período experimental teve duração de 18 dias, sendo 7 para adaptação e 11 para coletas de amostras das variáveis para consumo de matéria seca, produção leiteira, escore corporal, peso vivo. Foi feita uma aspiração folicular ao final de cada período para avaliação e classificação de oócitos que foram então utilizados para a produção *in vitro* de embriões. Não foi possível observar efeito de tratamento ($p>0,05$) sobre a classificação oocitária, a fecundação *in vitro* e o número de embriões produzidos. Foi possível observar efeito de tratamento ($p=0,0131$) sobre o número de oócitos maturados *in vitro*, onde o tratamento FA30 ($38,40\pm 6,76$) diferiu do tratamento FA15 ($26,20\pm 5,81$). Pode-se concluir que a substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia em até 60% do concentrado não interfere no desenvolvimento embrionário inicial.

25 **Palavras-chave:** clivagem, farelo de algodão, farelo de soja, oócitos, raça Girolando.

26

27 **Summary**

28 The present study was realized with aim to analyze the effects of replacement of
29 soybean meal by cottonseed meal as protein source in the diet of dairy cows on the
30 initial development of embryos. Five Holstein-Zebu breeding cows were used, in the
31 middle third of lactation, distributed in a latin square 5x5 (5 treatments x 5 periods). The
32 treatments consisted of soybean meal (FA0), 15%, 30%, 45% and 60% of replacement
33 of soybean meal by cottonseed meal (FA15, FA30, FA45 and FA60). Each
34 experimental period has duration of 18 days, being 7 for adaptation and 11 for
35 collection of samples of variables for dry matter intake, milk yield, body score, live
36 weight. There was made an aspiration follicular the end of each period for assessment
37 and classification of oocytes that were then used for the embryos *in vitro* production.
38 There weren't observe effect of treatment ($p>0.05$) in oocyte classification, *in vitro*
39 fertilization and embryos production. It was possible to see effect of treatment
40 ($p=0.0131$) in the number of oocytes *in vitro* matured, where the FA30 treatment
41 (38.40 ± 6.76) differ of treatment FA15 (26.20 ± 5.81). Can be concluded that the
42 replacement of soybean meal by cottonseed meal at 60% of replacement doesn't
43 interfere in the initial embryonic development.

44

45 **Key words:** cleavage, cottonseed meal, soybean meal, oocytes, Holstein-Zebu breeding
46 cows.

47

48

49 **Introdução**

50

51 A má nutrição pode estar relacionada com a mortalidade embrionária inicial em
52 bovinos (GONG, 2002). Na deficiência nutricional ocorre uma menor disponibilidade
53 de nutrientes que deveriam chegar ao aparelho reprodutor feminino e auxiliar na
54 maturação oocitária, fecundação e desenvolvimento embrionário. Através da produção
55 *in vitro* (PIV) de embriões simula-se em laboratório os eventos que ocorrem desde a
56 ovulação oocitária até o desenvolvimento embrionário inicial (VIANA e BOLS, 2005);
57 podendo-se desta maneira, investigar como os fatores nutricionais podem estar
58 interferindo no desempenho reprodutivo (BOLAND e LONERGAN, 2003).

59 Para evitar diminuição no desempenho reprodutivo das fêmeas bovinas devem
60 ser usadas fontes de proteína de melhor qualidade, como o farelo de soja. Entretanto,
61 este co-produto possui um custo de produção elevado e em virtude disso, procuram-se
62 alternativas que diminuam este custo, como o farelo de algodão (IMAIZUMI, 2005).

63 O farelo de algodão tem sido utilizado como uma fonte alternativa de proteína
64 uma vez que ele possui boa digestibilidade e degradabilidade para ruminantes além de
65 ter um perfil de aminoácidos adequado, com exceção dos níveis de lisina e metionina,
66 que são relativamente baixos quando comparados com o farelo de soja
67 (CUNHA et al., 1998; SANTOS, 2006). Apesar do algodão ter uma produção
68 economicamente mais viável e estar presente em grande quantidade no Estado de Mato
69 Grosso, devido ao grande plantio regional, seu co-produto, o farelo de algodão, ainda
70 não é muito utilizado na nutrição de vacas leiteiras. Existem poucos trabalhos relatando
71 o uso do farelo de algodão de alta energia, principalmente nas condições tropicais da
72 região Centro-Oeste.

73 Em virtude disto, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar se a
74 substituição de fontes de proteína do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta
75 energia em concentrados utilizados na alimentação de vacas leiteiras Girolando
76 influencia o desenvolvimento embrionário inicial.

77

78 **Material e Métodos**

79

80 O experimento foi realizado na Fazenda Experimental da Universidade Federal
81 de Mato Grosso no setor de bovinocultura de leite, durante os meses de maio a julho de
82 2007. A propriedade está situada no município de Santo Antonio de Leverger, latitude
83 15°51'56" sul e longitude 56°04'36" oeste, a uma altitude de 141 metros, a 30 Km de
84 Cuiabá.

85 Foram utilizadas cinco vacas Girolandos (5/8), em estágio médio de lactação e
86 produção média de 14 kg de leite/dia, com peso vivo médio de 530 kg, em delineamento
87 quadrado latino 5X5 (5 tratamentos X 5 períodos).

88 Os animais foram distribuídos aleatoriamente entre os tratamentos. Cada período
89 teve duração de 18 dias, sendo os 7 dias iniciais destinados para adaptação dos animais
90 às dietas, 10 dias subsequentes para avaliação do consumo de matéria seca, produção
91 leiteira, peso vivo e escore de condição corporal; no 18° dia os animais foram
92 submetidos à aspiração folicular guiada por ultrassom (PIETERSE e KAPPEN, 1988).

93 A alimentação foi realizada em baias individuais, às 8 e 16 horas, sempre após
94 as ordenhas. A dieta fornecida representava 3% do peso vivo dos animais e deveria
95 haver uma sobra diária de 10% (NRC, 2001). Como local de descanso foi utilizado um
96 piquete coletivo com sombra e água à vontade.

97 Os animais passaram por um período pré-experimental de adaptação ao
 98 volumoso e concentrado utilizados, ao local de alimentação e descanso; após isto o
 99 experimento propriamente dito teve início. O volumoso fornecido foi silagem de milho
 100 em uma proporção volumoso:concentrado de 60:40 em todos os tratamentos e o
 101 concentrado formulado com diferentes níveis de substituição do farelo de soja pelo
 102 farelo de algodão de alta energia (FA) (FA0 - 0%, FA15 - 15%, FA30 - 30%, FA45 -
 103 45%, FA60 - 60%, respectivamente, Tabela 1). O nível de proteína do concentrado foi
 104 ajustado com a adição de uréia de modo que as dietas experimentais fossem
 105 isoprotéicas. A composição químico-bromatológica de cada concentrado e do volumoso
 106 está expressa na Tabela 2.

107

108 Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais fornecidas para vacas
 109 leiteiras da raça Girolando

Ingredientes	Dietas				
	FA0 ¹	FA15 ²	FA30 ³	FA45 ⁴	FA60 ⁵
Silagem de milho	60,00	60,00	60,00	60,00	60,00
Farelo de soja	13,70	11,65	9,59	7,54	5,48
Farelo de algodão de alta energia	0,00	3,48	6,96	10,44	13,92
Milho moído	24,90	23,44	21,97	20,50	19,02
Uréia:AS*	0,60	0,63	0,68	0,73	0,78
Mistura Mineral	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80

110 ¹ Farelo de Algodão de alta energia 0% de substituição; ² Farelo de Algodão de alta energia 15% de
 111 substituição; ³ Farelo de Algodão de alta energia 30% de substituição; ⁴ Farelo de Algodão de alta energia
 112 45% de substituição; ⁵ Farelo de Algodão de alta energia 60% de substituição; * uréia e sulfato de amônia
 113 (1:9)

114

115 No início e final de cada período após a alimentação da manhã os animais eram
 116 pesados e semanalmente avaliados quanto ao escore de condição corporal (ECC)
 117 (EDMONSON et al., 1989).

118 A produção leiteira foi avaliada semanalmente, duas vezes ao dia, sempre após
119 as ordenhas, por meio de copo coletor graduado.

120
121 Tabela 2. Composição químico-bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais
122 fornecidas para vacas leiteiras da raça Girolando

	Ingredientes					
	FA0 ¹	FA15 ²	FA30 ³	FA45 ⁴	FA60 ⁵	SM ⁶
MS	82,69	82,72	82,11	82,94	83,82	34,33
PB*	26,55	26,36	26,51	26,61	25,49	7,08
PDR*	54,63	55,02	55,91	56,83	57,73	-
FDN*	14,48	16,12	18,66	20,23	21,33	54,48
EE*	2,30	3,20	3,24	4,01	4,87	1,86
MM*	4,88	5,84	5,58	5,77	5,73	4,64

123 *com base na matéria seca; ¹ Farelo de Algodão de alta energia 0% de substituição; ² Farelo de Algodão
124 de alta energia 15% de substituição; ³ Farelo de Algodão de alta energia 30% de substituição; ⁴ Farelo de
125 Algodão de alta energia 45% de substituição; ⁵ Farelo de Algodão de alta energia 60% de substituição; ⁶
126 Silagem de Milho
127

128 No final de cada período foi realizada aspiração folicular para coleta de oócitos.
129 Primeiramente realizou-se o esvaziamento do reto, seguido de limpeza da genitália
130 externa e área perineal, em seguida foi feita a anestesia epidural (5 cc de Lidocaína -
131 Lidovet® - Bravet® - sem vasoconstritor) para a prevenção das contrações uterinas e
132 retais. Um instrumento para *ovum pick up* (OPU), equipado com uma probe com um
133 transdutor multi angular mecânico (Aloka Modelo SSD 500, transdutor
134 5 MHz) e um sistema de agulha guiado (Aloka) foi inserido via vaginal e ambos os
135 ovários foram visualizados com a ajuda da manipulação retal. A agulha (40 mm X
136 1,0 mm) foi anexada através de um mandril de aço conectado a um tubo extra fino de
137 silicone (inner diameter: 0.034”; TM Silclear Tubing, Multi Purpose Medical Grade
138 Silicone Tubing, Degania Silicone/Israel) e um tubo tipo Falcon de 50 mL utilizado
139 para acondicionamento do fluido folicular aspirado. A pressão da bomba de vácuo foi

140 mantida a 12 a 15 mL/minuto de fluido folicular aspirado e folículos com diâmetro (\emptyset)
141 entre 2 e 8 mm foram aspirados.

142 Após a aspiração folicular o líquido folicular foi avaliado para recuperação
143 oocitária em estereomicroscópio, com aumento de 40X. O líquido folicular recuperado
144 contendo os oócitos foi transferido para uma placa com meio de cultivo para tecidos e
145 heparina na proporção 20:1 acrescidos de 5 mL de soro fetal bovino (SFB) onde
146 permaneceu em decantação por 5-10 minutos e em seguida os oócitos foram avaliados e
147 classificados de acordo com IETS (1998) em oócitos graus 1, grau 2, grau 3, grau 4,
148 degenerados, expandidos e atrésicos.

149 Após a classificação dos oócitos, foram acondicionados em meio de maturação
150 para transporte (MIV-T, Nutricell, 016/07; 020/07; 022/07; 026/07 e 028/07,
151 respectivamente para cada período) e transportadas em uma estufa, sob condições de
152 temperatura a 35-36°C e 5% de CO₂ para o Laboratório de produção *in vitro* (PIV) no
153 município de Cuiabá. Ao chegar ao laboratório, as estruturas foram lavadas e
154 transferidas para placas de maturação, as quais continham o meio de maturação, após
155 estabilização da temperatura do meio por 2 horas (MIV, Nutricell, partidas 018/07;
156 021/07; 022/07; 026/07 e 028/07, respectivamente para os cinco diferentes períodos).
157 As placas foram colocadas em estufa com temperatura de 39°C, atmosfera de 5% de
158 CO₂ em ar e umidade saturada, por 22-24 horas.

159 Após a maturação iniciou-se o processo de fecundação *in vitro* (FIV). Foram
160 utilizadas em todos os procedimentos de FIV palhetas de uma mesma partida de sêmen
161 proveniente de um único touro. A cada processo de FIV foi feito o descongelamento de
162 uma palheta de sêmen a 36°C por 30 segundos, seguido pela capacitação espermática
163 em gradiente de Percoll e fecundação em outra placa contendo meio de fecundação

164 (FEC, Nutricell, partidas 018/07; 021/07; 022/07; 026/07 e 028/07, respectivamente
165 para os cinco períodos). Na placa de fecundação estavam dispostas microgotas de
166 200 µL contendo cada uma 30 oócitos e cobertas por óleo mineral. A dose inseminante
167 utilizada foi de 1×10^6 espermatozóides/mL. A placa com os oócitos foi então encubada
168 por um período de 18 horas em um ambiente com 5% de CO₂, 39°C e alta umidade
169 (adaptado de DODE et al., 2002).

170 Após as 18 horas do início da FIV iniciou-se o cultivo *in vitro* (CIV) dos oócitos
171 fertilizados. O cultivo foi realizado em microgotas de 200 µL cobertas por óleo mineral,
172 em cada gota havia de 20-25 oócitos fertilizados. O meio de cultivo utilizado foi o SOF
173 (Nutricell, partidas 018/07; 021/07; 022/07; 026/07 e 028/07, respectivamente para os
174 cinco diferentes períodos). As placas foram incubadas por um período de sete dias em
175 estufa a 39°C, 5% de CO₂ e alta umidade (adaptado de DODE et al., 2002). A avaliação
176 das estruturas produzidas na PIV foi realizada 2 dias após o início da CIV para
177 observação da clivagem e 7 dias para observação de embriões formados após o início da
178 CIV, segundo a classificação proposta por IETS (1998).

179 Os dados foram analisados através da análise de variância, teste de média
180 (Tukey-Kramer) com nível de significância de 5%, através do programa SAS (2001). Os
181 resultados foram expressos na forma de média \pm erro padrão da média.

182

183 **Resultados e Discussão**

184

185 Não foi observado efeito ($p > 0,05$) dos tratamentos sobre a classificação dos
186 oócitos aspirados. Entretanto, observou-se que o FA30 produziu um maior valor
187 numérico de oócitos aspirados ($40,80 \pm 6,38$) enquanto o tratamento FA0 produziu o

188 menor valor numérico ($28,20 \pm 7,05$) quando comparado aos outros tratamentos
 189 (Tabela 3).

190

191 Tabela 3. Média e erro padrão da média dos oócitos aspirados, segundo sua
 192 classificação, de vacas leiteiras da raça Girolando

Classificação Oocitária	Tratamentos					p*
	FA0 ¹	FA15 ²	FA30 ³	FA45 ⁴	FA60 ⁵	
Graus 1 e 2	9,20±5,14	5,40±1,83	9,40±3,04	6,00±1,22	11,20±4,85	0,1449
Graus 3 e 4	16,40±3,18 a	21,40±5,88 a	29,00±5,75 a	29,20±6,97 a	19,60±6,93 a	0,0270
Expandido	1,20±0,73	1,40±0,5	0,60±0,4	1,80±0,58	0,80±0,58	0,6642
Atrésico	0,20±0,2	1,40±0,74	1,00±0,54	1,20±1,2	0,20±0,2	0,6698
Degenerado	2,00±0,83	5,80±2,65	0,80±0,58	2,20±1,01	4,60±2,99	0,1575
Total	28,20±7,05	35,40±9,04	40,80±6,38	40,40±7,71	36,40±8,96	0,1071

193 ¹ Farelo de Algodão de alta energia 0% de substituição; ² Farelo de Algodão de alta energia 15% de
 194 substituição; ³ Farelo de Algodão de alta energia 30% de substituição; ⁴ Farelo de Algodão de alta energia
 195 45% de substituição; ⁵ Farelo de Algodão de alta energia 60% de substituição; * nível de significância.
 196 a, b, c, na mesma linha indicam que houve diferença estatística pelo teste de Tukey-Kramer ($p < 0,05$).
 197

198 Os níveis de substituição testados não afetaram o número de oócitos obtidos na
 199 aspiração (Tabela 3).

200 Na classificação oocitária observa-se a quantidade de células do cumulus que
 201 circundam o oócito; estas células juntamente com o oócito formam o complexo
 202 cumulus-oócito (CCO). Quanto maior o número e mais uniformes forem estas camadas
 203 melhor é a qualidade do oócito (graus 1 e 2), pois estas células vão auxiliar a maturação
 204 do oócito e protegê-lo (BILODEAU-GOESEELS e PANISH, 2002) e quanto melhor a
 205 classificação oocitária maior o potencial do oócito para se desenvolver e vir a ser
 206 fecundado (GWAZDAUSKAS et al., 2000).

207 No presente experimento obteve-se um maior número de oócitos graus 3 e 4, em
 208 relação aos 1 e 2 (Tabela 3) o que pode ter ocorrido pois as fêmeas utilizadas possuíam

209 ciclos estrais e número de ondas foliculares apresentados durante o experimento de
 210 durações diferentes. Em função disso, os folículos aspirados estariam sob influência de
 211 diferentes hormônios reprodutivos, como o hormônio folículo-estimulante (FSH), o
 212 estrógeno, a progesterona, o hormônio luteinizante (LH) que favoreceriam ou inibiriam
 213 o seu desenvolvimento, afetando o desenvolvimento das células do CCO
 214 (DE WIT et al., 2000).

215 Não houve efeito ($p>0,05$) para o número médio de oócitos recuperados pela
 216 aspiração, que foram utilizados posteriormente para a fecundação *in vitro*, nem sobre a
 217 quantidade de estruturas clivadas e embriões produzidos (Tabela 4).

218

219 Tabela 4. Média e erro padrão da média do número de oócitos submetidos à MIV,
 220 número de estruturas clivadas e número de embriões produzidos e respectivas
 221 porcentagens segundo os tratamentos de vacas leiteiras da raça Girolando

Variáveis	Tratamentos					p*
	FA0 ¹	FA15 ²	FA30 ³	FA45 ⁴	FA60 ⁵	
MIV	26,60±7,54 ab	26,20±5,81 a	38,40±6,76 b	37,80±7,39 ab	31,80±10,01 ab	0,0131
(%)	91,68±4,56	76,69±4,41	93,58±3,87	93,31±2,18	81,42±14,52	0,2582
Clivagem	14,60±4,2	13,40±2,92	14,20±3,16	15,00±2,34	13,20±5,95	0,9758
(%)	63,18±24,73	52,45±5,49	38,94±8,37	41,44±3,66	35,14±6,63	0,3711
Embriões	7,80±3,49	9,40±2,87	6,00±1,58	6,20±1,85	9,40±5,53	0,8364
(%)	26,70±12,17	45,56±18,48	16,72±4,90	20,21±5,83	22,89±10,03	0,4077

222 ¹ Farelo de Algodão de alta energia 0% de substituição; ² Farelo de Algodão de alta energia 15% de
 223 substituição; ³ Farelo de Algodão de alta energia 30% de substituição; ⁴ Farelo de Algodão de alta energia
 224 45% de substituição; ⁵ Farelo de Algodão de alta energia 60% de substituição; * nível de significância
 225 a, b, c, na mesma linha indicam que houve diferença estatística pelo teste de Tukey-Kramer ($P<0,05$).
 226

227 A qualidade oocitária interfere na porcentagem de clivagens e blastocistos
 228 formados (CAMARGO et al., 2006). Bilodeau-Goeseels e Panish (2002) encontraram
 229 taxas de clivagem de 77,2±4,8% para graus 1 e 83,6±4,8% para graus 2, superiores às

230 observadas para graus 4 ($57,4 \pm 4,6\%$) ao analisarem ovários de vacas e novilhas de
231 abatedouros. Esta diferença observada ocorre porque os oócitos graus 1 e 2 possuem
232 grande quantidade de células do cumulus ao seu redor protegendo-os de danos externos
233 até que completem a sua maturação e possam ser fecundados. Todavia, estes resultados
234 foram diferentes dos observados no presente experimento (Tabela 4), onde não houve
235 diferença significativa ($p=0,1711$), no qual foram utilizados valores totais para taxas de
236 clivagem no presente experimento.

237 Machatkova et al. (2004) ao avaliarem oócitos de vacas leiteiras, observaram
238 que os maiores folículos possuem oócitos (graus 1 e 2) mais capazes de se
239 desenvolverem em blastocistos (52,8%) que os folículos menores (19,1%), cujos graus
240 de classificação oocitária são piores também (graus 3 e 4).

241 Brocas et al. (1997) avaliaram influência do farelo de algodão (39% da MS) em
242 substituição ao farelo de soja (32% MS) na dieta de vacas leiteiras sobre a clivagem de
243 estruturas após o cultivo *in vitro* e observaram que não houve efeito ($p>0,05$) em
244 relação à porcentagem de estruturas clivadas (71,3%, farelo de algodão e 73,1%, farelo
245 de soja) e embriões formados (15,9%, farelo de algodão e 18,9%, farelo de soja). Os
246 resultados da taxa de clivagem de Brocas et al. (1997) foram superiores ao presente
247 experimento (Tabela 4), onde também não foram encontrados efeitos ($p=0,3711$) diante
248 da substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia (FA0 - 63,18%;
249 FA15 - 52,45%; FA30 - 38,94%; FA45 - 41,44% e FA60 - 35,14%). Já para taxa de
250 clivagem de embriões os resultados observados por Brocas et al. (1997) foram inferiores
251 ao presente experimento (Tabela 4), contudo não houve efeito ($p=0,4077$) nos dados
252 obtidos (FA0 - 26,70%; FA15 - 45,56%; FA30 - 16,72%; FA45 - 20,21% e FA60 -
253 22,89%).

254 No presente experimento os resultados observados puderam levar à conclusão de
255 que ao se substituir o farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia em até 60%
256 no concentrado utilizado não há alteração no desenvolvimento inicial de embriões.

257

258 **Agradecimentos**

259 À *BUNGE ALIMENTOS* pela doação do farelo de soja e farelo de algodão de alta
260 energia utilizados no experimento.

261 À equipe da *GENTEC* pelo auxílio nas etapas da produção *in vitro* de embriões.

262

263 **Referências**

264

265 BILODEAU-GOESEELS, S.; PANICH, P. Effects of oocyte quality on development
266 and transcriptional activity in early bovine embryos. **Animal Reproduction Science**,
267 v.71, p.143–155, 2002.

268

269 BOLAND, M.P.; LONERGAN, P. Effects of nutrition on fertility in dairy cows.
270 **Advances in Dairy Technology**, v.5, p.19-33, 2003.

271

272 BROCAS, C.; RIVERA, R.M.; PAULA-LOPES, F.F.; MCDOWELL, L.R.;
273 CALHOUN, M.C.; STAPLES, C.R.; WILKINSON, N.S.; BONING, A.J.;
274 CHENOWETH, P.J.; HANSEN, P.J. Deleterious actions of gossypol on bovine
275 spermatozoa, oocytes, and embryos. **Biology of reproduction**, v.57, p.901-907, 1997.

276

277 CAMARGO, L.S.A.; VIANA, J.H.M.; SÁ, W.F.; FERREIRA, A.M.; RAMOS, A.A.;
278 VALE FILHO, V.R. Factors influencing *in vitro* embryo production. **Animal**
279 **Reproduction**, v.3, n.1, p.19-28, 2006.

280

281 CUNHA, J.A.; MELOTTI, L.; LUCCI, C.S. Degradabilidade no rúmen da matéria seca
282 e da proteína do caroço integral e do farelo de algodão (*Gossypium hirsutum L.*) pela
283 técnica dos sacos de náilon *in situ* com bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary**
284 **Research and Animal Science**, v.35, n.2, p.96-100, 1998.

285

286 DE WIT, A.A.C.; WURTH, Y.A.; KRUIP, TH.A.M. Effect of ovarian phase and
287 follicle quality on morphology and developmental capacity of the bovine cumulus-
288 oocyte complex. **Journal of Animal Science**, v.78, p. 1277–1283, 2000.

289

- 290 DODE, M.A.N.; RODOVALHO, N.C.; UENO, V.G.; FERNANDES, C.E. The effect
291 of sperm preparation and co-incubation time on in vitro fertilization of *Bos indicus*
292 oocytes. **Animal Reproduction Science**, v.19, p.15-23, 2002.
293
- 294 EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A
295 Body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.72,
296 p.68-78, 1989.
297
- 298 GONG, J.G. Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle
299 development in cattle: practical implications. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23,
300 p.229-241, 2002.
301
- 302 GWAZDAUSKAS, F.C.; KENDRICK, K.W.; PRYOR, A.W.; BAILEY, T.L.
303 Symposium: folliculogenesis in the bovine ovary - Impact of follicular aspiration on
304 folliculogenesis as influenced by dietary energy and stage of lactation. **Journal of**
305 **Dairy Science**, v.83, p.1625-1634, 2000.
306
- 307 IETS. **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões**. 3 ed.
308 Illinois Stringfellow, D.A. & Seidel, S.M., p.180,1998.
309
- 310 IMAIZUMI, H; SANTOS, F.A.P.; PIRES, A.V.; JUCHEM, S.O. Fontes protéicas e de
311 amido com diferentes degradabilidades ruminais para alimentar vacas leiteiras.
312 **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.9, p.1413-1420, 2006.
313
- 314 MACHATKOVA, M.; KRAUSOVA, K.; JOKESOVA, E.; TOMANEK, M.
315 Developmental competence of bovine oocytes: effects of follicle size and the phase of
316 follicular wave on in vitro embryo production. **Theriogenology**, v.61, p.329-335, 2004.
317
- 318 NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) **Nutrient requirement of the dairy**
319 **cattle**. 7.ed. Washington: National Academic Science. 2001. 381p.
320
- 321 PIETERSE, M. C.; KAPPEN, K. A. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal
322 ultrasound scanning of the ovaries. **Theriogenology**, v.30, p.751-762, 1988.
323
- 324 SANTOS, F. A. P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T., PIRES; A.V.,
325 OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. 1ª ed., Jaboticabal:FUNEP, 2006, p. 255-
326 284.
327
- 328 SAS. **The statistical analyze systems for windows**: version 8. Cary, 1999-2001. CD-
329 Rom.
330
- 331 VIANA, J.H.M.; BOLS, P.E.J. Variáveis biológicas associadas à recuperação de
332 complexos cumulus-oócito por aspiração folicular. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33,
333 p.1-4 (Suplemento 1), 2005.

5. Conclusão final

Pode ser feita a substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão de alta energia até o nível de 60% para vacas Girolando em terço médio de lactação, produzindo 14 kg de leite/dia, sem alterar a dinâmica folicular e o desenvolvimento embrionário inicial.

6. Anexos



Foto 1: Piquete de descanso dos animais experimentais



Foto 2: Alimentação dos animais experimentais



Fotos 3 A e B: Avaliação do ECC; A - vista dorsal, B - vista caudal



Fotos 4 A e B: Avaliação ultrassonográfica ovariana dos animais experimentais

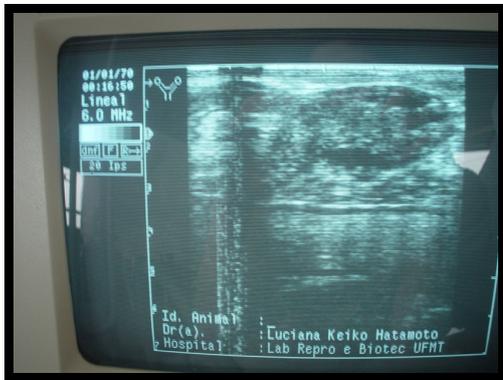


Foto 5: Imagem ultrassonográfica de um ovário



Foto 6: Ultrassom utilizado para OPU



Foto 7: Punção folicular de fluido ovariano por via trans-retal



REVISTA BRASILEIRA DE SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL
Brazilian Journal of Animal Health and Production
www.rbspa.ufba.br www.periodicos.capes.gov.br
 +55 71 32836725 rbspa@ufba.br

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA BRASILEIRA DE SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL - RBSPA

ORIENTAÇÕES GERAIS:

O periódico RBSPA é uma publicação eletrônica, com acesso e envio de artigos exclusivamente pela Internet (www.rbspa.ufba.br). Editado na Universidade Federal da Bahia, destina-se a publicação de artigos de revisão (a convite do Conselho Editorial) ou de pesquisas originais nas seguintes seções: Agronegócio; Forragicultura e pastagens; Medicina veterinária preventiva; Melhoramento genético animal; Morfofisiologia animal; Nutrição animal; Patologia e dínicas; Produção animal e ambiente; Recursos pesqueiros/aqüicultura; e Reprodução animal.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Conselho Editorial, com assessoria de especialistas da área (revisores *ad hoc*). Os pareceres têm caráter imparcial e sigilo absoluto, tanto da parte dos autores como dos revisores, sem identificação entre eles. Os artigos, cujos textos necessitam de revisões ou correções, são devolvidos aos autores e, se aceitos para publicação, passam a ser de propriedade da RBSPA. Os conceitos, informações e conclusões constantes dos trabalhos são de exclusiva responsabilidade dos autores.

Os manuscritos devem ser redigidos na forma impessoal, espaço entre linhas duplo (exceto nas tabelas e figuras), fonte Times New Roman tamanho 12, em folha branca formato A4 (21,0 X 29,7 cm), com margens de três cm, páginas numeradas seqüencialmente em algarismos arábicos, não excedendo a 20, incluindo tabelas e figuras (inclusive para artigos de revisão). As páginas devem apresentar linhas numeradas (a numeração é feita da seguinte forma: menu arquivo/configurar página/layout/números de linha.../numerar linhas).

Não utilizar abreviações não-consagradas e acrônimos, tais como: "o T2 foi menor que o T4, e não diferiu do T3 e do T5". Quando se usa tal redação dificulta-se o entendimento do leitor e a fluidez do texto.

Citações no texto: são mencionadas com a finalidade de esclarecer ou completar as idéias do autor, ilustrando e sustentando afirmações. Toda documentação consultada deve ser obrigatoriamente citada em decorrência aos direitos autorais. As citações de autores no texto são em letras minúsculas, seguidas do ano de publicação. Quando houver dois autores, usar & (e comercial) e, no caso de três ou mais autores, citar apenas o sobrenome do primeiro, seguido de et al. (não-italico). Menciona-se a data da publicação que deverá vir citada entre parênteses, logo após o nome do autor. As citações feitas no final do parágrafo devem vir entre parênteses e separadas por ponto e vírgula, em ordem cronológica. O artigo não deve possuir referências bibliográficas oriundas de publicações em eventos técnico-científicos (anais de congressos, simpósios, seminários e similares), bem como teses, dissertações e publicações na internet (que não fazem parte de periódicos científicos). Deve-se, então, privilegiar artigos publicados em periódicos com corpo editorial. Quando as citações dessa natureza forem imprescindíveis, o autor deverá apresentar justificativa por escrito por ocasião da submissão do manuscrito à revista.

Citação de citação (apud): não é aceita.

Língua: Portuguesa, Inglesa ou Espanhola.

Tabela: deve ser mencionada no texto como Tabela (por extenso) e refere-se ao conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e



REVISTA BRASILEIRA DE SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL

Brazilian Journal of Animal Health and Production

www.rbspa.ufba.br www.periodicos.capes.gov.br

+55 71 32836 725 rbspa@ufba.br

colunas. São construídas apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e ao final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico (Ex.: Tabela 1. Ganho médio diário de ovinos alimentados com fontes de lipídeos na dieta). O título da tabela deve ser formatado de maneira que, a partir da segunda linha, o texto se inicie abaixo da primeira letra do título e não da palavra Tabela. Ao final do título não deve conter ponto final. Não são aceitos quadros.

Figura: deve ser mencionada no texto como Figura (por extenso) e refere-se a qualquer ilustração constituída ou que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. Os desenhos, gráficos e similares devem ser feitos com tinta preta, com alta nitidez. As fotografias, no tamanho de 10 × 15 cm, devem ser nítidas e de alto contraste. As legendas recebem inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico (Ex.: Figura 1. Produção de leite de vacas Gir sob estresse térmico nos anos de 2005 e 2006). Chama-se a atenção para as proporções entre letras, números e dimensões totais da figura: caso haja necessidade de redução, esses elementos também são reduzidos e correm o risco de ficar ilegíveis. O título da figura deve ser formatado de maneira que a partir da segunda linha o texto se inicie abaixo da primeira letra do título e não da palavra Figura. Igualmente, ao final do título não deve conter ponto final.

Tanto as tabelas quanto as figuras devem vir o mais próximo possível, após sua chamada no texto.

TIPOS E ESTRUTURA DE ARTIGOS ACEITOS PARA PUBLICAÇÃO:

1) **Artigos científicos:** devem ser divididos nas seguintes seções: título, título em inglês, autoria, resumo, palavras-chave, summary, keywords, introdução, material e métodos,

resultados e discussão, agradecimentos (opcional) e referências; e

2) **Artigos de revisão:** devem conter: título, título em inglês, autoria, resumo, palavras-chave, summary, keywords, introdução, desenvolvimento, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências.

Os títulos de cada seção devem ser digitados em negrito, justificados à esquerda e em letra maiúscula.

Título: Em português (negrito) e em inglês (itálico), digitados somente com a primeira letra da sentença em maiúscula e centralizados. Devem ser concisos e indicar o conteúdo do trabalho. Evitar termos não significativos como "estudo", "exame", "análise", "efeito", "influência", "avaliação" etc. Não ultrapassar 20 termos.

Autores: A nomeação dos autores deve vir logo abaixo do título em inglês. Digitar o último sobrenome em maiúsculo, seguido pelos prônimos (com apenas a primeira letra maiúscula) também por extenso e completos, separados por vírgula e centralizados (Ex.: OLIVEIRA, João Marques de). A cada autor deverá ser atribuído um número arábico sobrescrito ao final do sobrenome, que servirá para identificar as informações referentes a ele. Logo abaixo dos nomes dos autores, deverá vir justificada a esquerda e em ordem crescente a numeração correspondente, seguida pela afiliação do autor: Instituição; Unidade; Departamento; Cidade; Estado e País. Deve estar indicado o autor para correspondência com o respectivo endereço eletrônico.

Resumo e summary: devem conter entre 200 e 250 palavras cada um, em um só parágrafo. Não repetir o título. Cada frase deve ser uma informação e não apresentar citações. Deve se iniciar pelos objetivos, apresentar os resultados seguidos pelas conclusões. Toda e qualquer sigla deve vir precedida da explicação por extenso.



REVISTA BRASILEIRA DE SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL

Brazilian Journal of Animal Health and Production

www.rbspa.ufba.br www.periodicos.capes.gov.br

+5571 32836725 rbspa@ufba.br

Palavras-chave e keywords: Entre três e cinco, devem vir em ordem alfabética, separadas por vírgulas, sem ponto final, com informações que permitam a compreensão e a indexação do trabalho. Não são aceitas palavras-chave que já constem do título.

Introdução: Deve conter no máximo 2.500 caracteres com espaços. Explanação de forma clara e objetiva do problema investigado, sua pertinência, relevância e, ao final, os objetivos com a realização do trabalho.

Material e métodos (exceto para artigos de revisão): Não são aceitos subtítulos. Devem apresentar seqüência lógica da descrição do local, do período de realização da pesquisa, dos tratamentos, dos materiais e das técnicas utilizadas, bem como da estatística utilizada na análise dos dados. Técnicas e procedimentos de rotina devem ser apenas referenciados.

Resultados e discussão (exceto para artigos de revisão): Os resultados podem ser apresentados como um elemento do texto ou juntamente com a discussão, em texto corrido ou mediante ilustrações. Interpretar os resultados no trabalho de forma consistente e evitar comparações desnecessárias. Comparações, quando pertinentes, devem ser discutidas e feitas de forma a facilitar a compreensão do leitor. As conclusões são obrigatórias, devem ser apresentadas ao final da discussão e não como item independente. Não devem ser repetição dos resultados e devem responder aos objetivos expressos no artigo.

Desenvolvimento (exclusivo para artigos de revisão): Deve ser escrita de forma crítica, apresentando a evolução do conhecimento, as lacunas existentes e o estado atual da arte com base no referencial teórico disponível na literatura consultada.

Agradecimentos: Devem ser escritos em itálico e o uso é opcional.

Referências: Devem ser relacionadas em ordem alfabética pelo sobrenome e contemplar todas aquelas citadas no texto. Menciona-se o último sobrenome em maiúsculo, seguido de vírgula e as iniciais abreviadas por pontos, sem espaços. Os autores devem ser separados por ponto-e-vírgula. Digitá-las em espaço simples, com alinhamento justificado a esquerda. As referências devem ser separadas entre si (a separação deve seguir o caminho parágrafo/espacamento e seleccione: depois seis pontos). O recurso tipográfico utilizado para destacar o elemento título será negrito e, para os nomes científicos, itálico. São adotadas as normas ABNT-NBR-6023 - agosto de 2002, simplificadas conforme exemplos:

ORIENTAÇÕES E EXEMPLOS PARA REFERÊNCIAS:

Periódicos: Os títulos dos periódicos devem ser mencionados sem abreviações e em negrito. Não é necessário citar o local, somente o volume, o número, o intervalo de páginas e o ano, conforme exemplo:

REED, J.D.; MCDOWELL, R.E.; SOEST, P.J.V.; HORVATH, P.J. Condensed tannins a factor limiting the use of cassava forage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.33, n. 2, p.213-220, 1982.

Publicação Avulsa: Tais referências devem ser evitadas e só utilizadas em último caso, portanto privilegiar artigos científicos publicados em periódicos indexados.

Obras de responsabilidade de uma entidade coletiva: A entidade é tida como autora e deve ser escrita por extenso, acompanhada por sua abreviatura. No texto, é citada somente a abreviatura correspondente. Exemplo:

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.



REVISTA BRASILEIRA DE SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL

Brazilian Journal of Animal Health and Production

www.rbspa.ufba.br www.periodicos.capes.gov.br

+55 71 32836725 rbspa@ufba.br

Livros e capítulos de livro

Os elementos essenciais são: autor(es), título e subtítulo (se houver), seguidos da expressão "In:", e da referência completa como um todo. No final da referência, deve-se informar a paginação, conforme exemplos:

DOMINGUES, O. **Introdução à Zootecnia**. 3.ed. Rio de Janeiro: Edições SIA, 1968. 392p.

CHURCH, D.C. Función y producción de La saliva. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **Fisiología digestiva y nutrición de los ruminantes**. 4.ed. Zaragoza: Acríbia, 1993. p.127-135.

Teses e dissertações

Deve-se evitar a citação destas, procurando referenciar sempre os artigos publicados na íntegra em periódicos indexados. Entretanto, caso os artigos ainda não tenham sido publicados, deve ser enviada justificativa no momento da submissão e devem-se citar os seguintes elementos: autor, título, ano, número de páginas, tipo (dissertação ou tese) e nome do programa, unidade ou órgão, instituição e cidade.

SOUZA, C.F.A. **Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte**. 1999. 44p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Anais de congressos, simpósios e similares

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. **Anais...** São Paulo: [s.n.] 1974. p.97.(Resumo).

Documentos eletrônicos:

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

O QUE ENVIAR PARA A REVISTA:

Os trabalhos para publicação são enviados exclusivamente por meio eletrônico pelo endereço www.rbspa.ufba.br. Só consideraremos viáveis para publicação os artigos cujos autores cumprirem todas as etapas a seguir, enviando:

1. Um arquivo com o texto do artigo no campo de submissão de artigos (www.rbspa.ufba.br) com as ilustrações (se houver) em P/B.
2. Formulário de Encaminhamento de Artigo, preenchido e enviado pelo e-mail do autor responsável (http://www.rbspa.ufba.br/forms/form_encam_artigo.doc). Sem este o artigo não segue a tramitação. Também neste email devem ser encaminhadas, quando pertinentes, as justificativas para citações de publicações avulsas, em anais, entre outros.
3. Comprovante de pagamento da taxa de publicação (na etapa conclusiva do processo) via fax ou e-mail.

Taxa de publicação: quando da aprovação (prelo) serão orientados ao pagamento da Guia de Recolhimento da União (GRU), no valor de R\$100,00.

INFORMAÇÕES PARA CONTATO:

Telefone: (71) 32836725

Fax: (71) 32836718

Endereço web: www.rbspa.ufba.br

E-mail: rbspa@ufba.br

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)